

# REVISTA FARMACEUTICĂ A MOLDOVEI



**Nr.1-4**  
**2016**

## PUBLICAȚIE ȘTIINȚIFICO-PRACTICĂ

Revista Asociației Farmaciștilor din Republica Moldova  
The Journal of the Association of Pharmacists of Republic of Moldova  
Журнал Ассоциации Фармацевтов Республики Молдова  
**Fondată în a.1993**

### REDACTOR-ȘEF:

**Vladimir SAFTA**, dr. hab. farm., profesor universitar

### SECRETAR/ENGLISH CONSULTANT:

**Elena ZGÎRCU**, asistent universitar

### CONSILIUL DE REDACȚIE

**Mihail BRUMĂREL** – dr. farm., conferențiar universitar,

**Maria COJOCARU-TOMA** – dr. farm., conferențiar universitar, Președinte Asociației Farmaciștilor din Republica Moldova

**Ana CARATA** – dr. farm., profesor universitar (București, România),

**Nicolae CIOBANU** – dr. farm., conferențiar universitar,

**Aurel CORNEICIUC** – președinte, Asociația Farmaciștilor din mun. Chișinău

**Eugen DIUG** – dr.hab. farm., profesor universitar,

**Veaceslav GONCIAR** – dr. hab. med., profesor universitar,

**Valerii GORENICOV** – dr.hab. farm., profesor universitar (Minsk, Bielorusia)

**Sorin LEUCUȚĂ** – dr. farm., profesor universitar, academician (Cluj Napoca, România),

**Mihail LUPU** – dr. farm., conferențiar universitar,

**Anatolie NISTREANU** – dr. farm., profesor universitar,

**Boris PARNOVSKIY** – dr. hab. farm., profesor universitar (Lviv, Ucraina)

**Alexandr TIHONOV** – dr.hab. farm., profesor universitar, academician (Harkiv, Ucraina),

**Livia UNCU** – dr. farm., conferențiar universitar,

**Vladimir VALICA** – dr.hab. farm., profesor universitar,

**Mariana VOITCU** – dr. farm., conferențiar universitar (Iași, România)

*Articolele publicate în Revistă reflectă punctele de vedere ale autorilor și coautorilor,  
care sunt responsabili pentru conținutul și redactarea lor.*



## CUPRINS      CONTENT

CHIMIE FARMACEUTICĂ ȘI CONTROLUL MEDICAMENTULUI	PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND CONTROL OF DRUG
<i>Vladimir Valica, Liliana Rusnac</i> Centrul științific al medicamentului – la 10 ani de activitate	35 <i>Vladimir Valica, Liliana Rusnac</i> The scientific center of drug – 10 years of activity
<i>Elena Donici, Andrei Uncu, Vladimir Valica, Florica Nicolescu, Livia Uncu</i> Cafeaua arabica vs cafeaua robusta. Aspecte de calitate și componența principiilor activi	38 <i>Elena Donici, Andrei Uncu, Vladimir Valica, Florica Nicolescu, Livia Uncu</i> Arabica coffee vs robusta coffee. Aspects of quality and composition of active principles
<i>Ovidiu Oniga, Cristina Nastasă, Ioana Ionuț, Anca Stana, Smaranda Oniga, Brîndușa Tîperciuc</i> Actualități în cercetarea de noi molecule de antibiotice	42 <i>Ovidiu Oniga, Cristina Nastasă, Ioana Ionuț, Anca Stana, Smaranda Oniga, Brîndușa Tîperciuc</i> Recent developments in antibacterial antibiotics
<i>Ilioara Oniga, Daniela Benedec, Anca Toiu, Daniela Hanganu</i> Produse naturale cu acțiune antimicrobiană	51 <i>Ilioara Oniga, Daniela Benedec, Anca Toiu, Daniela Hanganu</i> Natural products with antimicrobial activity
<i>Anastasia Babileva, Vladimir Valica, Nela Bibire, Livia Uncu</i> Dozarea concomitentă a m-crezolului și a insulinei în produsul farmaceutic Humulin R	55 <i>Anastasia Babileva, Vladimir Valica, Nela Bibire, Livia Uncu</i> Simultaneous determination of m-cresol and insulin in Humulin R
<i>Livia Uncu, Mariana Potlog, Elena Donici, Ana Podgornii, Vladimir Valica</i> Analiza cantitativă a vitaminelor E, A și β-carotenului din uleiuri vegetale prin metoda spectrofotometrică UV-VIS	59 <i>Livia Uncu, Mariana Potlog, Elena Donici, Ana Podgornii, Vladimir Valica</i> Quantitative analysis of vitamins E, A and β-carotene from vegetable oils by UV-VIS spectrophotometric method
<i>Livia Uncu, Delia Șerban, Vladimir Valica, Elena Donici, Oxana Vişlouh, Ecaterina Mazur, Alina Macari</i> Elaborarea unei metode analitice spectrofotometrice pentru determinarea cantitativă a tropicamidei în forme farmaceutice	62 <i>Livia Uncu, Delia Șerban, Vladimir Valica, Elena Donici, Oxana Vişlouh, Ecaterina Mazur, Alina Macari</i> Elaboration of an analytical, spectrophotometric method for quantitative determination of tropicamide in pharmaceutical forms
<i>Livia Uncu, Eugeniu Nicolai, Eugenia Pomană, Vladimir Valica, Sergiu Parii, Elena Donici</i> Studiul stabilității picăturilor auriculare cu conținut de ciprofloxacina 3 mg/ml	65 <i>Livia Uncu, Eugeniu Nicolai, Eugenia Pomană, Vladimir Valica, Sergiu Parii, Elena Donici</i> Stability study of ear drops containing ciprofloxacin 3 mg/ml
ARTICOL DE SINTEZĂ	REVIEW ARTICLE
<i>Sergiu Parii, Eugeniu Nicolai, Alina Ungureanu, Elena Parii, Vladimir Valica</i> Aspecte actuale în biodisponibilitatea medicamentelor	68 <i>Sergiu Parii, Eugeniu Nicolai, Alina Ungureanu, Elena Parii, Vladimir Valica</i> Current aspects in the bioavailability of drugs
ARTICOL DE SINTEZĂ	REVIEW ARTICLE
<i>Tatiana Treapițina, Tatiana Ștefanuț, Ecaterina Mazur, Elena Donici</i> Polimorfismul substanțelor medicamentoase	74 <i>Tatiana Treapițina, Tatiana Ștefanuț, Ecaterina Mazur, Elena Donici</i> The polymorphism of medicinal substances
STUDIUL PLANTELOR MEDICINALE	THE STUDY OF MEDICINAL PLANTS
<i>Maria Cojocaru-Toma, Anatolie Nistreanu, Anastasia Sulă</i> Plante medicinale și fitopreparate utilizate în afecțiunile tractului gastrointestinal	82 <i>Maria Cojocaru-Toma, Anatolie Nistreanu, Anastasia Sulă</i> Medicinal plants and phytopreparations used in diseases of gastrointestinal tract
<i>Anna Benea, Viorel Prisacari, Anna Dizdari, Tatiana Chiru</i> Acțiunea antibacteriană și antifungică a uleiului volatil din <i>Hypericum perforatum</i> L. din flora Republicii Moldova	88 <i>Anna Benea, Viorel Prisacari, Anna Dizdari, Tatiana Chiru</i> The antibacterial and antifungal action of essential oil from <i>Hypericum perforatum</i> L. from the flora of Republic of Moldova

<i>Maria Cojocaru-Toma, Anatolie Nistreanu, Maria Florea</i> Plante medicinale și fitopreparate cu acțiune cardiosedativă, evaluări și perspective	91	<i>Maria Cojocaru-Toma, Anatolie Nistreanu, Maria Florea</i> Medicinal plants and phytopreparations with cardiosedative action, evaluation and perspectives
<i>Valeria Grigoriev, Tatiana Chiru</i> Germinarea semințelor – metodă de majorare a totalului fenolic și a capacității antioxidante	95	<i>Valeria Grigoriev, Tatiana Chiru</i> Sprouting as a method of increasing the total phenolic content and antioxidant activity of selected seeds
<i>Maria Cojocaru-Toma, Anastasia Bili</i> Valorificarea speciei <i>Physalis alkekengi</i> L., din colecția CȘCPM USMF "N. Testemițanu"	98	<i>Maria Cojocaru-Toma, Anastasia Bili</i> Valorification of the species <i>Physalis alkekengi</i> L., from the collection of SCCMP SUMPh «N. Testemitanu»
<i>Maria Cojocaru-Toma, Mihaela Nartea</i> Dinamica acumulării principiilor active în <i>Solidago canadensis</i> L.	101	<i>Maria Cojocaru-Toma, Mihaela Nartea</i> Dynamic of accumulation of active principles in <i>Solidago canadensis</i> L.
FARMACOLOGIE ȘI FARMACIE CLINICĂ		PHARMACOLOGY AND CLINICAL PHARMACY
ARTICOL DE SINTEZĂ	104	REVIEW ARTICLE
<i>Sergiu Cerlat, Alexandrina Fratovcean</i> Evoluția tratamentului hepatitei virale C		<i>Sergiu Cerlat, Alexandrina Fratovcean</i> Evolution of viral hepatitis C treatment
ARTICOL DE SINTEZĂ	111	REVIEW ARTICLE
<i>Ursu Iuliana, Cerlat Sergiu</i> Strategii farmacoterapeutice moderne în boala migrenoasă		<i>Ursu Iuliana, Cerlat Sergiu</i> Modern pharmacotherapeutical strategies in migraine
ARTICOL DE SINTEZĂ	115	REVIEW ARTICLE
<i>Rău Anastasia, Cerlat Sergiu</i> Terapia modernă de substituție enzimatică în pancreatita cronică		<i>Rău Anastasia, Cerlat Sergiu</i> Enzyme replacement modern therapy in chronic pancreatitis
<i>Carauș Vladimir</i> Balsamul curativ - profilactic "Făt Frumos" în profilaxia cancerului	119	<i>Carauș Vladimir</i> Curative and preventive balm "Fat Frumos" in cancer prevention
GHID PENTRU AUTORI	122	GUIDE FOR AUTHORS

# CHIMIE FARMACEUTICĂ ȘI CONTROLUL MEDICAMENTULUI

## CENTRUL ȘTIINȚIFIC AL MEDICAMENTULUI – LA 10 ANI DE ACTIVITATE *THE SCIENTIFICAL CENTER OF DRUG – 10 YEARS OF ACTIVITY*

Vladimir Valica, Liliana Rusnac

Centrul Științific al Medicamentului, IP USMF „N. Testemițanu”, Republica Moldova

**Rezumat.** Activitatea de cercetare în cadrul Centrului Științific al Medicamentului este orientată în sensul creșterii nivelului calitativ al unui șir de competențe, precum analizele fizico-chimice, formularea formelor farmaceutice, studii farmacologice moderne, studiul complex al plantelor medicinale autohtone, investigații clinice. Aceste competențe fiind esențiale pentru a dezvolta noi medicamente și tehnologii pentru acestea, în același timp acoperă mai multe domenii de cercetare, prin concentrarea resurselor în direcții de cercetare în care, pe de o parte, Centrul posedă experiență și expertiză și care, pe de altă parte, sunt actuale și de interes în Republica Moldova, Europa și în lume. Astfel, se pot găsi acele nișe în care cercetarea din Centru poate fi recunoscută și integrată spațiului european, aducându-și în acest fel contribuția la reducerea decalajelor tehnologice față de alte țări europene și la creșterea competitivității economice a Republicii Moldova.

**Cuvinte cheie:** Centrul Științific al Medicamentului, elaborare, medicamente, studii farmaceutice, preclinice, clinice.

**Abstract.** The research activity of Scientific Center of Drug Research is oriented to improve the quality of a range of skills, such as physico-chemical analyzes, pharmaceutical technology, modern pharmacological studies, complex study of domestic medicinal plants, clinical trials. These skills are essential for developing new drugs and technologies and at the same time cover several areas of research, by concentrating resources on research directions in which the Center has the experience and expertise and which are actual and of interest for Moldova, Europe and worldwide. Thus, one can find those niches where the Center research can be recognized and integrated into European area, thereby bringing its contribution to bridge the technology gap with other European countries and the economic competitiveness growth of the country.

**Keywords:** Scientific Center of Drug Research, elaboration, drugs, pharmaceutical, preclinical, clinical evaluation.

Principala misiune a Centrului Științific al Medicamentului (CȘM) este de a elabora noi produse, metode tehnologice și servicii de interes pentru industria de medicamente și practica terapeutică, această instituție fiind singura unitate de cercetare din domeniul medicamentelor din Republica Moldova capabilă să realizeze întregul ciclu de cercetare-dezvoltare a unui nou medicament, de la obținerea substanței farmacologic active, la documentația necesară punerii pe piață.

Având în vedere existența mai multor căi de obținere a produselor medicamentoase, CȘM și-a dezvoltat de-a lungul timpului o gamă largă de competențe în:

- Sinteza chimică
- Analize fizico-chimice
- Preformulare și formulare a formelor farmaceutice
- Studii farmacologice moderne (de toxicitate, de caracterizare a acțiunii medicamentelor (inclusive la nivel celular) și, ca alternativă experiențele pe animale)
- Testări clinice

Activitatea de cercetare în cadrul CȘM este orientată în sensul creșterii nivelului calitativ al competențelor sus-menționate, care sunt esențiale pentru a dezvolta noi medicamente și tehnologii pentru acestea și în același timp acoperă mai multe domenii de cercetare, prin concentrarea resurselor în direcții de cercetare în care, pe de o parte, Centrul posedă experiență și expertiză și care, pe de altă parte, sunt actuale și de interes în Republica Moldova, Europa și în lume. Astfel, se pot găsi acele nișe în care cercetarea din Centru poate fi recunoscută și integrată spațiului european, aducându-și în acest fel contribuția la reducerea decalajelor tehnologice față de alte țări europene și la creșterea competitivității economice a Republicii Moldova.

Valorile CȘM: competență profesională, creativitate, inventivitate, muncă, onestitate, responsabilitate, spirit de echipă și abilități de comunicare, flexibilitate, cultură a cercetării și performanței.

În prezent Centrul Științific al Medicamentului își desfășoară activitatea în baza proiectului instituțional

«Cercetări complexe în domeniul elaborării și implementării de noi forme farmaceutice ale medicamentelor de origine vegetală și obținute prin sinteză», din cadrul direcției strategice – Biomedicina, farmaceutica, menținerea și fortificarea sănătății. Acest proiect va derula pe parcursul perioadei aa.2015-2018.

Activitatea CȘM își are ca obiective:

– **strategice**

Domeniul de cercetare este orientat spre elaborarea și implementarea medicamentelor destinate optimizării farmacoterapiei bazate pe dovezi.

– **de dezvoltare a activității de cercetare**

- studiul compușilor biologici activi din diverse specii de plante și obținute prin sinteză;
- studii farmacologice și clinice ale produselor cu acțiune antibacteriană, antimicotică regenerantă, anestezică, expectorantă și anticolinesterazică;
- studiul complex al formelor farmaceutice elaborate;
- acordarea în permanență a serviciilor contractuale de transfer tehnologic pentru producătorii autohtoni de medicamente.

– **de dezvoltare a sectorului inovațional**

- noi metode de obținere a principiilor biologice active;
- noi metode de analiză a substanțelor biologice active și a formelor farmaceutice;
- noi procedee de fabricare a formelor farmaceutice;
- noi formule (compoziții) de medicamente;
- noi metode și procedee de tratament.

– **de management**

- dotarea CȘM cu tehnică și aparatură modernă;
- optimizarea structurii organizatorice a CȘM și pregătirea treptată pentru transformarea lui într-o instituție specializată de cercetare a medicamentului;
- elaborarea de noi proiecte investiționale;
- contribuție la elaborarea unui plan complex de dezvoltare a industriei farmaceutice autohtone.

Actualmente activitatea de cercetare se desfășurează în următoarea structură de organizare: Laboratorul Analiză, standardizarea și controlul medicamentelor, Laboratorul Evaluare preclinică și clinică a medicamentelor, Laboratorul Plante medicinale și Fitochimie și Laboratorul Tehnologie Farmaceutică și Transfer Tehnologic. În cadrul structurilor menționate activează 39 colaboratori, inclusiv 31 cercetători, 7 doctori habilitați și 9 doctori.

În procesul realizării proiectului au fost elaborate și industrializate tehnologii de medicamente din mai multe grupe terapeutice, au fost elaborate metode și tehnici noi de analiză și standardizare a produselor obținute, au fost propuse forme farmaceutice optime din punct de vedere a biodisponibilității, și elaborate procese tehnologice adecvate, au fost demonstrate proprietățile farmacologice al acestor preparate, au fost apreciate efectele clinice și

gradul de inofensivitate. Cercetările din cadrul tematicii proiectului s-au soldat cu obținerea unor rezultate acceptabile:

- ✓ Optimizarea metodelor analitice și elaborarea documentației normative pentru unele produse farmaceutice noi cu substanțe active izolate din materia primă vegetală.

A fost obținută substanța farmaceutică “bisulfat de coptizină”. Substanța a fost standardizată conform metodelor incluse în proiectul de Monografie Farmaceutică. Au fost preparate câte o serie experimentală de forme farmaceutice (comprimate și capsule) cu bisulfat de coptizină, cât și cu hiperforină de dietilamoniu, în mai multe variante a compoziției substanțelor auxiliare, pentru investigarea compatibilității fizico-chimice, stabilității acestor forme și selectarea variantei optime. A fost formulată compoziția capsulelor operculate cu conținut de suc proaspăt stabilizat obținut din specia *Chelidonium majus L.*, standardizat după conținutul de coptizină. Conform analizei regresionale multiple de planificare a experiențelor, utilizând *design-ul factorial 3<sup>3</sup>* s-a obținut următoarea compoziție pentru o capsulă: suc de *rostopască* standardizat – cantitate necesară până la conținutul de 4,2 mg de coptizină; lactoză monohidrat – 140,3 mg; celuloză microcristalină – 55,5 mg; siliciu dioxid coloidal – 8,4 mg; stearat de magneziu – 4,2 mg; amidon de cartofi – până la 420 mg.

A fost efectuat studiul de preformulare a capsulelor operculate cu conținut de hiperforină sarea dietilamoniu pe bază de gliceride semisintetice (Suppocire) și Polietilenglicoli (PEG 400 + PEG 4000). S-a calculat coeficientul de substituție pentru excipienții cercetați folosind metoda de turnare ”Duble casting”. Ca rezultat al studiului s-au elaborat 4 proiecte de monografii farmaceutice pentru formele farmaceutice “Bisulfat de coptizină 10 mg, comprimate”, “Bisulfat de coptizină 10 mg, capsule”, “Capsule de hiperforină, 50 mg” și “Comprimate de hiperforină, 50 mg”. A fost prelungit studiul de stabilitate ale formelor farmaceutice cu Hiperforină de dietilamoniu și a produsului farmaceutic «Bisulfat de coptizină 50 mg, capsule» în timp real.

- ✓ Evaluarea conținutului substanțelor active în unele specii oficinale, crescute pe teritoriul Republicii Moldova, și corespunderii materiei prime cerințelor Farmacopeii Europene și ale altor farmacopei în vigoare.

Studiul farmaceutic a substanțelor active din *Macleaya microcarpa* (Maxim.) Fedde. Au fost elaborate tehnici de lucru pentru dozarea sanguinarinei și chelitrinei în frunze de maclee. Pentru populația plantelor cultivate de *Macleaya microcarpa* a fost evaluată dinamica cumulării sanguinarinei și chelitrinei în frunze de maclee pe întreaga perioadă de vegetație. Au fost studiate proprietățile tehnologice ale produsului vegetal „Frunze de maclee”. A fost elaborat procedeele de obținere și metode de standardizare a extractului fluid de maclee. Studiul



compușilor biologic activi din specia *Monarda fistulosa* L. Au fost elaborate tehnici de lucru pentru dozarea timolului și carvacrolului în frunze de monardă. A fost evaluată producerea timolului și carvacrolului de către *Monarda fistulosa* L., introduse în cultură, pe întreaga perioadă de vegetație. Studiul fitochimic al speciei *Monarda fistulosa* L. a fost efectuat comparativ cu speciile oficinale producătoare de timol și carvacrol – *Thymus vulgaris* L., *Thymus serpyllum* L., *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietsw., cultivate în condiții asemănătoare. Studiul cumulării alcaloizilor în frunzele de maclee în diferite faze de vegetație. Alegerea termenului de colectare și a condițiilor de uscare optime pentru materia primă vegetală (continuarea studiului). Au fost puse în evidență condițiile optime de amlasare a plantelor macleea și monarda în teren pentru creșterea plantelor cu suprafață foliară maximă în perioada de înflorire (recoltare a produsului vegetal).

- ✓ Studiul compatibilității fizice și chimice a Izohidrafuralului cu Metiluracil; a Izohidrafuralului cu Fluocinalonă acetonid; a Izohidrafuralului cu Benzocaină. A fost studiată compatibilitatea fizică și chimică prin metode spectrale (spectroscopie IR, UV-VIS) și cromatografice (HPLC) prin evaluarea parametrilor esențiali de calitate a Izohidrafuralului cu Metiluracil; a Izohidrafuralului cu Fluocinalonă acetonid; a Izohidrafuralului cu Benzocaină. Au fost optimizate metodele de analiză (spectrale și cromatografice) pentru substanțele Izohidrafural și Metiluracil; Izohidrafural cu Benzocaină și Fluocinalonă acetonid în amestecuri mecanice. A fost alcătuit planul și inițiate studiile de stabilitate pentru amestecurile mecanice cu Izohidrafural, Metiluracil, Benzocaină, Fluocinalonă acetonid.
- ✓ *Studiu preclinic*: Evaluarea eficacității și inofensivității preparatului Otolcalmin (CB12). A fost determinată toxicitatea acută și cronică a produsului medicamentos Otolcalmin.
- ✓ Stabilirea eficacității preclinice a preparatelor medicamentoase cu potențial efect otoprotector (BioR). Au fost elaborate indicații noi la produsele medicamentoase BioR.
- ✓ Studiul clinic: „Sporirea eficienței diagnosticului prin testare genetică la pacienții cu surditate neurosenzorială”. A fost studiat spectrul mutațiilor genetice în surditatea neurosenzorială în scopul corectării corecției farmacologice.
- ✓ A fost elaborată o nouă formă farmaceutică din Păducel – sirop, cu o biodisponibilitate foarte mare. S-a constatat că această formă posedă acțiune hipotensivă și de reducere ale FCC mai pronunțată și mai rapidă comparativ cu extractul uscat și compri-matele care au la bază aceiași materie prima.

Paralel au fost derulate un șir de proiecte în cooperare cu România:

- Screening toxicologic și farmacologic asupra unui nou compus antimicobacterian, derivat al 5-aryl-2-tio-1,3,4-oxadiazolului (DIOX)
- Evaluarea profilului antidepresiv al unor principii active extrase din *Hypericum perforatum*
- Investigarea preclinică a potențialului farmacologic al unor noi N-(2 dialchilaminoetil)benzanilide în unele afecțiuni ale sistemului nervos central

Au fost realizate lucrări științifice de valoare, precum articole științifice în reviste naționale și internaționale, brevete, participări la conferințe și congrese științifice, simpozioane științifico-practice, ateliere de lucru, seminare de instruire, work-shop-uri, mese rotunde, expoziții, saloane și expoziții internaționale, organizarea conferințelor științifice. În ultimii ani, Centrul și-a menținut nivelul cunoscut și recunoscut de activitate creativă, în condițiile dificile și solicitante ale perioadei de tranziție, în perioada 2006 – 2016 fiind elaborate 5 produse noi (trei din ele trecând etapa transferului tehnologic la întreprinderile farmaceutice din RM), diverse metode de analiză și standardizare, procedee, acte normative.

Rezultatele originale obținute, cunoștințele și experiența dobândite în acest proiect au fost diseminate prin comunicări științifice, pagina web, publicații și work-shop-uri pe tematică. Studiile de implementare la scară industrială și a utilizării clinice a preparatelor obținute s-au soldat cu elaborarea dosarului farmaceutic, dosarului farmacologic cu documentația clinică și perfectarea documentației necesare pentru înregistrare. Cercetările din cadrul proiectului au fost realizate în colaborare cu instituțiile și întreprinderile din țară, precum Institutul de Chimie al AȘM, catedrele de profil a USMF, Întreprinderi farmaceutice industriale – ÎM “Farmaco” SA, ÎM “Eurofarmaco” SA, Farmaprim SRL, SC „CSK Grup Plus” SRL precum și de peste hotare – Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, Institutul de Farmacologie și Toxicologie al Academiei de Științe Medicale din Ucraina, Centrul de Medicină Moleculară Max-Delbruck, Laboratorul de cercetarea a principiilor medicamentoase p/u sistemul cardiovascular.

Derularea noului proiectului instituțional „Cercetări complexe în domeniul elaborării și implementării de noi forme farmaceutice ale medicamentelor de origine vegetală și obținute prin sinteză” din cadrul Centrului Științific al Medicamentului va contribui la dezvoltarea cercetării fundamentale pentru dobândirea de cunoștințe avansate, pentru asigurarea rezervorului de metode, tehnici aplicative, proceduri, modele și teorii, pentru creșterea valorii și vizibilității științific pe plan internațional.

# CAFEAUA ARABICA VS CAFEAUA ROBUSTA. ASPECTE DE CALITATE ȘI COMPONENȚA PRINCIPILOR ACTIVI

## ARABICA COFFEE VS ROBUSTA COFFEE. ASPECTS OF QUALITY AND COMPOSITION OF ACTIVE PRINCIPLES

<sup>1</sup>Elena Donici, <sup>1</sup>Andrei Uncu, <sup>2</sup>Vladimir Valica, <sup>3</sup>Florica Nicolescu, <sup>2</sup>Livia Uncu

<sup>1</sup>Centrul Științific al Medicamentului, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova

<sup>2</sup>Catedra Chimie farmaceutică și toxicologică, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova

<sup>3</sup>Universitatea de Medicină și Farmacie ”Carol Davila”, București, România

**Rezumat.** Boabele de cafea Arabica sunt mult mai scumpe și valoroase în comparație cu cele Robusta, fapt care ar putea duce la falsificare prin înlocuirea sau amestecarea cu cafeaua Robusta pentru a obține un avantaj economic. S-a efectuat un review al literaturii referitor la posibilitatea de a diferenția cafeaua Arabica de Robusta prin compoziția chimică. S-a făcut concluzia că sunt insuficiente date în literatură și sunt necesare mai multe cercetări la acest subiect.

**Cuvinte cheie:** arabica, robusta, review.

**Abstract.** Arabica beans are more expensive and valuable compared to the Robusta, that could lead to falsification by replacing or mixing Arabica coffee with Robusta to obtain an economic advantage. It was reviewed the possibility of how to differentiate the Arabica coffee from Robusta by their chemical composition. It has been concluded that there are insufficient data in the literature and it is needed more researches on this topic.

**Keywords:** arabica, robusta, review.

### Introducere

În natură există peste 80 de specii ale arborelui de cafea, plantă din familia Rubiaceae, dar cele mai importante din punct de vedere comercial sunt Arabica și Canephora, cunoscută și sub numele de Robusta. Cele două specii de cafea prezintă diferențe atât calitative, cât și cantitative în ceea ce privește compoziția chimică. Arabica stochează mai multe lipide și substanțe precum trigonelina, însă robusta conține mai multă cafeină și acizi clorogenici [1].

Boabele de cafea Arabica sunt mult mai scumpe și valoroase în comparație cu cele Robusta [2]. Acest fapt poate conduce la situația în care boabele de cafea comerciale etichetate „Arabica” pot fi falsificate prin înlocuirea cu „Robusta” pentru a obține un avantaj economic prin înșelarea organizațiilor importatoare de cafea și în cele din urmă consumatorul final. Prin urmare, este important și actual să se elaboreze o metodologie, care să permită identificarea ambelor specii și calcularea conținutului lor în produsele de cafea.

Boabe de cafea pot fi distinse la microscop sau organoleptice, dar analiza chimică este necesară pentru a controla pulberea de cafea după măcinare și pentru a permite detectarea contrafacerii de cafea Arabica cu cantități chiar și mici de Robusta [3].

S-au efectuat mai multe cercetări privind diferențierea speciilor Arabica și Robusta, în care s-au folosit o serie de tehnici instrumentale, însă puține au avut succes. Aceasta rămâne a fi o problemă pînă în prezent din cauza compoziției destul de similare ale acestor specii.

### Materiale și metode

S-a efectuat un review bibliografic prin accesarea bazelor de date electronice: Medline, Cochrane, Embase și Springer. De asemenea, s-a efectuat și căutarea în diverse reviste farmaceutice și chimice de specialitate pentru a identifica studiile existente referitoare la posibilitatea de diferențiere a cafelei Arabica de Robusta prin compoziția chimică. Menționăm că au fost analizate în total 83 de surse bibliografice.

### Rezultate obținute și discuții

Cele două specii de cafea prezintă diferențe atât calitative, cât și cantitative în ceea ce privește compoziția chimică. Arabica stochează mai multe lipide și alte substanțe, precum **trigonelina**, însă Robusta conține mai multă cafeină și **acizi clorogenici** [4,5] (tabelul 1, 2).

**Tabelul 1.** Compoziția chimică a boabelor de cafea verzi

Componente	Arabica,%	Robusta,%
Cafeină	0.9 – 1.2	1.6 – 2.5
Trigonelină	1.0 – 1.2	0.7 – 1.0
Cenușă	3.0 – 4.2	4.0 – 4.4
Acid clorogenic	5.5 – 8.0	7.0 – 10.0
Acizi organici	1.5 – 2.0	1.5 – 2.0
Sucroză	6.0 – 8.0	5.0 – 7.0
Polizaharide	44.0 – 55.0	37.0 – 47.0
Proteine	11.0 – 13.0	11.0 – 13.0
Grăsimi	14.0 – 16.0	9.0 – 13.0



Tabelul 2. Compoziția chimică a boabelor de cafea prăjite

Componente	Arabica,%	Robusta,%
Cafeină	1.0 – 1.3	1.7 – 2.4
Trigonelină	0.5 – 1.0	0.3 – 0.7
Cenușă	3.0 – 4.5	4.0 – 6.0
Acid clorogenic	2.2 – 4.5	3.8 – 4.6
Acizi organici	1.0 – 2.4	1.0 – 2.6
Sucroză	0	0
Polizaharide	24.9 – 39.0	25.0 – 37.0
Proteine	~ 12	~ 12
Grăsimi	~ 13	~ 10

Cafeaua, ca și alte băuturi, este un amestec de diferite substanțe ce pot avea efecte benefice asupra organismului dacă sunt consumate în cantități potrivite. Astfel, consumată în doze mici produce efecte stimulative, mărește capacitatea de concentrare și îmbunătățește tonusul datorită cafeinei. Cantitatea de cafeină conținută într-o ceașcă de cafea poate fi foarte diferită și depinde de mai mulți factori, primordial fiind amestecul folosit. Un amestec care conține 100% cafea Arabica conține numai 1,1-1,7% cafeină față de 2-4% al cafelei Robusta [6]. Astfel, cafeaua preparată exclusiv din boabe de Arabica va putea fi consumată într-o cantitate mai mare decât Robusta, deoarece conținutul de cafeină este aproape dublu mai mic.

Evident, cel mai simplu mod de falsificare a unei cafele comercializată ca fiind de calitate superioară, este adaosul de cafea Robusta în proporție mai mare decât Arabica. Cel mai simplu mod de a evita acest tip de falsificare este să cumpărăm cafea boabe și să o măcinăm acasă, nu înainte de a analiza conținutul pachetului și de a ne asigura că nu conține, de fapt, și alte tipuri de boabe.

Din sursele bibliografice analizate, s-a observat că în analiza cafelei cel mai des a fost aplicată metoda RMN, însă în diferite scopuri: de a caracteriza compoziția sa chimică, dar și de a monitoriza procesul de prăjire. Astfel, o cercetare detaliată a 24 componente din boabele de cafea prăjite a fost realizată folosind spectrele  $^1\text{H}$  și  $^{13}\text{C}$  RMN bidimensionale [7, 8]. Într-un alt studiu s-a efectuat cuantificarea celor mai importanți compuși din cafea: cafeina, acidul formic, trigonelină și 5-hidroximetilfurfural [9,10,11]. Alte trei cercetări s-au axat pe compoziția chimică a cafelei Robusta și Arabica în funcție de gradul de prăjire a boabelor prin metoda RMN: Bosco et al. în 1999 [12], Ciampa et al. în 2010 [13] și Wei et al. în 2012 [14]. Doar un singur studiu a avut scopul de a face diferența dintre cafeaua Arabica și Robusta după compoziția chimică prin metoda RMN, fiind și foarte recent. Datele au fost publicate în septembrie 2014. Această cercetare a fost efectuată de către un grup de cercetători: Yulia B. Monakhova et al. din Germania [15]. Astfel, au fost analizate extractele cloroformice a boabelor de cafea Arabica și Robusta prin metoda RMN. Spectrele repre-

zentative de cafea prăjită Arabica și Robusta sunt prezentate în figura 1.

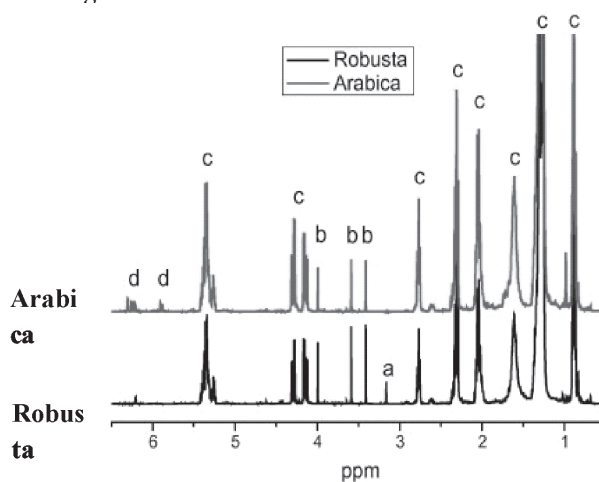


Figura 1. Spectrul  $^1\text{H}$  RMN a extractelor cloroformice a boabelor de cafea prăjite Robusta și Arabica. a – 16 OMC (16 o-metilcafestol), b – cafeină, c – trigliceride, d – kahweol

Semnalele cele mai intense din spectrul  $^1\text{H}$  RMN ale extractelor cloroformice de cafea sunt cele ale trigliceridelor și cafeinei. Însă, doar compușii 16-OMC și kahweol au permis o deosebire clară între cele două specii. 16-OMC (semnal la  $\delta$  3.165 ppm) a fost observat în cafeaua Robusta și nu a putut fi detectată în boabele de cafea Arabica. Semnalele intense ale kahweolului (semnale la  $\delta$  5,89, 6,24 și 6,30 ppm) au fost observate în extractele de cafea Arabica și numai urme infime de kahweol au fost observate în extractele de cafea Robusta (figura 1). Aceste date au fost în concordanță și cu datele obținute în urma analizei extractelor cloroformice a boabelor verzi de cafea Arabica și Robusta.

S-ar părea că problema a fost rezolvată, însă din păcate metoda RMN nu permite cuantificarea cafelei Robusta în amestec cu cafeaua Arabica. Studiile care s-au efectuat cu acest scop au avut la bază separarea acizilor grași, utilizând diferite metode cromatografice. Au fost selectați pentru analiză acizii grași, deoarece în timpul prăjirii au loc doar mici modificări în compoziția lor chimică.

Până nu demult, în literatură se cunoșteau două diterpene existente în cafea: cafestolul și kahweolul. Acestea fiind studiate de grupul de cercetători, rezultatele lor fiind publicate respectiv: Bengis and Anderson 1932 [16]. Ambele substanțe sunt sensibile în mediul acid, temperatură ridicată și lumină, și în special kahweolul este instabil în formă pură. În 1989, a fost izolat din boabe de cafea Robusta 16-O-metilcafestolul (16-OMC) și în același an structura sa a fost elucidată prin sinteză de către Speer și Mischnick-Lübbecke [17, 18]. Iar în 2001 o altă diterpenă – 16-O-metilkahweolul – a fost găsită în boabele de cafea Robusta de către Kölling-Speer și Speer [19]. Formulele structurale ale acestor diterpene sunt redată în figura 2.

Cafeaua Arabica conține cafestol și kahweol, dar și

cafeaua Robusta conține cafestol, cantități mici de kahweol dar, în plus față de Arabica mai conține și 16-O-metilcafestol. Absența 16-OMC în boabele de cafea Arabica a fost confirmată ulterior de către grupul de savanți White 1995 [20]. Datorită stabilității sale mare, 16-OMC, chiar și în urma procesului de prăjire a fost depistat, devenind astfel o caracteristică pentru detectarea cafelei Robusta în amestecuri cu Arabica.

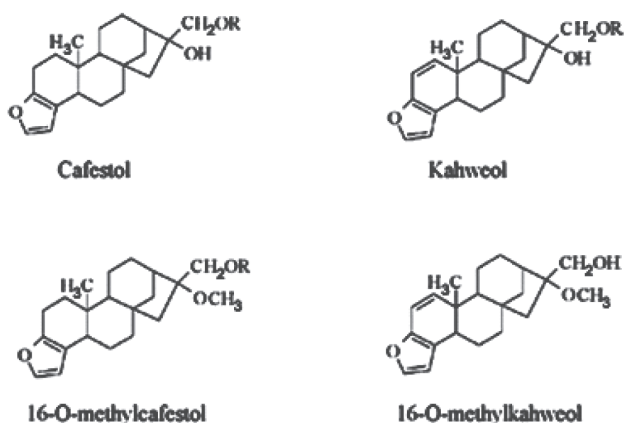


Figura 2. Formulele de structură a diterpenelor

Însă, în urma procesului de prăjire se formează alți compuși noi, derivați de diterpene. Astfel, s-a demonstrat că din cafestol și kahweol se formează dehidrocafestol și dehidrokahweol (figura 3), cantitățile ambilor compuși fiind mai mari o dată cu creșterea temperaturii de prăjire, dar depinde și de conținutul inițial al cafestolului și kahweolului în cafea verde. Mai târziu, s-au descoperit și alți doi compuși în cafeaua prăjită: cafestalul și kahwealul (figura 3). Cel mai recent, în 2005 au fost descoperiți încă doi compuși isokahweol și dehidroisokahweol (figura 3) de către un grup de cercetători Kölling-Speer et al. [19].

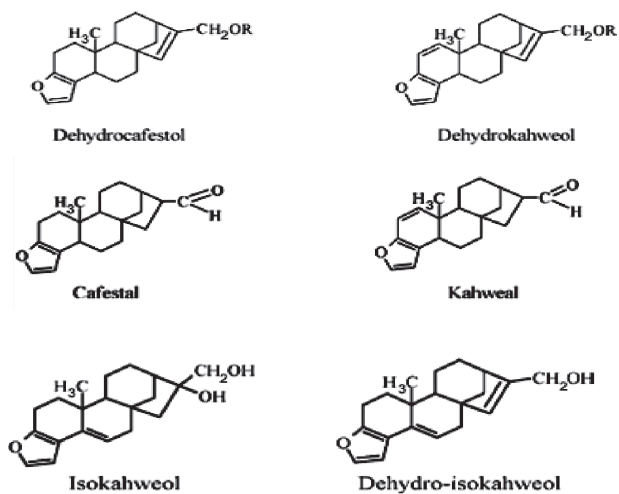


Figura 3. Derivați ai diterpenelor prezenți în cafeaua prăjită

Grupul de cercetători Kölling-Speer et al. [19] au obținut și cromatograma unui amestec de cafea prăjită

care conținea 2% Robusta și 98% Arabica, în care au fost depistați toți acești compuși, precum și cafestolul, kahweolul și 16-OMC (figura 4). Aceasta demonstrează încă o dată că 16-OMC este stabil în urma procesului de prăjire a cafelei și poate fi folosit ca un marker de identificare și determinare cantitativă a cafelei Robusta individuală sau în amestec cu Arabica.

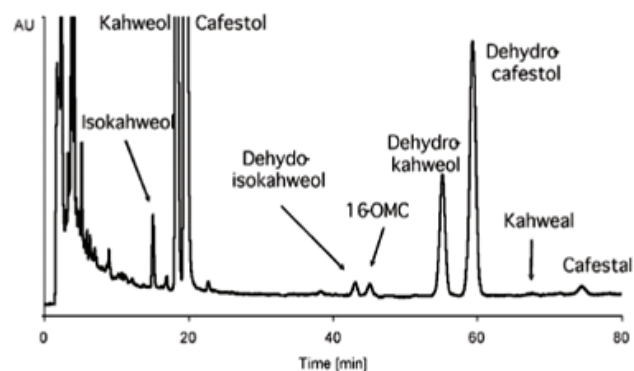


Figura 4. Cromatograma HPLC a cafelei prăjite cu conținut de Arabica 98% și Robusta 2%

Nouă acizi grași liberi diferiți au fost detectați în cafele Robusta și Arabica, respectiv. Diferențele dintre ele devin vizibile numai atunci când picul acidului stearic și picul acidului oleic sunt comparate pe cromatograme. În primul rând din cromatograme, se observă că conținutul de acid stearic diferă de acid oleic în Robusta, pe când în boabe de cafea Arabica sunt aproape egale (figura 5). Raportul acid stearic/acid oleic poate fi folosit ca un prim indiciu de prezența a cafelei Robusta în amestecuri cu cafea Arabica sau chiar falsificarea prin înlocuirea cafelei Arabica cu cea Robusta [1].

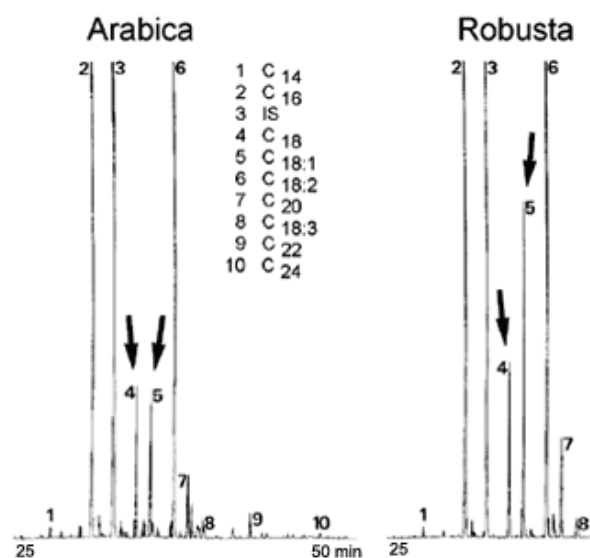


Figura 5. Cromatogramele GC ale boabelor de cafea Arabica și Robusta

**Concluzii**

În urma studiului bibliografic realizat, s-a stabilit că sunt insuficiente cercetările existente privind metodele de analiză aplicate pentru identificarea cafelei Arabica și Robusta la aflarea lor concomitentă în diferite proporții, precum și determinarea cantitativă a compușilor aces-

tora cu scopul prevenirii falsificării produselor de cafea. Totodată am remarcat importanța unor studii ample și argumentate, luând în considerație impactul negativ al amestecării premeditate a acestor două specii cu scop de falsificare.

---

**Bibliografie**

1. Alves RM, Casal S, Oliveira MBPP et al – Contribution of FA profile obtained by high-resolution GC/Chemometric techniques to the authenticity of green and roasted coffee varieties, *JAACS*, 2003, 80:511-17.
2. Belitz H.D., Grosch W., Schieberle P. – *Food chemistry*, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 2009.
3. Bengis RO, Anderson RJ – The chemistry of the coffee bean. I. Concerning the unsaponifiable matter of the coffee bean oil. Extraction and properties of kahweol, *J. Biol. Chem.*, 1932, 97:99-113.
4. Charlton A.J., Farrington W.H.H., Brereton P. – Application of H-1 NMR and multivariate statistics for screening complex mixtures: Quality control and authenticity of instant coffee, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2002, p. 3098–3103.
5. Ciampa A., Renzi G., Taglienti A. et al – Studies on coffee roasting process by means of nuclear magnetic resonance spectroscopy, *Journal of Food Quality*, 33, 2010, p. 199–211.
6. D'Amelio N., De Angelis E., Navarini L. et al – Green coffee oil analysis by high-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy, *Talanta*, 110, 2013, p. 118–127.
7. G. del Campo, I. Berregi, R. Caracena et al – Quantitative determination of caffeine, formic acid, trigonelline and 5-(hydroxymethyl) furfural in soluble coffees by (1)H NMR spectrometry, *Talanta*, 81, 2010, p. 367–371.
8. G. Le Gall, I.J. Colquhoun, M. Lees – *NMR spectroscopy in food authentication, Food authenticity and traceability*, Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, UK, 2003.
9. International Coffee Organization, *ICO Annual Review*, London, England, UK, 2011.
10. Kölling-Speer I., Nickol M., Speer K. – Two new diterpenes in roasted coffees, *The 20th International Colloquium on the Chemistry of Coffee*, ASIC, Paris, 2004, 271-5.
11. L. Aley Tavares, A.G. Ferreira – Quali- and quantitative analysis of commercial coffee by NMR, *Quimica Nova*, 29, 2006, p. 911–915.
12. M. Bosco, R. Toffanin, D. de Palo et al – High-resolution H-1 NMR investigation of coffee, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1999, p. 869–878.
13. M. Ohmenhaeuser, Y.B. Monakhova, T. Kuballa et al – Qualitative and quantitative control of honey using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy and chemometrics, *ISRN Analytical Chemistry*, 2013, Article ID 825318.
14. P. Maes, Y.B. Monakhova, T. Kuballa et al – Qualitative and quantitative control of carbonated cola beverages using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 2012, p. 2774–2788.
15. Speer K. – 16-O-methylcafestol – a new diterpene in coffee; the fatty acid esters of 16-O-methylcafestol, *Proc. Euro Food Chem. VI*, Volume 1, Hamburg, Germany, Behr's Verlag GmbH Co., Hamburg, 1991, 338-42.
16. Speer K. – Fatty acid esters of 16-O-methylcafestol, *The 16th International Colloquium on the Chemistry of Coffee*, ASIC, Paris, 1995, 224-31.
17. Speer K, Kurzrock T, Kölling-Speer I – 16-O-Methylcafestol in the Quality Control of Instant Coffees, *The 20th International Colloquium on the Chemistry of Coffee*, ASIC, Paris, 2004, 880-3.
18. Wei F., Furihata K., Koda M. et al – Roasting process of coffee beans as studied by nuclear magnetic resonance: Time course of changes in composition, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 2012, p. 1005–1012.
19. White DR – Coffee adulteration and a multivariate approach to quality control, *The 16th International Colloquium on the Chemistry of Coffee*, ASIC, Paris, 1995, 259-66.
20. Y.B. Monakhova, T. Kuballa, D.W. Lachenmeier – Nontargeted NMR analysis to rapidly detect hazardous substances in alcoholic beverages, *Applied Magnetic Resonance*, 42, 2012, p. 343–352.

## RECENT DEVELOPMENTS IN ANTIBACTERIAL ANTIBIOTICS ACTUALITĂȚI ÎN CERCETAREA DE NOI MOLECULE DE ANTIBIOTICE

<sup>1</sup>Ovidiu Oniga, <sup>1</sup>Cristina Nastasă, <sup>1</sup>Ioana Ionuț, <sup>1</sup>Anca Stana, <sup>2</sup>Smaranda Oniga,  
<sup>1</sup>Brîndușa Tiperciuc

<sup>1</sup>Pharmaceutical chemistry department, Faculty of Pharmacy, Iuliu Hațieganu University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania

<sup>2</sup>Therapeutical chemistry, Faculty of Pharmacy, Iuliu Hațieganu University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania

**Rezumat.** Rezistența bacteriilor la antibioticele autorizate în terapia sau profilaxia infecțiilor este în creștere. Printre măsurile de contracarare a acestui fenomen îngrijorător, în afara utilizării mai raționale a antibioticelor și a optimizării schemelor de tratament, este necesară o intensificare a cercetărilor și investiții mai mari pentru descoperirea de noi molecule de antibiotice, noi inhibitori de betalactamaze, inhibitori ai pompelor de eflux, ai procesului QS, ai formării de biofilm dar și spre identificarea de noi ținte de acțiune. Metodele utilizate pentru descoperirea de noi antibiotice sunt cele clasice (extracție, biosinteză dirijată, semisinteză, sinteză, urmate de screening antibacterian), chimia organică de sinteză asociată cu studii computerizate de andocare cu ținte specifice, studii QSAR sau identificarea de molecule prototip prin chimie combinatorială.

**Cuvinte cheie:** rezistența bacteriană, antibiotice, dezvoltare clinică.

**Abstract.** Bacterial resistance to approved antibiotics (used in therapy and/or as prophylaxis) is increasing. Among the measures to counterwork this alarming phenomenon, beside the more rational use of antibiotics and the optimization of treatment regimens, an intensifying research and greater investments for the discovery of new antibiotic molecules, novel beta-lactamase inhibitors, efflux pump inhibitors, quorum sensing (QS) process and biofilm formation inhibitors, as well as new target identification, are needed.

The methods used for the discovery of new antibiotics are the classical ones (extraction, directed biosynthesis, semi-synthesis, synthesis, followed by antibacterial screening), but also the more modern ones, like synthetic organic chemistry associated with molecular docking studies, QSAR studies or identification of prototype molecules through combinatorial chemistry.

**Keywords:** bacterial resistance, antibiotics, clinical development.

### Introduction

The alarming increase of bacterial resistance to antibiotics over the last few decades became one of the most important concerns of infectious diseases specialists and of medicines regulatory authorities as well. Even if today over 150 antimicrobials are authorized in therapy, mortality due to bacterial infections remains high.

Depending on the level of international alert related to the increasing resistance, pathogenic bacteria are grouped as shown in Table I.

### The objectives of the research for new antibiotic molecules

The research of new antibiotics has as main goals:

- the discovery of *new structural profiles*, towards which the bacterial resistance is to be installed as

slowly as possible (the discovery of oxazolidinones' class is an example in this regard). This objective can be achieved by using biosynthesis and extraction methods, chemical semisynthesis or research strategies like *structure-based drug design* through *combinatorial chemistry* associated with HTS rapid testing technique, *computational chemistry*, etc.;

- the discovery of novel bacterial *targets* for the new antibiotic molecules (protease-1, lipid II, peptidyl deformylase, translocase, enoyl-ACP reductase,  $\beta$ -ketoacyl-ACP synthase, leucyl and isoleucyl-tRNA synthetases are examples of recently discovered targets), against which are tested Hit, Leader or Clinical Candidate molecules;
- broadening the existing classes of antibiotics with *new representatives* with optimized pharmacodyna-

Table I. Classification of pathogen bacteria depending on the international alert level of antibiotic resistance [1-4]

Alert level	Bacteria
Maximum	<i>Clostridium difficile</i> , carbapenem-resistant enterobacteriaceae, cephalosporin-(cefixime and ceftriaxone), tetracyclines- and azithromycin-resistant <i>Neisseria gonorrhoeae</i>
High	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA), enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs), MDR <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , MDR <i>Acinetobacter baumannii</i> , vancomycin-resistant Enterococcus (VRE), <i>Salmonella typhi</i> and <i>non-typhi</i> , <i>Shigella sp.</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Medium	Vancomycin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> , erythromycin-resistant group A Streptococcus, clindamycin-resistant group B Streptococcus



mic, pharmacokinetic, biopharmaceutical and toxicological properties (especially new oxazolidinones, 5<sup>th</sup>-generation cephalosporins, carbapenems, 4<sup>th</sup>-generation fluoroquinolones, ketolides, tetracyclines, glycyliclones, etc.);

- discovering new beta-lactamase inhibitors (avibactam is a recently approved new broad-spectrum beta-lactamase inhibitor);
- the discovery of bacterial efflux pump inhibitors;
- the development of quorum sensing (QS) inhibitors;
- developing agents that inhibit bacterial biofilm formation and biofilm dispersal agents;
- discovering agents that inhibit the adhesion of bacteria to human body cells;
- the development of biological drugs (bacteriophages, vaccines).

If in most therapeutic classes, especially those used in the treatment of diseases of modern societies (cardiovascular diseases, cancer, obesity, depression, diabetes, etc.), there is a significant increase in budgets assigned to clinical development of new bioactive molecules, regarding the research for new antibiotics there has been a regress in the past three decades compared to the 1970-1985 period. For example, from 2000 until now, only two new structural classes of antibiotics were discovered, which, concerning the number of compounds authorized, are still very poorly represented: the oxazolidinones (linezolid as the first representative, was authorized in 2000 and followed by tedizolid only in 2014) and the pleuromutilins (retapamulin, the only class representative, authorized in 2007). Other antibiotics authorized after 2000 are compounds with “mimetic” structures that belong to structural classes of antibiotics that have been known for longer periods of time (ertapenem, telithromycin – 2001; gemifloxacin, daptomycin – 2003; tigecycline, doripenem – 2005; telavancin – 2008, ceftaroline – 2010, fidaxomicin – 2011; ceftobiprole, dalbavancin, oritavancin, tedizolid – 2014). Two combinations of cephalosporins and beta-lactamase inhibitors were also recently approved: ceftolozane/tazobactam – 2014 and ceftazidime/avibactam – 2015, respectively [1].

Among the causes that led to the development and authorization of a small number of antibacterial antibiotics after 2000, there can be listed [4, 5]:

- a *lower profitability* for the pharmaceutical companies that invest in the development of new antibiotics compared to those who develop molecules from classes of therapeutics used to treat chronic diseases with high incidence (cardiovascular diseases, cancer, depression, dyslipidemia, diabetes, osteoporosis, etc.). For example, if we refer only to cancerous diseases, huge investments are directed towards developing agents that modify cell signaling – small molecules and monoclonal antibodies (lots of molecules have been authorized only in the past 10 years) – which are marketed at high prices which ensure a higher profit rate;

- *restricting the prescription* of new antibiotics (according to the purpose for which they were developed) to infections that do not respond to other treatment regimens. The consequence is a relatively low consumption and a lower recovery rate of the costs for these molecules’ development;
- *phase 3 clinical study costs* are very high. In addition, the criteria for including subjects into the study are excessively restrictive;
- *the risk of progressive installation of bacterial resistance* remains a real one even after using a new antibiotic and the withdrawal from its clinical use may be possible, due to the gradual reduction of its efficacy.

Despite the difficulties and risks related to the research for new antibacterials, there still are several developers of antibiotic molecules. Among the pharmaceutical companies that have most molecules in their portfolio of clinical studies, Cubist Pharmaceuticals, Actavis, AstraZeneca, Basilea Pharmaceutica, Crestone, Theravance Biopharma, Wockhardt, MicuRx Pharmaceuticals, Polyphor, CrystalGenomics, GlaxoSmithKline, Nabriva Therapeutics, Merck, Paratek Pharmaceuticals, Melinta Therapeutics, Summit, Achaogen, Tetrphase Pharmaceuticals are included.

Among the solutions designed to stimulate research in the field of antibiotics, the following can be listed [6]:

- *better funding* of basic research in universities in order to find new targets and new leader molecules;
- greater investment in applied research through partnerships among governments, private companies and universities;
- simplifying the protocols for clinical trials involving antibiotics;
- extending the period of patent protection (especially for orphan antibiotics).

In USA, the campaign «Bad Bugs Need Drugs» was launched in 2011 with the aim to discover and authorize at least 10 new molecules of antibiotics by 2020. Also, the cooperation between the US and the European Union, through the TATFAR project (Trans-Atlantic Task Force on Antimicrobial Resistance) aims the discovery of 40-50 new leading molecules in the next 10 years [7,8].

The literature from the past few years, in this area of interest is extremely rich in prospecting for new antibacterial molecules, with a structurally different profile from the antibiotics currently available in clinical practice, molecules capable of inhibiting recently discovered bacterial targets and therefore possessing new mechanisms of action. The new molecules belong to extremely varied structural models [3, 9-12].

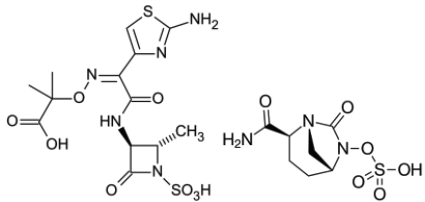
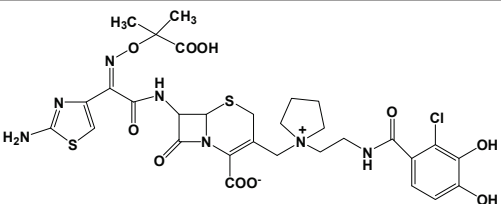
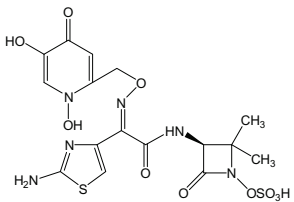
#### **New antibiotics (or combinations) recently approved or in clinical development phase**

Nowadays, there are over 50 new antibiotic molecules in I-III clinical phases. Some of these belong to already-known structural classes (betalactamines, quinolones,

tetracyclines, etc.) and are mainly developed for a more targeted antibacterial activity or for optimized pharmacokinetics, while others belong to new structural models and focus on the bacteria resistant to older antibiotics.

Tables II-VIII present data of the molecules found in clinical development (name, structure, clinical phase and some spectral and therapeutic characteristics) [13,14].

**Table II.** Betalactamines and combinations

Representatives under development	Characteristics
 <p>Aztreonam+Avibactam</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• association of monobactam with non-betalactamic betalactamases inhibitor;</li> <li>• <i>phase II</i>: intra-abdominal infections</li> <li>• <i>phase I</i>: infections caused by metallo-betalactamases producing enterobacteriaceae [15];</li> </ul>
 <p>S-649266</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• siderophore-type cephalosporin;</li> <li>• <i>phase III</i>: urinary and respiratory infections;</li> <li>• very active against <i>P. aeruginosa</i>, <i>Acinetobacter baumannii</i> and carbapenem-resistant enterobacteriaceae [16];</li> </ul>
 <p>BAL-30072</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• siderophore-type sulfactam monobactam, with activity against MDR Gram-negative bacteria;</li> <li>• <i>phase I</i>: bronchiectasis and cystic fibrosis; inhalation and intravenous administration [17].</li> </ul>

**Table III.** Tetracyclines [18]

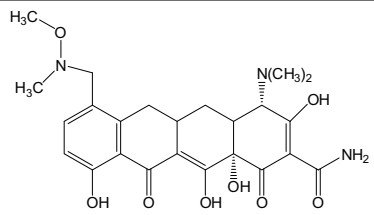
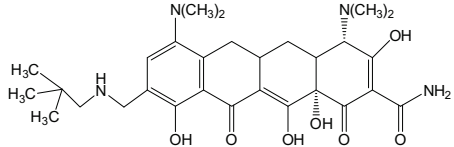
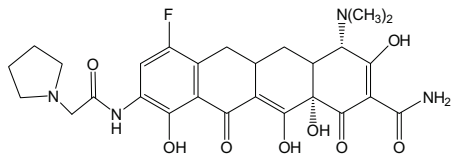
Representatives under development	Characteristics
 <p>Sarecycline</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• large spectra against skin bacterial pathogens;</li> <li>• tolerability similar to other authorized tetracyclines;</li> <li>• has an anti-inflammatory effect, as well;</li> <li>• <i>phase III</i>: moderate or severe acne; oral administration, in single daily dose;</li> </ul>
 <p>Omadacycline</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ultra large spectra, including MRSA;</li> <li>• <i>phase III</i>: community-acquired pneumonia; skin and soft tissue;</li> <li>• <i>phase II</i>: nosocomial infections; urinary tract infections;</li> </ul>
 <p>Eravacycline</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>phase III</i>: intra-abdominal infections; urinary tract infections;</li> <li>• <i>phase I</i>: respiratory tract infections.</li> </ul>



Table IV. Oxazolidinones [18]

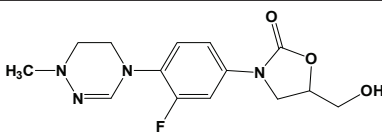
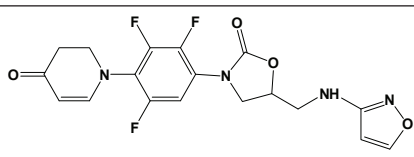
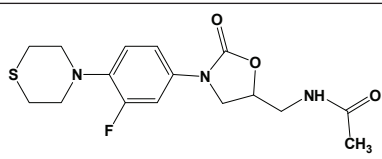
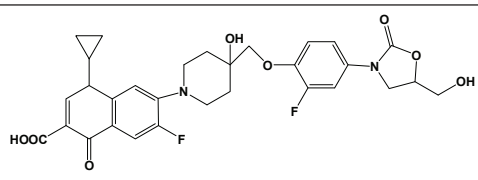
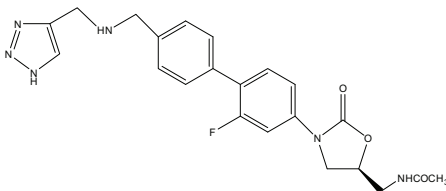
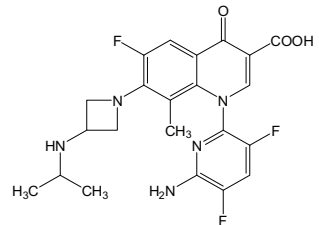
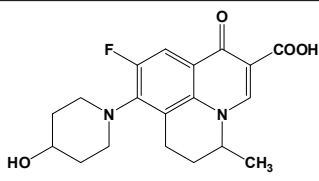
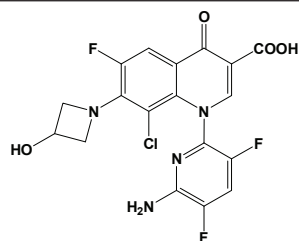
Representatives under development	Characteristics
 LCB01-0371	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>phase I</i>: Gram-positive infections;</li> </ul>
 MRX-I	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>phase II</i>: skin and soft tissue infections;</li> <li>• reduced myelosuppression;</li> </ul>
 Sutezolid	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>phase II</i>: XDR tuberculosis;</li> </ul>
 Cadazolid	<ul style="list-style-type: none"> <li>• contains the pharmacophores of FQ and oxazolidinone;</li> <li>• <i>phase III</i>: <i>C. difficile</i> infections</li> </ul>
 Radezolid	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>phase II</i>: complicated staphylococcal infections of the skin and skin tissues (including MRSA) and in community-acquired pneumonia;</li> <li>• safety profile superior to linezolid;</li> </ul>

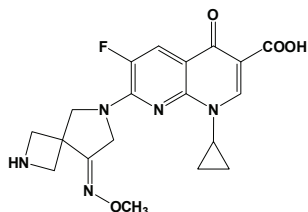
Table V. Quinolone carboxylic acids (quinolones and fluoroquinolones) [18]

Representatives under development or recently approved	Characteristics
 KPI-10	<ul style="list-style-type: none"> <li>• activity against bacteria currently resistant to other FQ, including <i>E. coli</i>, <i>N. gonorrhoeae</i>, MRSA, <i>Acinetobacter</i> spp., staphylococci;</li> <li>• excellent pharmacokinetic profile;</li> <li>• oral and parenteral formulation;</li> <li>• <i>phase I</i>: bacterial infections;</li> </ul>
 Nadifloxacin (WCK 771)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• superior activity against MRSA compared to sparfloxacin and trovafloxacin;</li> <li>• it is not substrate for NorA efflux pumps;</li> <li>• WCK 2349, prodrug of WCK 771, an alanine-based ester;</li> <li>• <i>marketed</i>: acne vulgaris;</li> </ul>



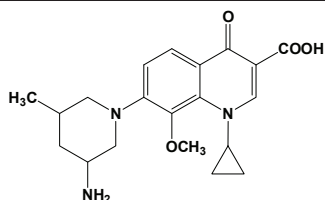
Delafloxacin

- more active than other fluoroquinolones against MRSA;
- unlike other FQ which have a zwitterion-type structure, delafloxacin has an anionic character;
- it highly accumulates at cellular level;
- *phase III*: community-acquired pneumonia; skin and soft tissue infections;
- *phase I*: intra-abdominal infections; nosocomial pneumonia; urinary tract infections;



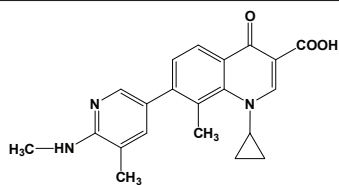
Zabofloxacin

- *phase III*: respiratory tract infections;
- activity against multiresistant Gram-positive bacteria and *N. gonorrhoeae*



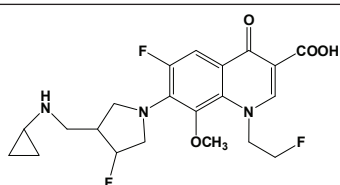
Nemonoxacin

- non-fluorinated quinolone;
- very large spectra of activity;
- *marketed*: community-acquired pneumonia;
- *phase II*: diabetic foot ulcer;
- *phase unknown*: skin and soft tissue infections;



Ozenoxacin

- non-fluorinated quinolone;
- active against some Gram-positive bacteria resistant to ordinary quinolones;
- *registered*: acne vulgaris; skin and soft tissue infections;
- *preregistered*: impetigo;

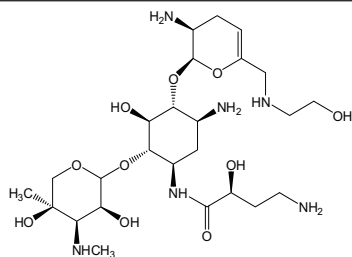


Lascufloxacin

- active against respiratory bacterial pathogens;
- *phase III*: community-acquired pneumonia; otorhinolaryngological infections; respiratory tract infections.

Table VI. Macrolides (fluoroketolides) and aminoglycosides [18]

Representatives under development or recently approved	Characteristics
<p style="text-align: center;">Solithromycin</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• carbamate fluoro-ketolide;</li> <li>• stronger interaction with bacterial ribosomes than telithromycin;</li> <li>• <i>preregistration</i>: community-acquired pneumonia;</li> <li>• <i>phase III</i>: chlamydial infections; gonorrhoea; urethritis;</li> <li>• <i>phase II</i>: otorhinolaryngological infections;</li> <li>• <i>phase I</i>: anthrax; bacterial infections; tularaemia;</li> </ul>



Plazomicin

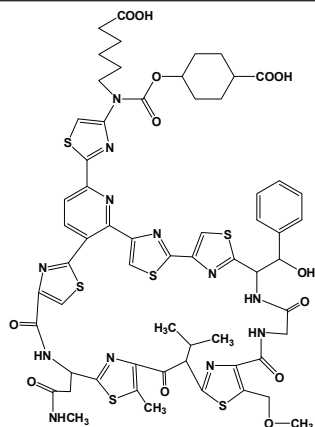
- aminoglycoside with large spectra;
- *phase III*: bacteraemia; nosocomial pneumonia; pyelonephritis; urinary tract infections.

Table VII. Pleuromutilins [18]

Representatives under development	Characteristics
<p>Lefamulin (BC-3781)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• oral and i.v. formulation;</li> <li>• active against MRSA and vancomycin-resistant Enterococcus;</li> <li>• <i>phase III</i>: community-acquired pneumonia;</li> <li>• <i>phase II</i>: skin and soft tissue infections;</li> </ul>
<p>BC-7013</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• active against some Gram-positive bacteria;</li> <li>• <i>phase I</i>: Clostridium infections</li> </ul>

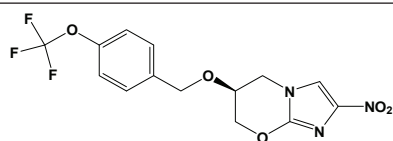
Table VIII. Various structures [18]

Representatives under development or recently approved	Characteristics
<p>Exeporfinium (XF-73) chloride</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>phase II</i>: MRSA infections;</li> </ul>
<p>NVB-302</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• lantibiotic;</li> <li>• <i>phase I</i>: Clostridium difficile infections</li> </ul>
<p>Murepavadin (POL-7080)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• synthetic compound, with peptidomimetic structure;</li> <li>• <i>phase II</i>: pseudomonal infections;</li> <li>• <i>phase I</i>: Gram-negative infections;</li> </ul>
<p>Ridinilazole (SMT19969)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• nonabsorbable antibiotic;</li> <li>• <i>phase II</i>: C. difficile infections;</li> </ul>



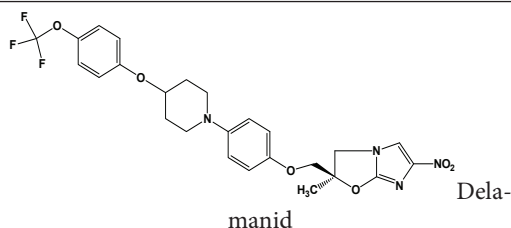
LFF571

- analogue of a natural antibiotic GE2270;
- *phase II*: *C. difficile* infections;



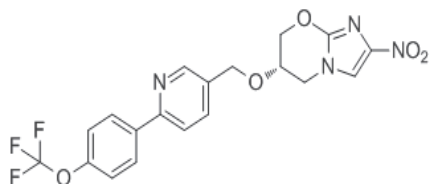
Pretomanid

- bicyclic nitroimidazole;
- inhibits the synthesis of mycolic acid;
- *phase III*: tuberculosis;



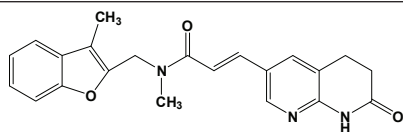
manid

- bicyclic nitroimidazole;
- *marketed*: tuberculosis;



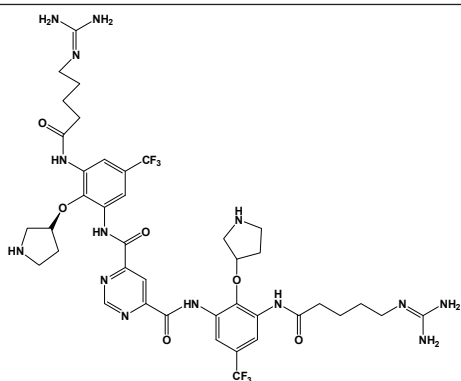
TBA-354

- bicyclic nitroimidazole;
- *phase I*: tuberculosis;



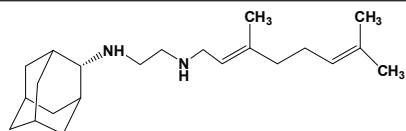
Debio 1542 (AFN 1252)

- *FabI* inhibitor;
- activity against all strains of staphylococci, including MRSA;
- *phase II*: skin and soft tissue infections;
- *phase I*: bacterial infections;



Brilacidin

- class of defensinmimetics;
- mimics the structure of HDP (host defense peptides);
- very active against MRSA;
- *phase II*: skin and soft tissue infections; stomatitis; ulcerative colitis;

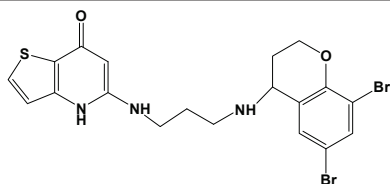


SQ109

- adamantan derivative;
- *phase II/III*: tuberculosis

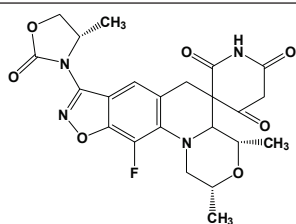
Surotomicin

- cyclic lipopeptide;
- *phase III*: *C. difficile* infections (oral administration);



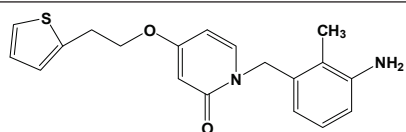
CRS3123

- *methionin-ARNt-synthetase* inhibitor;
- *phase I*: *C. difficile* associated colitis;



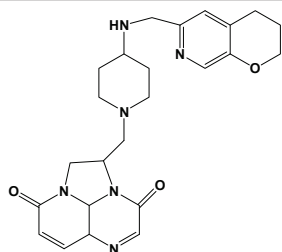
Zolifloxacin (AZD0914)

- *DNA - gyrase* inhibitor;
- *phase I*: gonorrhea;



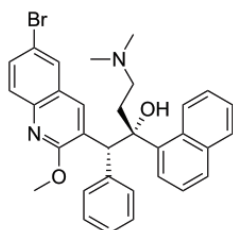
CG400549

- *Enoyl-ACP reductase* inhibitor;
- *phase II*: MRSA infections;
- *phase I*: Vancomycin-resistant *S. aureus* infections;



Gepotidacin (GSK2140944)

- *topoisomerase 2* inhibitor;
- *phase II*: gonorrhoea; skin and soft tissue infections;
- *phase I*: respiratory tract infections;



Bedaquiline

- aryl-quinoline;
- *approved*: MDR tuberculosis.

### Conclusions

The discovery of new antibiotic molecules, to be active against highly resistant bacteria, must represent a priority of the pharmaceutical research. Currently, approximately 50 new antibiotic molecules, belonging to

known antibiotic families or to new structural models, are in clinical development. Most of the promising ones are quinolone carboxylic acid (fluorinated or non-fluorinated molecules), oxazolidinone, tetracycline or pleuromutilin derivatives.

---

**References**

1. Oldfield E, Feng X. Resistance-resistant antibiotics. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2014; 35 (12): 664-674.
  2. Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, Zaidi AKM, Wertheim HFL, Sumpradit N et al. Antibiotic resistance-the need for global solutions. *Lancet Infect. Dis*. 2013; 13: 1057–1098.
  3. Pucci MJ, Bush K. Investigational Antimicrobial Agents of 2013. *Clinical Microbiology Reviews*. 2013; 26: 792-821.
  4. Ziemska, J, Rajnisz, A, Solecka, J. New perspectives on antibacterial drug research. *Cent. Eur. J. Biol*. 2013; 8: 943–957.
  5. Walsh C, Wencewicz T. Prospects for new antibiotics: A molecule-centered perspective. *J. Antibiot*. 2013; 67: 7-22.
  6. Piddock LJV. The crisis of no new antibiotics. What is the way forward?. *Lancet Infect Dis*. 2012; 12: 249-53.
  7. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, et al. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis*. 2009; 48: 1-12.
  8. Transatlantic Taskforce on Antimicrobial Resistance: recommendations for future collaboration between the US and EU, <http://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/tatfar-report.pdf>, accessed September 2016.
  9. Shah PM. The need for new therapeutic agents: what is in the pipeline? *Clin. Microbiol. Infect*. 2005; 11: 36–42.
  10. Liapikou A, Cilloniz C, Mensa J, Torres A. New Antimicrobial approaches to gram positive infections, *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics*. 2015; 32: 137-143.
  11. Freire-Moran L, Aronsson B, Manz C, Gyssens IC, So AD, Monnet DL et al. Critical shortage of new antibiotics in development against multidrug-resistant bacteria-time to react is now. *Drug Resist. Updat*. 2011; 14: 118-124.
  12. Karras G, Giannakaki V, Kotsis V, Miyakis S. Novel antimicrobial agents against multi-drug-resistant Gram-negative bacteria: An overview. *Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov*. 2012; 7: 175–181.
  13. Fernandes P. The global challenge of new classes of antibacterial agents: an industry perspective. *Current Opinion in Pharmacology*. 2015; 24; 7-11.
  14. BioCentury, Antibiotics NCE Pipeline, <http://www.biocentury.com/antibioticscepipeline.html>, accessed March 2016.
  15. D'Urso C, Mendes S, De Souza Antunes A M. Pipeline of Known Chemical Classes of Antibiotics. *Antibiotics*. 2013; 2: 500-534.
  16. Biedenbach DJ, Kazmierczak K, Bouchillon SK, Sahm DF, Bradford PA. *In vitro* Activity of Aztreonam-Avibactam Against a Global Collection of Gram-Negative Pathogens from 2012-2013. *Antimicrobial Agents and Chemother*. 2015; 59 (7): 4239-4248.
  17. Kohira N, West J, Ito A, Ito-Horiyama T, Nakamura R, Sato T et al. *In vitro* antimicrobial activity of siderophore cephalosporin S-649266 against Enterobacteriaceae clinical isolates including carbapenem-resistant strains. *Antimicrobial Agents and Chemother*. 2015; 60 (2):729-34.
  18. Antibiotics Currently in clinical development, December 2015 <http://www.pewtrusts.org/en/multimedia/datavisualizations/2014/antibiotics-currently-in-clinical-development>, [abxpipeline@pewtrusts.org](mailto:abxpipeline@pewtrusts.org) for updates, accessed September 2016.
-



## PRODUSE NATURALE CU ACȚIUNE ANTIMICROBIANĂ NATURAL PRODUCTS WITH ANTIMICROBIAL ACTIVITY

Iliora Oniga, Daniela Benedec, Anca Toiu, Daniela Hanganu

University of Medicine and Pharmacy «Iuliu Hatieganu» Cluj-Napoca

**Rezumat.** Compușii naturali reprezintă o alternativă importantă în tratamentul antiinfecțios, în contextul extinderii rezistenței microorganismelor patogene la acțiunea antibioticelor. Activitatea antibacteriană a acestor compuși se bazează pe diverse mecanisme: interferența în căile metabolice ale bacteriei prin inhibarea unor enzime, creșterea permeabilității membranei, împiedicarea formării de biofilm etc. Combinarea unor uleiuri volatile sau a unor componente ale acestora cu antibiotice reprezintă o strategie promițătoare în direcția combaterii rezistenței.

Pornind de la rezultatele unui număr mare de testări *in vitro*, se impune extinderea studiilor clinice care să confirme eficacitatea produselor naturale în tratamentul bolilor infecțioase.

**Cuvinte cheie:** antimicrobian, compuși naturali, ulei volatil.

**Abstract.** Natural compounds represent a major alternative in the treatment of infections, in the context of enlargement of the pathogenic microorganisms resistance. Antibacterial activity of these compounds is based on various mechanisms: interference in the metabolic pathways of bacteria by inhibiting the enzymes, increasing membrane permeability, preventing the biofilm formation etc. Combination of volatile oils or their major compounds with antibiotics represents a promising strategy to reduce antibiotic resistance. Using a large number of existing *in vitro* data, it is necessary to extend the clinical trials in order to confirm the efficacy of natural products to treat different infectious diseases.

**Keywords:** antimicrobial activity, natural compounds, volatile oil.

### Introducere

Produsele naturale reprezintă o sursă importantă de materii prime cu acțiune antimicrobiană, cercetările actuale orientându-se tot mai mult spre descoperirea de noi agenți antiinfecțioși. Acest interes crescut pentru găsirea unor alternative terapeutice în tratamentul infecțiilor a fost determinat de extinderea rezistenței microorganismelor patogene la acțiunea antibioticelor cunoscute, mai ales datorită utilizării excesive a antibioterapiei (nu întotdeauna necesară). Antibio rezistența a fost declarată de European Center for Disease Control ca fiind una din problemele majore din domeniul sănătății, mecanismele de adaptare ale microorganismelor fiind din ce în ce mai complexe [1]. Bacteriile pot dobândi rezistență prin modificarea țintei de acțiune a antibioticului, prin distrugerea directă sau modificarea structurii antibioticului sub acțiunea unor enzime, prin efluxul antibioticelor din celulă, prin formarea de biofilm pe substratul tisular, intact sau alterat, sau chiar pe suprafața unor biomateriale medicale, cu inducerea rezistenței prin lipsa de penetrabilitate a antibioticelor în biofilm [1].

Cercetările efectuate asupra extractelor naturale au arătat că acestea conțin compuși care pot acționa împotriva agenților microbieni, prin diferite mecanisme: blocarea aderenței microorganismelor la anumite nivele celulare, cu rol în profilaxia infecțiilor; deteriorarea membranei celulare cu favorizarea pierderii de electroliți și conținut celular, determinând moartea celulei microbiene; inhibarea unor enzime care intervin în căile metabolice ale agentului patogen, cu scăderea virulenței; inhibarea sintezei de metaboliți esențiali (aminoacizi, acizi

grași); inhibarea replicării și transcripției acizilor nucleici; stimularea sistemului imunitar, a activității fagocitare și a celulelor imunocompetente etc. [2]

Studii recente au evidențiat existența unor compuși naturali capabili să reducă riscul de apariție a rezistenței, prin împiedicarea formării de biofilm, prin blocarea procesului de semnalizare intercelulară (quorum sensing), rezultate promițătoare obținându-se la asocierea substanțelor de origine naturală cu antibiotice. Astfel, intercalarea derivaților catechinici din ceaiul verde (*Thea sinensis*) în membrana citoplasmatică de *S. aureus*, inclusiv *S. aureus* metilino-rezistent (MRSA), a împiedicat formarea de biofilm și a reversat sensibilitatea la beta-lactamine a tulpinilor de MRSA izolate clinic, determinând creșterea sensibilității la oxacilină [3]. Ajoen-ul este un compus sulfurat din usturoi, care prezintă activitate de inhibare a semnalizării intercelulare (QSI), asocierea cu tobramicina determinând un efect sinergic asupra tulpinilor de *P. aeruginosa* [1].

Structurile chimice ale compușilor naturali cu potențial antimicrobian sunt foarte variate, cele mai multe studii în această direcție fiind realizate asupra uleiurilor volatile, a compușilor polifenolici (flavonoide, taninuri) și terpenici (saponine, steroide, carotenoide).

### Acțiunea antimicrobiană a uleiurilor volatile

Numeroase studii *in vitro* au demonstrat acțiunea antimicrobiană a uleiurilor volatile, acestea acționând în principal prin destabilizarea membranei celulare, denaturarea proteinelor plasmatică și inactivarea unor enzime bacteriene. Compușii lipofili din compoziția ulei-

iurilor volatile interacționează cu polizaharidele, acizii grași și fosfolipidele din structura membranei celulare, aceasta devine mai permeabilă, determinând pierderea de constituenți celulari și moartea bacteriei. În cele mai multe studii, bacteriile Gram-pozitive s-au dovedit mai rezistente la acțiunea uleiurilor volatile, decât bacteriile Gram-negative [4].

S-a constatat în urma a numeroase studii *in vitro*, că cei mai activi compuși din uleiurile volatile sunt fenolii (timolul, carvacrolul, eugenolul), aldehidele (citrulul, aldehida cinamică), alcoolii terpenici (terpineolul). Cele mai active uleiuri volatile s-au dovedit a fi cele de *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, *Melaleuca alternifolia*, *Cinnamomum sp.*, *Eugenia caryophyllata*, *Eucalyptus globulus* ș.a. [5].

Mai multe testări *in vitro* ale uleiurilor volatile au evidențiat o activitate antibacteriană comparabilă cu a unor antibiotice testate în aceleași condiții, uneori fiind chiar superioară. Exemple în acest sens sunt redate în tabelul 1 [6].

Testări ale componentelor uleiurilor volatile au arătat că, de exemplu, carvacrolul acționează specific asupra unor tulpini de *Staphylococcus aureus* și *S. epidermidis*, împiedicând formarea de biofilm. Geraniolul a arătat o bună activitate privind modularea rezistenței pentru câteva bacterii Gram-negative (*Enterobacter aerogenes*, *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), prin inhibarea mecanismelor de eflux, efectele fiind mai evidente la asocierea cu cloramfenicol, beta-lactamine și fluorochinolone [4].

Combinarea unor uleiuri volatile sau a unor componente ale acestora cu antibiotice reprezintă o strategie promițătoare în direcția combaterii rezistenței și a reducerii dozei terapeutice de antibiotic. Astfel, s-a constatat o activitate antibacteriană sinergică la asocierea uleiului volatil de *Pelargonium graveolens* cu norfloxacină și respectiv cu gentamicina asupra speciilor bacteriene *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Escherichia coli* și *Staphylococcus aureus*, iar uleiul volatil din frunze de *Croton zehntneri* a potențat activitatea gentamicinei asupra bacteriei *Pse-*

*udomonas aeruginosa*. Asocierea uleiului volatil de ore-gano cu fluorochinolone, doxiciclină sau lincomicină a condus la efecte sinergice asupra *E.coli*. Alte raportări au evidențiat efecte sinergice la asocierea uleiului volatil de rosmarin cu ciprofloxacina asupra *Klebsiella pneumoniae*, a uleiului volatil de lămâi cu amikacina asupra *Acinetobacter spp.* sau a uleiului volatil de coriandru asociat cu cloramfenicol, ciprofloxacina, gentamicina sau tetraciclină asupra *Acinetobacter baumannii* [7].

Uleiul volatil de eucalipt, cel de tea tree (*Melaleuca alternifolia*) și timolul, au demonstrat o acțiune sinergică la asocierea cu clorhexidină digluconat împotriva biofilmului unor tulpini de *S. epidermidis*, reducând astfel riscul infecțiilor asociate cu utilizarea dispozitivelor medicale. *S. epidermidis* este frecvent cauza unor infecții nosocomiale, datorită capacității de aderare, sub formă de agregate încorporate în biofilm, devenind astfel rezistent la acțiunea unor agenți dezinfectanți sau antibacterieni. Enterococii vancomicino-rezistenți, o altă cauză a infecțiilor nosocomiale, au fost inhibați *in vitro* de către uleiuri volatile de eucalipt, lămâi, portocale și bergamot. Mecanismul de acțiune a avut la bază distrugerea membranei și a homeostaziei celulare, determinând moartea bacteriei [4].

Prin asocierea unor componente din uleiuri volatile cu doxiciclina, s-a observat efectul sinergic împotriva unor bacterii Gram negative (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*). Pentru o mai bună administrare și pentru a proteja compușii lipofili, eugenolul, carvacrolul și aldehida cinamică au fost incluse în nanocapsule lipidice. În urma asocierii cu doxiciclina, valorile CMI au scăzut de 2 până la 4 ori, cele mai bune efecte fiind observate asupra *E. coli* și *A. baumannii*. Componentele lipofile ale uleiurilor volatile au degradat membrana celulară și au determinat pierderea de ioni și molecule, urmată de moartea bacteriei. Uleiurile volatile au favorizat creșterea concentrației de doxiciclină în celulă prin diferite mecanisme (facilitând pătrunderea prin membrana alterată și împiedicând eliminarea sa din

**Tabel 1. Activitatea antibacteriană a unor uleiuri volatile**

Specia medicinală	Bacterii Gram-pozitive	Bacterii Gram-negative	Activitate antibacteriană
<i>Thymus vulgaris</i> , <i>Eucalyptus globulus</i> (uv)	MRSA, <i>S. aureus</i>	-	> vancomicina, metilina, cloramfenicol, gentamicina (MRSA)
<i>Origanum vulgare</i> , <i>Thymus vulgaris</i> , <i>Eugenia caryophyllata</i> (uv)	-	<i>E. coli</i>	Oregano>cimbru>cuișoare
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> (EE 50%, uv)	<i>Bacillus sp.</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>	<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella sp.</i>	ulei >extract
<i>Melissa officinalis</i> – (uv)	<i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i> , <i>P.aeruginosa</i> , <i>K.pneumoniae</i> , <i>S. enterica</i>	acțiune intensă ~ ampicilina ( <i>S. aureus</i> ) > ac. nalidixic ( <i>P. aeruginosa</i> )

Legendă: > = acțiune superioară, > = acțiune inferioară, ~ = acțiune echivalentă  
EE – extract etanolic; uv – ulei volatil;

celulă), ceea ce ar putea explica efectul lor sinergic. Atât efectul bactericid al uleiurilor volatile cât și sinergismul de acțiune cu antibioticele au fost confirmate prin mai multe tehnici; prin microscopie electronică s-a observat dezintegrarea peretelui celular bacterian și eliminarea conținutului celular [8].

Cele mai multe studii care au evaluat activitatea antimicrobiană a uleiurilor volatile s-au realizat *in vitro*, testărilor clinice fiind mult mai reduse. În acest sens, substanțe izolate din uleiuri volatile au fost încorporate în forme farmaceutice destinate aplicării externe – creme, loțiuni, soluții, sau au fost incluse în lipozomi – pentru tratamentul infecțiilor cutanate sau în scop cosmetic, iar altele se utilizează sub formă de soluții pentru inhalării în cadrul infecțiilor respiratorii. Studii mai recente au demonstrat acțiunea uleiurilor volatile ca agenți care favorizează pătrunderea antisepticelor în celule, crescând astfel activitatea lor antimicrobiană, inclusiv asupra unor specii rezistente. O eventuală administrare orală a uleiurilor volatile trebuie însă să țină cont de riscul toxic pe care îl pot dezvolta unele componente (în special cetonele monoterpenice, fenolii) [4].

Cele mai multe studii clinice care folosesc uleiuri volatile sunt orientate spre utilizarea topică, la nivel cutanat sau pe mucoase. Uleiul volatil de *Melaleuca alternifolia* (tea-tree oil) este cunoscut pentru potențialul său antimicrobian, având un spectru larg de acțiune, datorat în principal componentei sale majoritare, un alcool monoterpenic denumit terpinen-4-ol. Studii *in vitro* au demonstrat activitatea uleiului de tea-tree asupra tulpinilor de *Propionibacterium acnes*, o bacterie implicată în unele forme de acnee. Nu există date care să ateste mecanismul de acțiune al uleiului volatil de tea-tree, dar se presupune o posibilă afectare a biofilmului format de *P. acnes*, în analogie cu constatarea acestui mecanism în cazul testării pe *Staphylococcus aureus*. Un studiu statistic realizat on-line a arătat că preparatele cu ulei volatil de tea-tree se folosesc frecvent în tratamentul local al acneei (cauzată de prezența bacteriei *P. acnes*), pentru acțiunea antibacteriană și antiinflamatoare [9]. Mai multe studii clinice au urmărit eficacitatea acestui ulei volatil (sub formă de gel 5%) în tratamentul local al acneei ușoare și medii, timp de 4-8 săptămâni, constatându-se o diminuare a numărului de leziuni inflamatorii cu 23-62%. Rezultatele au fost comparabile cu cele obținute în tratamentul local cu peroxid de benzoil (gel 2,5-5%), respectiv cu eritromicină (gel 2%), în unele cazuri fiind semnificativ mai bune comparativ cu un placebo. Efectele secundare au fost cele caracteristice tratamentului topic antiacneic (prurit, descumare, senzație de arsură, înroșirea și uscarea pielii etc.), cu o rată de manifestare mai scăzută în cazul utilizării preparatelor cu ulei volatil [9].

Un alt studiu a urmărit efectele unor preparate de uz local cu ulei volatil de *Ocimum gratissimum* în diferite concentrații (0,5%, 1%, 2% și 5%), comparativ cu un pre-

parat cu peroxid de benzoil 10% și respectiv cu placebo, la pacienți cu acnee, timp de 4 săptămâni. Preparatul recomandat pentru tratamentul acneei, pe baza rezultatelor obținute, a fost cel cu 2% ulei volatil în cetomacrogol, luând în considerare eficiența terapeutică și efectele secundare mai reduse [10].

#### Acțiunea antimicrobiană a produselor naturale cu compuși polifenolici

Principiile active din clasa polifenolilor sunt larg răspândite în plante, fiind valorificate în terapie pentru o gamă foarte largă de proprietăți. Dintre acestea, o bună activitate antimicrobiană au arătat derivații benzenici de tip fenol, flavonoidele, unele taninuri, derivații de acid cafeic etc.

Frunzele de *Arctostaphylos uva-ursi* (familia *Ericaceae*), strugurii ursului și frunzele de *Vaccinium vitis-idaea* (familia *Ericaceae*), merișor, conțin derivați de hidrochinonă (arbutozidă, metilarbutozidă), taninuri, proantocianidoli, glicozide flavonoidice, triterpene pentaciclice [11, 12]. *Arbutozida și derivații se hidrolizează la hidrochinonă, care este compusul activ cu acțiune antibacteriană demonstrată pe bacterii din genurile Escherichia, Enterobacter, Klebsiella, Proteus, Staphylococcus, Pseudomonas, Citrobacter. Extractul de Uvae ursi folium s-a dovedit mai eficient decât arbutozida izolată, prezentând proprietăți antiseptice și astringente, cu aplicații în tratamentul infecțiilor urinare* [11]. *Fruitele unor specii de Vaccinium (V. macrocarpon, V. corymbosum, V. myrtillus, V. oxycoccus) conțin proantocianidine oligomere care acționează indirect, prin mecanism antiadeziv fimbriar, împiedicând aderarea bacteriilor de mucoasa vezicii urinare, mai ales împotriva tulpinilor de E. coli. Numeroase studii au dovedit eficiența terapeutică a extractelor obținute din fructele de V. macrocarpon (cranberry), mai bogate în proantocianidoli de tip A decât alte fructe de Vaccinium sp.* [11, 12, 13]. *Sucul din fructe de V. macrocarpon administrat femeilor însărcinate a determinat o reducere semnificativă statistic a frecvenței de apariție a infecțiilor urinare și a bacteriuriei asimptomatice. Monitorizarea siguranței administrării acestor fructe a arătat absența reacțiilor adverse, produsul fiind astfel recomandat în prevenirea infecțiilor urinare din timpul sarcinii și la femeile care alăptează* [14].

Propolisul are acțiune bacteriostatică și bactericidă bazată pe inhibarea motilității bacteriei, inhibarea activității unor enzime bacteriene și afectarea permeabilității membranei citoplasmice. De exemplu, galangina și acidul cafeic din propolis inhibă creșterea și proliferarea bacteriilor prin mecanisme de inhibare enzimatică, flavonoidele afectează potențialul de membrană și pot cauza alterarea permeabilității membranei celulare bacteriene [15]. Numeroase studii susțin faptul că propolisul este mai activ pe bacteriile Gram-pozitive (*S. aureus, Enterococcus sp.* și *B. cereus*) și mai puțin activ (parțial pe *P.*

*aeruginosa*, *E. coli*) sau chiar inactiv (*K. pneumoniae*) pe cele Gram-negative. Mai multe studii au raportat o activitate sinergică semnificativă a propolisului la asocierea cu diferite antibiotice, inclusiv asupra tulpinilor rezistente la benzilpenicilină, tetraciclină și eritromicină, ceea ce poate constitui o alternativă în prevenirea și contracararea rezistenței bacteriene [16].

Eficacitatea antibacteriană a propolisului a fost urmărită și clinic, majoritatea studiilor fiind focalizate pe utilizarea locală, cu predilecție în stomatologie și afecțiuni ORL. Diversitatea și complexitatea compoziției chimice a propolisului creează însă dificultăți în ceea ce privește standardizarea preparatelor, elucidarea mecanismelor de acțiune și interpretarea rezultatelor.

Cercetări recente au sugerat că fitoterapia poate contribui favorabil în tratamentul infecției cu *Helicobacter pylori*, un potențial ulcerogen. În acest sens s-au raportat o serie de specii, extracte purificate sau compuși izolați (cvercitol, catechine, izoflavone etc.) cu acțiune anti-*H. pylori* determinată *in vitro* [17]. Creșterea rezistenței *H. pylori* la antibiotice (claritromicină, amoxicilină, metronidazol, levofloxacină) și reacțiile adverse ale acestora, justifică încercările de a descoperi tratamente alternative

bazate pe utilizarea unor resurse naturale. Dintre acestea, cele mai studiate au fost: semințele de *Nigella sativa*, uleiul de măsline, inflorescențele de brocoli, afinele, propolisul, curcuma, usturoiul, ceaiul verde, pentru care acțiunea anti-*H. pylori* a fost confirmată *in vitro*, *in vivo* pe animale de laborator și uneori clinic [18].

### Concluzii

Existența unui număr mare de studii care au demonstrat efectele antibacteriene *in vitro* ale multor extracte din plante sau uleiuri volatile, arată că acestea reprezintă o sursă importantă de materii prime care pot fi valorificate în terapia antiinfecțioasă. Există însă mult mai puține studii clinice care să confirme eficacitatea acestor produse naturale în tratamentul bolilor infecțioase și aceasta poate să fie o direcție de interes pentru cercetarea farmaceutică actuală. Pentru ca rezultatele să fie reproductibile, este foarte important ca în aceste studii să fie bine definiți anumiți parametri, cu referire la materia primă, identificarea corectă a materialului vegetal, tehnicile utilizate pentru extracție și prelucrare, concentrația de principii active.

### Bibliografie

- Lazăr V, Colța T, Măruțescu L, Dițu L-M, Chifiriuc MC. New antiinfectious strategy based on antimicrobial and quorum sensing inhibitors from vegetal extracts and propolis. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education, 2014, Vol II, A. Méndez-Vilas, Ed. Formatex, 1209-1219
- Dhama K, Tiwari R, Chakraborty S, Saminathan M, Kumar A, Karthik K, et al. Evidence based antibacterial potentials of medicinal plants and herbs countering bacterial pathogens especially in the era of emerging drug resistance: an integrated update. *International Journal of Pharmacology* 2014; 10(1):1-43.
- Taylor PW. Alternative natural sources for a new generation of antibacterial agents. *Int J Antimicrob Agents* 2013;42(3):195-201.
- Solórzano-Santos F, Miranda-Novales MG. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Curr Opin Biotechnol.* 2012;23(2):136-41.
- Raut JS, Karuppaiyl SM. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products* 2014, 62: 250-264
- Abdallah EM. Plants: An alternative source for antimicrobials. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 2011, 1(6): 16-20.
- Yap PS, Yiap BC, Ping HC, Lim SH. Essential oils, a new horizon in combating bacterial antibiotic resistance. *The Open Microbiology Journal.* 2014, 8: 6-14.
- Valcourt C, Saulnier P, Umerska A, Zanelli MP, Montagu A, Rossines E, et al. Synergistic interactions between doxycycline and terpenic components of essential oils encapsulated within lipid nanocapsules against gram negative bacteria. *Int J Pharm.* 2016 10;498 (1-2):23-31.
- Hammer KA. Treatment of acne with tea tree oil (melaleuca) products: a review of efficacy, tolerability and potential modes of action. *Int J Antimicrob Agents.* 2015 Feb;45(2):106-10
- Martin KW, Ernst E. Herbal medicines for treatment of bacterial infections: a review of controlled clinical trials. *J Antimicrob Chemother.* 2003;51(2):241-6.
- Hăncianu M, Stănescu U, Aprotosoiaie C. *Bazele farmaceutice, farmacologice și clinice ale fitoterapiei. Vol. 3, Iași: Ed. Gr. T. Popa, 2008.*
- Patel A, Shenouda N, Tallis G. PDR for Herbal Medicines. Ed.4, Montvale: Ed. Thomson Healthcare, 2007
- Head KA. *Natural approaches to prevention and treatment of infections of the lower urinary tract.* *Altern Med Rev* 2008; 13(3):227-44.
- Dugoua JJ, Seely D, Perri D, et al. Safety and efficacy of cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) during pregnancy and lactation. *Can J Clin Pharmacol* 2008;15:e80-e86
- Wojtyczka RD, Dziedzic A, Idzik D, Kępa M, Kubina R, Kabała-Dzik A, et al. Susceptibility of *Staphylococcus aureus* clinical isolates to propolis extract alone or in combination with antimicrobial drugs. *Molecules*, 2013, 8(8): 9623-9640
- Bogdanov S. Propolis: Composition, health, medicine: A review. *Bee product science*, 2015, www.bee-hexagon.net. (aprilie 2016)
- Safavi M, Sabourian R, Foroumadi A. Treatment of *Helicobacter pylori* infection. *World J Clin Cases* 2016, 4(1):5-19.
- Murali MR, Naveen SV, Son CG, Raghavendran HRB. Current knowledge on alleviating *Helicobacter pylori* infections through the use of some commonly known natural products: bench to bedside. *Integr Med Res* 2014, 3: 111-118.



## DOZAREA CONCOMITENTĂ A M-CREZOLULUI ȘI A INSULINEI ÎN PRODUSUL FARMACEUTIC HUMULIN R

### SIMULTANEOUS DETERMINATION OF M-CRESOL AND INSULIN IN HUMULIN R

<sup>2</sup>Anastasia Babileva, <sup>1</sup>Vladimir Valica, <sup>3</sup>Nela Bibire, <sup>2</sup>Livia Uncu

<sup>1</sup>Centrul Științific al Medicamentului, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova

<sup>2</sup>Catedra Chimie farmaceutică și toxicologică, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova

<sup>3</sup>Universitatea de medicină și Farmacie ”Grigore T. Popa”, Iași, România

**Rezumat.** A fost modificată și testată metoda HPLC de determinare concomitentă a m-crezolului și a insulinei în produsul farmaceutic Humulin R. Modificările efectuate în tehnica de lucru nu au influențat asupra exactității metodei, iar rezultatele dozării arată, că conținutul de insulină și m-crezol în preparatul Humulin R se încadrează în limitele stabilite de către Farmacopeea Europeană ed. 8.0 și specificațiile de calitate. Ca rezultat, s-a realizat un avantaj plauzibil pentru analizele de rutină a preparatelor insulinice – micșorarea timpului analizei de două ori. Tehnica de lucru modificată și testată poate fi utilizată pentru evaluarea calității preparatelor insulinice prezente pe piața farmaceutică a Republicii Moldova.

**Cuvinte cheie:** m-crezol, insulină, metoda HPLC.

**Abstract.** It was modified and tested the HPLC method for simultaneous determination of m-cresol and insulin in Humulin R. The changes, that were made in working technique, did not interfere on the accuracy of the method, and the results show that insulin content and m-cresol in Humulin R preparation is within the limits set by the European Pharmacopoeia ed. 8.0 and quality specifications. As a result, an advantage has been achieved for routine analysis of preparations of insulin – shortening twice the time of analysis. Modified and tested technique can be used to assess the quality of preparations of insulin in the pharmaceutical market of Moldova.

**Keywords:** m-cresol, insulin, HPLC method.

#### Introducere

Diabetul zaharat este o boală socială, care ocupă a treia poziție în lume după maladiile cardio-vasculare și oncologice conform datelor privind mortalitatea. Aceiași legitate se respectă și în Republica Moldova, unde această maladie se situează pe al treilea loc după maladiile aparatului circulator și respirator [1]. Diabetul zaharat este periculos nu doar prin manifestările grave, dar și prin faptul, că cauzează o gamă largă de boli concomitente, care se soldează cu invaliditate, iar și cu cazuri letale, crescute de 2-3 ori în rândurile populației generale [2].

OMS menționează că “Diabetul este o epidemie neinfecțioasă a veacului 21”. Pronosticul este foarte drastic nu doar pentru sistemul ocrotirii sănătății, dar și pentru întreaga populație. În ultimii 20 de ani a avut loc creșterea cu 58% a incidenței maladii. În conformitate cu datele Federației Internaționale de Diabet, în anul 2000 a fost înregistrat un număr total al diabeticilor de 171 mln. pacienți, în anul 2003 – 194 mln., anul 2006 – 240 mln., 2011 – 366 mln., iar pentru anul 2030 se estimează că numărul total de diabetici va crește la 552 mln. [3].

Conform Rezoluției pentru diabet ONU din 2006, definiția caracterizează: “Diabetul este o boală cronică, devastatoare și costisitoare, asociată cu complicații severe, ce implică riscuri pentru pacient, familia acestuia, stat și întreaga lume”. Conform datelor Federației Internaționale de Diabet:

- în fiecare 10 secunde 2 persoane dezvoltă diabet;
- în fiecare 10 secunde o persoană decedează de diabet;

– în fiecare 30 secunde este efectuată o amputare din cauza diabetului zaharat [4].

Ultimile cercetări arată, că introducerea la timp a tratamentului cu insulină are un impact pozitiv în ceia ce privește obținerea unor valori glicemice satisfăcătoare și mai ales asupra prevenirii apariției complicațiilor diabetului. Actualmente există o gamă variată de preparate insulinice, dar un lucru este cert: pacienții cu diabet zaharat trebuie să fie asigurați pe parcursul tratamentului cu medicamente calitative și inofensive.. Acest imperativ impune respectarea tuturor cerințelor farmacopeice privind calitatea, dar și perfectarea metodelor de analiză și control, ce ar poseda o repetabilitate apreciabilă și un grad înalt de exactitate. Pentru evaluarea calității insulinei sunt folosite metode sensibile, specifice și exacte: cromatografice, spectroscopice și imunologice așa ca: cromatografie de lichide de înaltă performanță (HPLC), electroforeză capilară, mass-spectroscopie, cromatografia ionică (de schimb ionic), cromatografia de exclusiune sterică, radioimunoanaliză, ELISA-test, PCR (reacție de polimerizare în lanț). Metoda HPLC este utilizată cel mai des în analiza insulinei. În acest studiu s-a urmărit aplicarea cromatografiei de lichide de înaltă performanță în dozarea insulinei și a conservantului m-crezol prin modificarea tehnicii de lucru în vederea micșorării duratei analizei și asigurarea accesibilității utilajului.

#### Material și metode

Analizele au fost efectuate la cromatograful Dionex Ultimate 3000 (TermoScientific) cu coloană Zor-

bax Eclipse XDB-C18 (AgilentTechnologies), 250\*4,6 mm, mărimea particulelor 5 μm, cu numărul de serie 478663, detector UV-VIS; temperatura coloanei – 50°C; debit – 2 ml/min; coraportul fazelor mobile A:B ajustat 74:26%. pH-ul soluției a fost ajustat până la 2,333 cu ajutorul soluției tampon fosfat; concentrația acetonitrilului – 26,3%.

**Tehnica de lucru:** Prepararea fazelor A și B:

**Faza A:** S-au cântărit exact 28,4032 g sulfat de sodiu anhidru (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (în monografie este specificat 28,4 g), care au fost plasate în balon cotat de 1000 ml și s-au solubilizat în apă deionizată cu ajutorul ultrasunetului (baia cu ultrasunet). A fost adăugat 2,7 ml acid fosforic până la un pH măsurat =2,333 cu ajutorul ionometrului de laborator II-160M – pH=2,333 la temperatura 24,3°C (în monografie este specificat pH = 2,3), apoi s-a adus până la cotă cu apă deionizată. Etanolamină nu s-a adăugat, nu era cazul, pentru că nu a fost necesar de modificat pH-ul. Soluția dată a fost filtrată și degazată conform Farmacopeiei Europene ed. 8.0.

**Faza B:** La 750 ml faza A s-au adăugat 250 ml de acetonitril de calitate HPLC. Amestecarea s-a realizat la temperatură mai mare decât 20°C, pentru a exclude precipitarea și ținând cont de faptul, că procesul este unul endotermic. Faza B a fost filtrată și degazată, ca și faza A, conform Farmacopeiei Europene ed. 8.0.

Pentru obținerea fazei mobile pentru lucru au fost amestecate 74 volume de faza A cu 26 volume de faza B; se obține o soluție cu conținut de acetonitrilului 26,3% (după monografia faza mobilă A: f.m. B – 75%:25%). Toate soluțiile a fost preparate la temperaturi cuprinse între 20°C și 25°C.

M-crezolul este un derivat al fenolului, metilat în poziția meta. Se utilizează în calitate de conservant la prepararea soluției de insulina. Pentru determinarea acestuia a fost pregătită soluția standardă de m-crezol.

Conform specificației de calitate a producătorului, soluția standard de m-crezol trebuie să fie cu concentrația c=3mg/ml. Se cântărește pe balanța echilibrată 0,0733 g (după calcule 0,075g); se dizolvă în balon cotat de 25 ml cu acid clorhidric 0,01M și se aduce până la cotă cu aceeași solvent.

### Rezultate obținute și discuții

**Modificarea metodei constă în schimbarea lungimii de undă** a detectorului de la λ=270 nm la λ=214 nm în decursul analizei (λ=270 nm – pentru dozarea m-crezolului și λ=214 nm – pentru dozarea insulinei). Primele 3 injecții a câte 20 μl se face soluția cu soluția de 3mg/ml a m-crezolului. După cum se observă din cromatogramă (figura 1), picul m-crezolului se observă după a 15 minută, deci pentru dozarea insulinei, după minutul 15 se schimbă lungimea de undă manual în programa cromatografului

(Chromleon (c) Dionex, version 7.1.2.1478) de la 270 nm la 214 nm, obținându-se picurile pentru insulină. Următoarele 3 injecții a câte 20 μl se fac cu soluție de referință A (soluție standard) (figura 2).

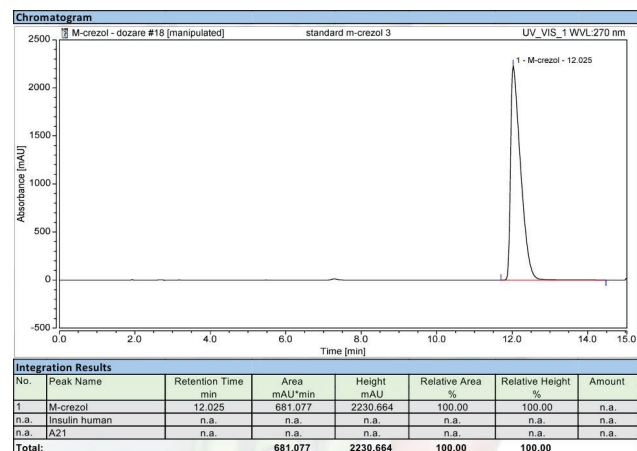


Figura 1. Cromatograma soluției standard de m-crezol pentru determinarea acestuia în produsul Humulin R

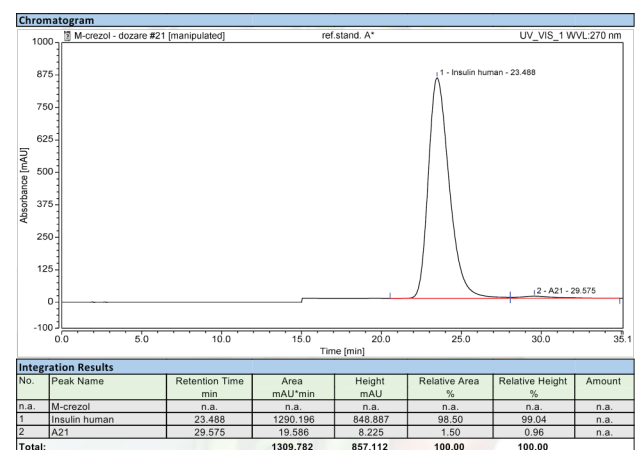


Figura 2. Cromatograma soluției standard de insulină pentru dozarea produsului Humulin R

Imediat după schimbarea lungimii de undă după minutul 15 în cromatograf se injectează câte 20 μl soluție test: 2 ml de Humulin R soluție injectabilă 100 UI/ml și 5μl HCl (conc) Cromatograma respectivă este redată în figura 3.

Din figură 3 se observă, că picul maximal corespunzător insulinei se evidențiază la un timp de retenție 22,615 min, aria acestuia fiind 1337,016 mAU\*min pentru insulină din preparatul Humulin R.

La evaluarea conținutului de insulină în soluția injectabilă a fost utilizată relația:

$$UI/ml = \frac{S_{pr}}{S_{st}} \times \frac{18,3}{4,6} \times 25,64 USP = \frac{1340,526}{1309,629} \times 102 = 104,41 UI/ml$$

$$\frac{S_{pr}}{S_{st}} \times \frac{18,3}{4,6} \times 25,64 USP = \frac{1340,526}{1309,629} \times 102 = 104,41 UI/ml, \text{ în care}$$

S<sub>pr</sub> – aria picului cromatografic a soluției probă,

S<sub>st</sub> – aria picului cromatografic a soluției standard.

În tabelul 1 sunt redată rezultatele dozării insulinei în preparatul Humulin R.



Tabelul 1. Aria picurilor standardului și preparatului Humulin R

	standard		Humulin s.c303040a			UI/ml
	insulin	A21	sumar	insulin	A21	
1290,196	19,586	1309,782	1337,016	5,773	1342,788	104,57
1290,228	19,038	1309,266	1332,716	5,772	1338,488	104,28
1290,218	19,261	1309,839	1334,534	5,770	1340,304	104,37
		1309,629			1340,526	104,41

Conținutul impurităților de A21-dezamidoinsulină – conform metodei de normalizare – în preparatul Humulin R s-a obținut de **0,430%** (max 2%).

Toate rezultatele obținute au fost prelucrate statistic. Analiza datelor este reprezentată în tabelul 2.

S-a obținut CV egal cu 0,142, mărime acceptabilă pentru metoda HPLC de dozare, care denotă o exactitate bună a metodei (mai puțin de 3%).

Pentru calcularea conținutului m-crezolului în Humulin R, cromatograma, care este reprezentată în figura 3 se liniază altfel, în coordonate mai largi, obținându-se o cromatogramă nouă (figura 4). După care se calculează conținutul m-crezolului în insulina Humulin R.

Din figură se observă, că picul maximal corespunzător m-crezolului se evidențiază la un timp de retenție 12,116 min, aria acestuia fiind 590,720 mAU\*min pentru m-crezol din preparatul Humulin R.

Tabelul 2. Prelucrarea statistică primară a datelor experimentale obținute la dozarea insulinei în preparatul Humulin R

Nr.	Mărime	Valoare, unitate de măsură
1.	Media $\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N}$	104,41 UI /ml
2.	Domeniul R = $x_{\max} - x_{\min}$	0,29
3.	Domeniul relativ $R_r \% = \frac{R}{\bar{x}} \cdot 100$	0,277
4.	Abaterea medie $\bar{d} = \frac{\sum_{i=1}^N  x_i - \bar{x} }{N}$	0,11
5.	Abaterea medie relativă $\bar{d}_r \% = \frac{\bar{d}}{\bar{x}} \cdot 100$	0,105
6.	Abaterea standard $S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}}$	0,148
7.	Abaterea standard relativă (coeficient de variație) $S_r \% = CV \% = \frac{S}{\bar{x}} \cdot 100$	0,142
8.	Eroarea mediei $E = x - \mu$	0,59
9.	Eroarea relativă a mediei $E_r \% = \frac{\bar{x} - \mu}{\mu} \cdot 100$	0,56
10.	Abaterea standard a mediei $S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{N}}$	0,085

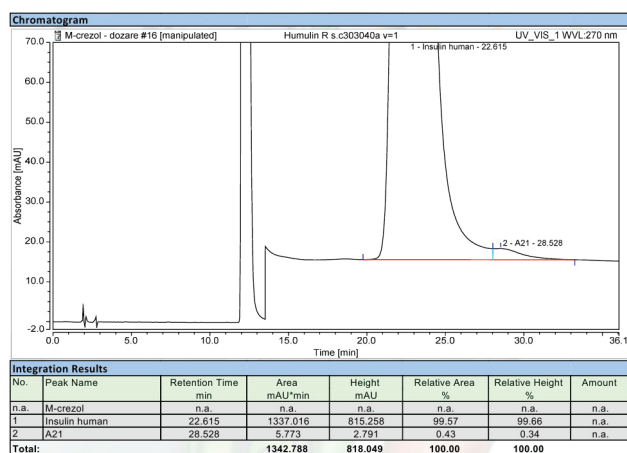


Figura 3. Cromatogramasoluției test de insulină (Humulin R) cu picul m-crezolului

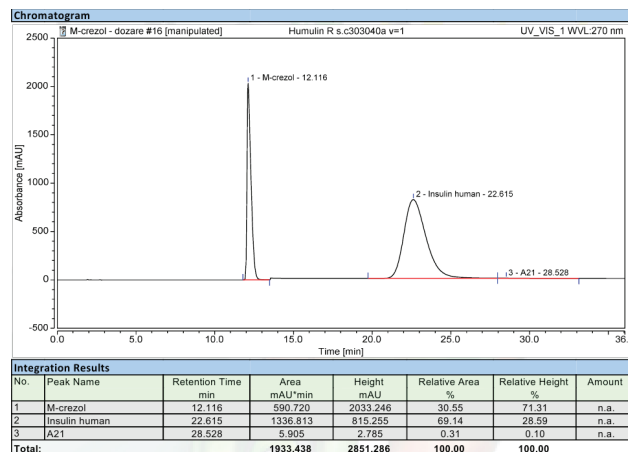


Figura 4. Cromatograma prelucrată a soluției test de insulină (Humulin R) cu picul m-crezolului

La evaluarea conținutului de m-crezol în soluția injectabilă a fost utilizată relația:

$$M\text{-crezol (Humulin R)} = \frac{Spr}{Sst} \times \frac{0,0733g}{25 ml} \times 1000 = \frac{590,896}{680,781} \times 2,932 = 2,545 \text{ mg/ml}, \text{ în care}$$

Spr – aria picului cromatografic a soluției test,

Sst – aria picului cromatografic a soluției standard de m-crezol.

În tabelul 3 sunt redată rezultatele dozării m-crezolului din preparatul Humulin R.

Tabelul 3. Aria picurilor standardului de m-crezol și a preparatului Humulin R

standard			M-Crezol s.c303040a			Conținutul m-crezol, mg/ml
R.t.	S	dev.	R.t.	S	dev	
12,025	681,077	0,0652	12,044	590,985	0,0224	2,544
12,025	681,077	0,0652	12,044	590,985	0,0224	2,544
12,033	680,189	-0,0652	12,116	590,720	-0,0224	2,546
	<b>680,781</b>			<b>590,896</b>		<b>2,545</b>

## Concluzii

Putem afirma, că modificările efectuate în tehnica de lucru nu au interferat asupra exactității metodei, iar rezultatele dozării ne arată, că conținutul de insulină în preparatul Humulin R se încadrează în limitele stabilite de DAN (95 – 105 UI/ml). Rezultatul obținut la dozarea m-crezolului se încadrează în limitele admise de către Farmacopeia Europeană ed. 8.0 și specificații (2,25 –

2,75). Deci, s-a stabilit posibilitatea dozării insulinei concomitent cu dozarea conservantului m-crezol. Ca rezultat s-a realizat un avantaj plauzibil pentru analizele de rutină a preparatelor insulinice – scurtarea timpului analizei de două ori. Tehnica de lucru modificată și testată poate fi utilizată pentru evaluarea calității preparatelor insulinice prezente pe piața farmaceutică a Republicii Moldova.

## Referințe

1. European Pharmacopoeia 8.0
2. USP 38
3. Method of Analysis: Identification and Assay of Phenol and Metacresol, A2461a. Version No.6. Draft.
4. Centrul Național de Management în Sănătate ([www.cnms.md](http://www.cnms.md))
5. Ordinul MS al RM nr.507 din 29.12.2008 – Protocol clinic național "Diabetul zaharat necomplicat"
6. World Health Organization: WHO ([www.who.int](http://www.who.int))
7. United Nations Resolution 61/225, 20.12.2006 ([www.idf.org](http://www.idf.org)) – International Diabetes Federation
8. Specifications (insulin human).

# ANALIZA CANTITATIVĂ A VITAMINELOR E, A ȘI B-CAROTENULUI DIN ULEIURI VEGETALE PRIN METODA SPECTROFOTOMETRICĂ UV-VIS

## QUANTITATIVE ANALYSIS OF VITAMINS E, A AND B-CAROTENE FROM VEGETABLE OILS BY UV-VIS SPECTROPHOTOMETRIC METHOD

<sup>1</sup>Livia Uncu, <sup>2</sup>Mariana Potlog, <sup>2</sup>Elena Donici, <sup>2</sup>Ana Podgornîi, <sup>1</sup>Vladimir Valica

<sup>1</sup>Centrul Științific al Medicamentului, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova

<sup>2</sup>Catedra Chimie farmaceutică și toxicologică, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova

**Rezumat.** Uleiurile extrase din plante sunt utilizate pe larg în domeniul alimentar, dar și în alte domenii precum cosmetica și industria farmaceutică. Acestea prezintă o deosebită valoare datorită numeroșilor principii activi benefici care intră în componența lor. În acest studiu s-a analizat din punct de vedere cantitativ conținutul de vitamine E și A, precum și a β-carotenului în patru uleiuri vegetale: ulei de măsline, ulei de cătină, ulei de germeni de grâu și ulei de semințe de struguri prin metoda spectrofotometrică UV-VIS. Conținutul cel mai mare de vitaminele E și A a fost găsit în uleiul de germeni de grâu, iar de β-caroten în uleiul de măsline.

**Cuvinte-cheie:** vitamina E, vitamina A, β-caroten, spectrofotometria UV-VIS.

**Abstract.** In this study it was analyzed quantitatively the content of vitamins E and A, as well as β-carotene from four vegetable oils: olive oil, seabuckthorn oil, wheat germ oil and grape seed oil by UV-VIS spectrophotometric method. The highest content of vitamins E and A was found in the wheat germ oil, and the highest content of β-carotene in the olive oil.

**Keywords:** vitamin E, vitamin A, β-carotene, UV-VIS spectrophotometry.

### Introducere

Factori cu rol biologic pentru organism, vitaminele liposolubile sunt conținute de o gamă foarte variată de produse alimentare. Dintre acestea, uleiurile vegetale fac parte din categoria cu cel mai mare conținut în vitamine liposolubile, în principal vitaminele A și E [2, 3].

Din punct de vedere al acțiunii lor, vitaminele liposolubile participă mai ales la procesele anabolice, acționând oarecum asemănător hormonilor. Din acest motiv copiii, adolescenții și femeile în perioada maternității au necesități mai mari și sunt mai sensibili la carențe decât alte grupuri de populație [3].

Lucrarea a avut **scopul** de a evidenția proprietățile uleiurilor vegetale prin compararea din punct de vedere cantitativ și calitativ a unor compuși bioactivi din probe de uleiuri vegetale: de măsline, cătină, germeni de grâu și sîmburi de struguri.

### Materiale și metode

În studiu s-au folosit uleiuri vegetale de măsline, de cătină, de germeni de grâu și de sîmburi de struguri (producător Hofigal), α-tocoferol (substanță standard, Sigma Aldrich), β-caroten (substanță standard, Sigma Aldrich), etanol absolut (producător Sigma Aldrich), hexan (producător Sigma Aldrich), 2,2-dipiridil (reactiv, Merck), clorură de fier (III) (reactiv, Merck), spectrofotometru UV VIS Agilent model 8453 Germania, balanță electronică OHAUS DV215 CD, veselă chimică de laborator.

*Tehnica dozării vitaminei E (α-tocoferol) în uleiurile vegetale:*

Prepararea soluțiilor pentru construirea dreptei de calibrare: 0,1g α-tocoferol-substanță standard (masă exactă) se dizolvă cu etanol absolut într-un balon cotat cu capa-

citatea 100 mL (soluția A). 5 mL soluție A se diluează cu etanol absolut într-un balon cotat cu capacitatea 100 mL (soluția B). În 5 baloane cotate cu capacitatea 10 mL se pipetează: 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, 2 mL și 2,5 mL soluție B. Apoi, se adaugă în fiecare balon cotat câte 0,25 mL soluție de 2,2-dipiridil și 0,25 mL soluție de clorură de fier (III) 0,25%. Se agită și se aduce la cotă cu etanol absolut.

*Prepararea probelor de uleiuri vegetale:* pentru fiecare dintre uleiurile vegetale menționate, la 0,1 mL ulei vegetal se adaugă 0,25 mL 2,2-dipiridil și 0,25 mL soluție de clorură de fier (III) 0,25%. Se agită și se completează pînă la 10 mL cu etanol absolut.

S-au măsurat absorbânțele celor 5 soluții de calibrare și ale soluțiilor probe la 520 nm, în cuve de 1 cm, față de martor: soluția formată din 2,2-dipiridil, clorură de fier (III) 0,25% și etanol absolut.

*Tehnica dozării vitaminei A din uleiuri vegetale:* 0,1 probă (ulei vegetal) se completează la volum cu etanol absolut, în eprubeta gradată la 20 mL. Se citește absorbânța soluțiilor obținute la 326 nm, în cuve cu grosimea de 1 cm.

Conținutului de vitamina A în uleiurile analizate se determină după formula (1):

$$UI/g = (A \times 100 \times 1900) / (g \times 0,4) \quad (1)$$

în care:

A – absorbânța soluției la 326 nm;

g – cantitatea de soluție luată în lucru;

1900 – coeficientul de transformare în UI (unități internaționale).

*Tehnica dozării β-carotenului din uleiuri vegetale:* 0,2 mL ulei vegetal se completează cu hexan pînă la 4 mL și se citește absorbânța la 436 nm.

Conținutul  $\beta$ -carotenului în probele de analizat se determină prin raportarea absorbanțelor probelor de analizat la o dreaptă de calibrare. Pentru construirea dreptei de calibrare, se pregătesc soluții standard de  $\beta$ -caroten, cu concentrații cuprinse între 2 și 10  $\mu\text{g/mL}$ , preparate prin diluarea unor volume diferite de soluție standard de  $\beta$ -caroten cu concentrația 20  $\mu\text{g/mL}$ . Se citește absorbanțele soluțiilor obținute la 436 nm și se trasează dreapta de calibrare.

Conținutul în mg de  $\beta$ -caroten la 100 g produs vegetal se determină folosind formula (2):

$$\text{mg carotină \%} = \frac{C_x \cdot f_d \cdot V_{ex}}{m} \cdot 10^{-10} \quad (2)$$

în care:  $C_x$  – concentrația în  $\beta$ -caroten a probelor de analizat, extrasă din curba etalon (g/mL);

$f_d$  – factorul de diluție aplicat probelor de analizat, în vederea încadrării absorbantei lor în domeniul curbei etalon;

$V_{ex}$  – volumul de extract obținut (mL);

$m$  – masa probei analizate (g).

### Rezultate obținute și discuții

Cunoașterea conținutului cantitativ de principii active din uleiurile vegetale comercializate determină aprecierea valorii acestora în funcție de domeniul de utilizare. În literatura de specialitate există numeroase studii referitoare la principiile active din uleiurile vegetale dar majoritatea tratează aceste uleiuri din punct de vedere al conținutului de acizi grași. Noi ne-am propus evaluarea conținutului de tocoferoli și carotinoide. Din varietatea de metode de determinare a acestor componente în uleiurile vegetale a fost selectată metoda spectrofotometrică UV-VIS, fiind una simplă, exactă și accesibilă.

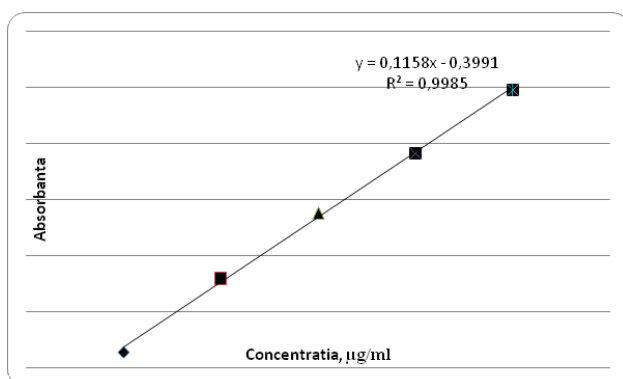


Figura 1. Dreapta de calibrare a vitaminei E ( $\alpha$ -tocoferolului)

*Dozarea vitaminei E ( $\alpha$ -tocoferolului) în uleiurile vegetale analizate*

Prima etapă în studiul cantitativ al vitaminei E prin metoda spectrometrică în UV-VIS a fost trasarea dreptei de calibrare a vitaminei E (figura 1). Cu ajutorul funcției dreptei de calibrare s-a determinat concentrația în mg/mL a vitaminei E din uleiurile vegetale analizate. Rezul-

tatele obținute sunt redate în tabelul 1 și figura 2.

Tabelul 1. Valorile absorbanțelor și nivelul concentrației de vitamina E din uleiurile vegetale

Probe	Ulei de măsline	Ulei de cătină	Ulei de germeni de grâu	Ulei de sîmburi de struguri
Valoarea absorbantei determinate la 520 nm	0,121	0,117	0,123	0,110
Concentrația Vitaminei E ( $\mu\text{g/mL}$ )	15,83019	15,07547	16,20755	13,77358

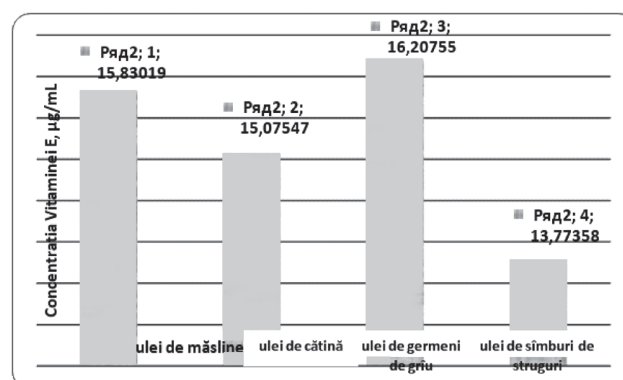


Figura 2. Nivelul concentrației de vitamina E din uleiuri vegetale

Din datele obținute se observă că cea mai mare concentrație de vitamina E a prezentat-o uleiul de germeni de grâu.

*Dozarea vitaminei A în uleiurile vegetale analizate*

Concentrația de vitamina A din uleiurile vegetale s-a calculat conform formulei de calcul (1) menționată în subcapitolul.

### Materiale și metode

Potrivit datelor obținute cel mai mare conținut de vitamina A îl prezintă uleiul de germeni de grâu, iar cel mai mic uleiul de cătină (tabelul 2, figura 3).

Tabelul 2. Valorile absorbanțelor și nivelul concentrației de vitamina A din uleiurile vegetale

Probe	Ulei de măsline	Ulei de cătină	Ulei de germeni de grâu	Ulei de sîmburi de struguri
Valoarea absorbantei determinate la 326 nm	0,181	0,193	0,339	0,132
Concentrația Vitaminei A (UI/g)	942192	100742	1759836	681522

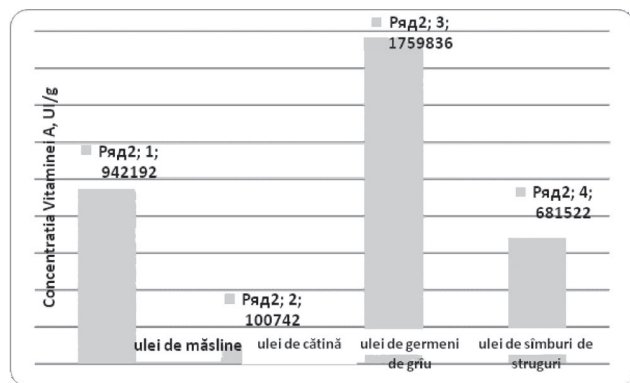


Figura 3. Nivelul concentrației de vitamina A în uleiurile vegetale analizate

Dozarea β-carotenului în uleiurile vegetale analizate

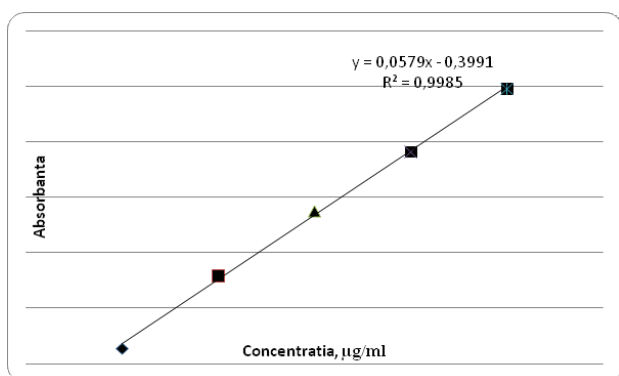


Figura 4. Dreapta de calibrare a β-carotenului

Tabelul 3. Valorile absorbanțelor și nivelul concentrației de de β-caroten din uleiurile vegetale

Probe	Ulei de măsline	Ulei de cătină	Ulei de germeni de grâu	Ulei de simburii de struguri
Valoarea absorbanței determinate la 436 nm	0,0316	0,0242	0,0304	0,0214
Concentrația β-carotenului (μg/mL)	12,375	11,25	11,875	10,41667

Inițial în studiul cantitativ al β-carotenului prin metoda spectrometrică în UV-VIS a fost trasarea dreptei de calibrare a β-carotenului (figura 4). Cu ajutorul funcției dreptei de calibrare s-a determinat concentrația în mg/mL a β-carotenului în uleiurile vegetale analizate. Rezultatele obținute sunt redate în tabelul 3 și figura 5.

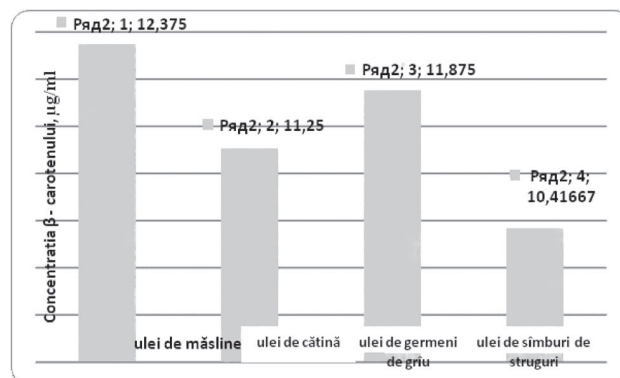


Figura 5. Nivelul concentrației de β-caroten în uleiurile vegetale analizate

Potrivit datelor obținute cel mai mare conținut de β-caroten îl are uleiul de măsline (tabelul 3, figura 5). În uleiul de cătină s-a determinat un conținut micșorat de β-caroten în comparație cu datele bibliografice.

Concluzii

1. În urma determinării cantitative prin metoda spectrofotometrică UV-VIS a conținutului de vitamina E în uleiurile vegetale analizate, o concentrație mai mare a fost regăsită în uleiul de germeni de grâu- 16,2 μg/mL.
2. Uleiul de germeni de grâu s-a dovedit a fi cu un conținut sporit și de vitamina A (1759836 UI/g) iar cea mai mică cantitate s-a determinat în uleiul de cătină (100742 UI/g).
3. S-a determinat cantitativ prin metoda spectrofotometrică UV-VIS β-carotenul din uleiurile vegetale analizate și s-a observat că cea mai mare concentrație este prezentă în uleiul de măsline.

Bibliografie

1. Ball G. Vitamins in foods – Analysis, Bioavailability and Stability. Ed. Taylor and Francis. New York; 2006.
2. Irwandi J., Dedi N., Reno F.H., Fitri O. Carotenoids: Sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry. Journal of Medicinal Plants Research 2011; 5(33): 7119-7131.
3. Ross A.C., Stephensen C.B. Vitamin A and retinoids in antiviral responses. The FASEB Journal 1996; 10(9): 979-985.

# ELABORAREA UNEI METODE DE ANALITICE SPECTROFOTOMETRICE PENTRU DETERMINAREA CANTITATIVĂ A TROPICAMIDEI ÎN FORME FARMACEUTICE

## ELABORATION OF AN ANALYTICAL, SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF TROPICAMIDE IN PHARMACEUTICAL FORMS

<sup>1</sup>Livia Uncu, <sup>2</sup>Delia Șerban, <sup>1</sup>Vladimir Valica, <sup>2</sup>Elena Donici, <sup>1</sup>Oxana Vișlouh,  
<sup>1</sup>Ecaterina Mazur, <sup>2</sup>Alina Macari

<sup>1</sup>Centrul Științific al Medicamentului, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova  
<sup>2</sup>Catedra Chimie farmaceutică și toxicologică, IP USMF „Nicolae Testemițanu”,  
Republica Moldova

**Rezumat.** A fost elaborată o metodă spectrofotometrică UV-VIS simplă și sensibilă de determinare cantitativă a tropicamidei în formele farmaceutice: Tropicamidă picături oftalmice, soluție 0,5% și 1,0%. A fost verificată liniaritatea răspunsului analitic în domeniul de concentrații 15-35 μg/mL tropicamidă în 9 soluții cu acid sulfuric 0,5 M într-o regresie pătratică. Metoda este liniară, coeficientul de corelație determinat fiind de 0,99939. Metoda prezintă o reproductibilitate bună: într-o serie de câte 5 repetări abaterea standard relativă este 0,7068% pentru tropicamidă picături oftalmice 0,5% și 0,6732% pentru tropicamidă picături oftalmice 1%.

**Cuvinte cheie:** tropicamidă, agent midriatic, spectrofotometrie UV-VIS.

**Abstract.** A simple and sensitive spectrophotometric UV-VIS method was developed for assay of tropicamide in pharmaceutical forms: tropicamide eye drops 0,5% and 1,0%.

The linearity of analytic signal was checked out in 9 tropicamide solutions in 0,5 M sulfuric acid in the 15-35 μg/mL concentration domain. The method exhibit a good reproducibility: in 5-fold repetition the relative standard deviation is 0,7068% for tropicamide eye drops 0,5% and 0,6732% for tropicamide eye drops 1%.

**Keywords:** tropicamide, mydriatic agent, UV-VIS spectrophotometry.

### Introducere

Tropicamida, (N-etil-3hidroxi-2-fenil-N-(piridin-4-ilmetil)propanamida), face parte din clasa anticolinergice și cicloplegice, utilizat în scop diagnostic pentru inducerea midriazei și cicloplegiei sau terapeutic pentru tratamentul curativ al sinechiilor deja constituite (figura 1) [2].

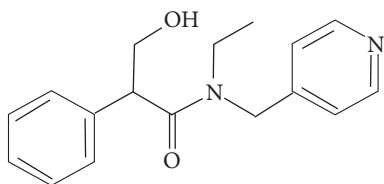


Figura 1. Formula de structură a tropicamidei

Este utilizat preponderent sub formă de picături oftalmice – soluții de 0,5 și 1%. S-a elaborat formula de fabricație pentru produsul tropicamidă picături oftalmice, soluție 0,5 și 1,0% cu conținut de: tropicamidă, clorură de benzalconiu, clorură de sodiu, edetat de sodiu, soluție acid clorhidric 10% și apă purificată.

S-a testat metoda spectrofotometrică UV-VIS de determinare cantitativă a tropicamidei din seriile pilot pentru produsul Tropicamidă picături oftalmice, soluție 0,5% și 1,0%.

În literatura de specialitate nu există suficientă

informație referitoare la determinarea cantitativă a tropicamidei în forme farmaceutice. Farmacopeea Statelor Unite (USP) și Farmacopeea Britanică (BP) prevăd o metodă titrimetrică de dozare în mediu anhidru a tropicamidei-substanță utilizată ca materie primă și o metodă spectrofotometrică extractivă a tropicamidei în forme farmaceutice [1,3]. Însă, aceste metode sunt foarte laborioase, necesită mult timp, totodată sunt și costisitoare. Astfel, este destul de actual și oportun elaborarea unei metode spectrofotometrice UV-VIS mai simple și în plan de utilizare atât pentru substanța en gross, cât și pentru forme farmaceutice de tropicamidă.

### Materiale și metode

În studiu s-a folosit: tropicamidă-substanță de referință (s.r.) 99% (producător Sigma Aldrich), Tropicamidă picături oftalmice, soluție 0,5% și 1,0% serii pilot, acid sulfuric 0,5 M (producător Sigma Aldrich), spectrofotometru UV VIS Agilent model 8453 Germania, balanță electronică OHAUS DV215 CD, veselă chimică de laborator.

Soluțiile de tropicamidă utilizate la construirea dreptei de etalonare s-au preparat prin diluarea soluției standard apoase de tropicamidă 100 μg/mL cu acid sulfuric 0,5 M într-o regresie pătratică. S-au obținut 9 soluții de calibrare de tropicamidă cu concentrațiile 15,0; 17,5; 20,0; 22,5; 25,0; 27,0; 30,0; 32,5 și 35,0 μg/mL.



Soluția standard de tropicamidă s-a pregătit prin dizolvarea unei mase exacte de tropicamidă (s.r.) într-o cantitate adecvată de apă purificată. S-a obținut soluția standard de tropicamidă 25 μg/mL prin diluții corespunzătoare cu acid sulfuric 0,5 M.

Soluțiile probă de tropicamidă s-au preparat prin diluerea a 1,0 mL soluție oftalmică Tropicamidă 0,50%, respectiv 0,5 mL soluție oftalmică 1% Tropicamidă cu apă purificată. S-a obținut soluțiile probe de tropicamidă 25 μg/mL prin diluții corespunzătoare cu acid sulfuric 0,5 M.

S-a măsurat absorbanta celor 9 soluții de calibrare, a soluției probă și a soluției standard de tropicamidă față de martor – acid sulfuric 0,5 M, la 254 nm, în cuve de 1 cm.

Cantitatea de Tropicamidă (g/100 mL) în soluția oftalmică s-a calculat folosind următoarea formulă:

$$\text{Tropicamidă (\%)} = \frac{m_e \cdot A_t}{A_s} \cdot a \quad (1)$$

în care:

$m_e$  = cantitatea de tropicamidă (s.r.) luată în lucru, g

$A_s$  = absorbanta Soluției standard de tropicamidă

$A_t$  = absorbanta Soluției probă de tropicamidă

$a$  = factor care rezultă din prelucrarea probei,  $a = 20$

### Rezultate obținute și discuții

Spectrele UV-VIS ale soluțiilor probe și a soluției standard de tropicamidă în regiunea 200-600 nm sunt redată în figura 2 cu un maxim de absorbție la 254 nm.

Prima etapă în studiul cantitativ prin spectrometrie UV-VIS a fost determinarea intervalului de concentrație de liniaritate pentru tropicamidă. Pentru stabilirea intervalului de concentrații în care se respectă legea absorban-

ței s-a construit dreapta de etalonare pentru tropicamidă (figura 3). S-a demonstrat că există o relație liniară între concentrația tropicamidei și absorbanta acesteia, coeficientul de corelație determinat fiind de 0,99939 și are o valoare mai mare de 0,999.

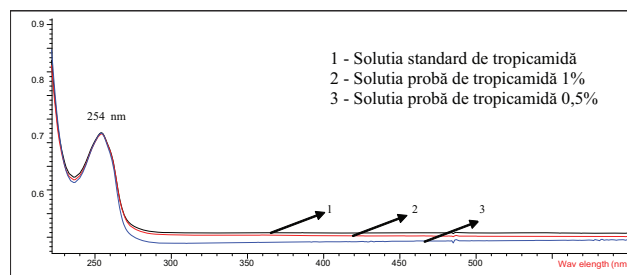


Figura 2. Spectrele de absorbție ale soluțiilor: standard și probe de tropicamidă 25 μg/mL

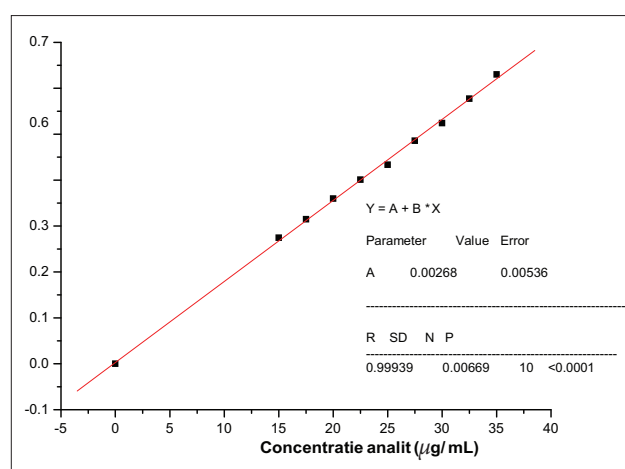


Figura 3. Dreapta de etalonare a tropicamidei

Tabelul 1. Rezultatele determinării cantitative a tropicamidei în Tropicamidă picături oftalmice, soluție 0,5% și 1,0%

Semnificatia parametrului statistic	Parametrul statistic	Valorile determinate	
		Picături oftalmice de tropicamidă 0,5%	Picături oftalmice de tropicamidă 1,0%
Numărul de măsurători	n	5	5
Valoarea medie a conținutului de substanță, g	$\bar{X}$	0,504	1,004
Abaterea standard	$^2S$	$1 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-4}$
	S	0,0036	0,0068
Coeficientul Student, 95%	t	2,7764	2,7764
Abaterea medie pătratică	$S_{\bar{X}}$	0,0016	0,003
Abaterea standard relativă	RSD,%	0,7068	0,6732
Intervalul de încredere	$\Delta \bar{X}$	0,0044	0,0084
Rezultatul final	$\bar{X} - \Delta \bar{X}$	0,4997	0,9958
	$\bar{X} + \Delta \bar{X}$	0,5086	1,0126
Eroarea relativă	E%	0,7068	0,8359



Au fost efectuate câte 5 determinări cantitative spectrofotometrice pentru conținutul tropicamidei în picături oftalmice 0,5% și câte 5 determinări pentru conținutul tropicamidei în picături oftalmice 1,0%. Rezultatele obținute au fost supuse statistic și sunt redată în tabelul 1.

Abaterea standard relativă (RSD) pentru *Tropicamidă picături oftalmice, soluție 0,5%* este 0,7068, intervalul de încredere al mediei la un nivel de siguranță de 95% este 0,4997-0,5086; eroarea relativă (E%) este 0,7068. Abaterea standard relativă (RSD) pentru *Tropicamidă picături oftalmice, soluție 1,0%* este 0,6732, intervalul de încredere al mediei la un nivel de siguranță de 95% este

0,9958-1,0126; eroarea relativă (E%) este 0,8359. Astfel, metoda spectrofotometrică UV-VIS elaborată pentru ambele forme farmaceutice este reproductivă, abaterea standard relativă fiind mai mică de 2%.

#### **Concluzii**

A fost testată o metodă spectrofotometrică UV-VIS de determinare cantitativă a tropicamidei în *Tropicamidă picături oftalmice, soluție 0,5% și 1,0%*. Metoda propusă este mai simplă, mai rapidă și mai accesibilă decât metodele existente în literatura de specialitate. Metoda este liniară și reproductivă.

---

#### **Bibliografie**

1. British Pharmacopoeia. London: Her Majesty's, Stationery Office, 2005; p. 2028;
  2. Massoud Amanlou, Effat Sour, Shiva Izady, Hassan Farsam. Spectrophotometric determination of Tropicamide in bulk and pharmaceutical formulations. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences. Winter 2007; 3(1): 43-50;
  3. United States Pharmacopoeia 29. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, 2005; pp. 295, 2223.
-

# STUDIUL STABILITĂȚII PICĂTURILOR AURICULARE CU CONȚINUT DE CIPROFLOXACINĂ 3 mg/ml

## STABILITY STUDY OF EAR DROPS CONTAINING CIPROFLOXACIN 3 mg/ml

<sup>1</sup>Livia Uncu, <sup>1</sup>Eugeniu Nicolai, <sup>2</sup>Eugenia Pomană, <sup>1</sup>Vladimir Valica, <sup>1</sup>Sergiu Parii, <sup>2</sup>Elena Donici

<sup>1</sup>Centrul Științific al Medicamentului, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova

<sup>2</sup>Catedra Chimie farmaceutică și toxicologică, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova

**Rezumat.** În acest studiu s-a analizat stabilitatea din punct de vedere fizico-chimic și microbiologic a produsului picături auriculare cu conținut de Ciprofloxacină 3 mg/ml în ambalajul propus, în condiții normale, în condiții accelerate și în flacoane deschise. Produsul s-a dovedit a fi stabil în ambalajul propus, însă se va depozita la temperaturi sub 25°C.

**Cuvinte-cheie:** picături auriculare, ciprofloxacină, studiul stabilității.

**Abstract.** In this study we analyzed the physico-chemical and microbiological stability of ear drops containing Ciprofloxacin 3 mg/ml in the proposed packaging under normal conditions, under accelerated and open bottles. The product was found to be stable in the proposed packaging, but not store above 25°C.

**Keywords:** ear drops, ciprofloxacin, stability study.

### Introducere

Ciprofloxacina face parte din grupul fluorochinolonelor și are un spectru larg împotriva microorganismelor gram-pozitive și gram-negative [1]. Datorită eficienței înalte, Ciprofloxacina se aplică pe scară largă în infecțiile ochiului și urechii sub formă de picături oftalmice și auriculare. Din punct de vedere chimic este 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-quinoline-3-carboxylic acid (figura 1).

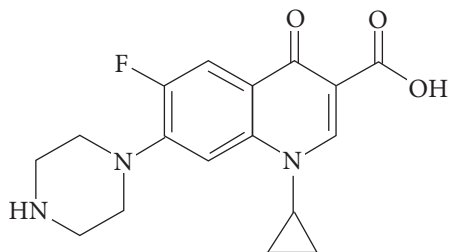


Figura 1. Formula de structură a ciprofloxacinei

Scopul prezentului studiu a fost de a demonstra stabilitatea produsului ambalat de picături auriculare cu conținut de Ciprofloxacină.

Se știe că, asupra degradării medicamentelor influențează o serie de factori: temperatura, lumina, umiditatea, oxigenul din aer, pH-ul soluției. Testările de stabilitate s-au efectuat în conformitate cu cerințele ghidurilor ICH (*Conferința Internațională pentru Armonizare*) și conform ghidului-*Guideline on stability testing: stability testing of existing active substances and related finished products (CPMP/QWP/122/02)* la influența factorilor enumerați mai sus asupra degradării picăturilor auriculare cu conținut de Ciprofloxacină.

### Materiale și metode

În studiu s-au folosit: Ciprofloxacină substanță standard (producător Sigma Aldrich), spectrofotometru UV VIS Agilent model 8453 Germania, balanță electronică

OHAUS DV215 CD, veselă chimică de laborator, picături auriculare cu conținut de Ciprofloxacină 3 mg/ml (produsul testat). Determinarea aspectului, culorii, pH-ului soluției, dozarea ciprofloxacinei și a clorurii de benzalconi, determinarea impurităților înrudite chimic și sterilitatea produsului testat s-au efectuat în conformitate cu specificația de calitate.

### Rezultate obținute și discuții

Înainte de a fi păstrat experimental, s-a petrecut analiza calității produsului picături auriculare cu conținut de Ciprofloxacină 3 mg/ml conform cerințelor specificației de calitate. Rezultatele obținute au corespuns normelor procedurilor de control din specificația de calitate pentru cele 3 serii testate și sunt redată în tabelul 1.

Produsul picături auriculare cu conținut de Ciprofloxacină 3mg/ml a fost ambalat câte 5,1g±10 (5 ml) în flacon opac din polietilenă, de capacitate 5 ml.

Cele 3 serii de produs ambalate au fost păstrate pentru testarea stabilității:

- pe termen lung, în condiții normale la 25°C ± 2°C și umiditatea relativă 60% ± 5%;
- în condiții accelerate la 40°C ± 2°C și umiditatea relativă 75% ± 5%;
- timp de 28 de zile din momentul deschiderii flaconului la 25°C±2°C și umiditatea relativă 60% ± 5%.

În condiții normale, cele 3 serii de produs au fost testate cu o frecvență de câte 3 luni și a durat până la 36 luni. În condiții accelerate analizele s-au efectuat la 3 și la 6 luni, iar din momentul deschiderii flaconului controlul celor 3 serii s-a efectuat în ziua a 14-a și a 28.

Peste intervale de timp, echivalente cu 3 luni de păstrare în condiții obișnuite, în cele 3 serii de produs nu au fost semnalate modificări ale aspectului, culorii și pH-ului soluțiilor. Totodată, în cele 3 serii analizate nu s-au atestat schimbări din punct de vedere microbiologic,

Tabelul 1

Rezultatele analizei celor 3 serii de picături auriculare cu conținut de Ciprofloxacin 3 mg/ml testate la etapa inițială

Caracteristici	Limite de admisibilitate	Seria 1	Seria 2	Seria 3
Aspect	Limpede, practic lipsită de impurități mecanice	Limpede, practic lipsită de impurități mecanice	Limpede, practic lipsită de impurități mecanice	Limpede, practic lipsită de impurități mecanice
Culoare	Incoloră sau nu mai intens colorată decât soluția de referință $GV_6$	nu mai intens colorată decât soluția de referință $GV_6$	nu mai intens colorată decât soluția de referință $GV_6$	nu mai intens colorată decât soluția de referință $GV_6$
pH	3,5 – 5,5	4,8	4,8	4,7
Dozarea ciprofloxacinii, g/100 ml	0,270 – 0,330	0,316	0,302	0,302
Dozarea clorurii de benzalconiu, g/100 ml	0,009 – 0,011	0,010	0,010	0,0096
Impurități înrudite chimic, %				
➤ Impuritate C	maxim 0,25	0,05	0,06	0,042
➤ Orice altă impuritate individuală	maxim 0,4	0,17	0,16	0,16
➤ Total impurități	maxim 0,7	0,32	0,28	0,26
Sterilitate	steril	steril	steril	steril

probele fiind sterile pînă la finalul studiului. S-a observat însă o micșorare mică a conținutului de ciprofloxacină și a clorurii de benzalconiu, dar rezultatele nu au depășit limitele admisibile: 0,270 – 0,330 g/100 ml pentru ciprofloxacină și 0,009 – 0,011 g/100 ml pentru clorură de benzalconiu (figura 2). De asemenea, s-a atestat o creștere nesemnificativă a conținutului de impurități înrudite chimic, dar care au corespuns normelor specificației de calitate: cel mult 0,7% (figura 3).

În condiții accelerate, la temperatura de  $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  și umiditatea relativă  $75\% \pm 5\%$ , în cele 3 serii de produs nu au fost semnalate modificări ale pH-ului și aspectului soluțiilor, acestea au rămas limpezi. Totodată în cele 3 serii analizate nu s-au atestat schimbări din punct de vedere microbiologic, probele fiind sterile pînă la finalul studiului. Însă, s-a atestat o intensificare ușoară a culorii, dar nu

mai intensă decât soluția etalon de culoare  $GV_7$ , ceea ce corespunde cerințelor specificației de calitate. S-a observat și o micșorare mică a conținutului de ciprofloxacină și a clorurii de benzalconiu (figura 4). Este cunoscut faptul, că în condiții de creștere a temperaturii, are loc o mărire a vitezei reacțiilor de degradare a medicamentelor, ceea ce duce la micșorarea concentrației substanțelor active, mărirea conținutului de impurități ca produși de degradare și scăderea eficienței farmacologice [2].

De asemenea umiditatea mărită va induce reacțiile chimice de degradare. În studiul efectuat, însă rezultatele cantitative obținute ale ciprofloxacinii și clorurii de benzalconiu nu au depășit limitele admisibile. De asemenea, s-a atestat o creștere nesemnificativă a conținutului de impurități, dar au corespuns normelor specificației de calitate (figura 5).

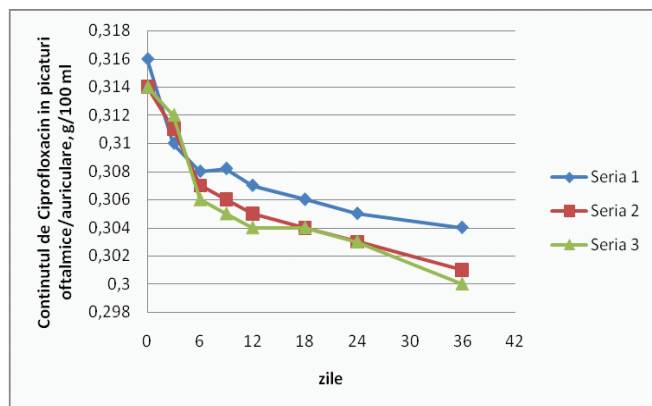


Figura 2. Modificarea conținutului de Ciprofloxacină în picături auriculare 3 mg/ml în funcție de timpul de depozitare în condiții normale

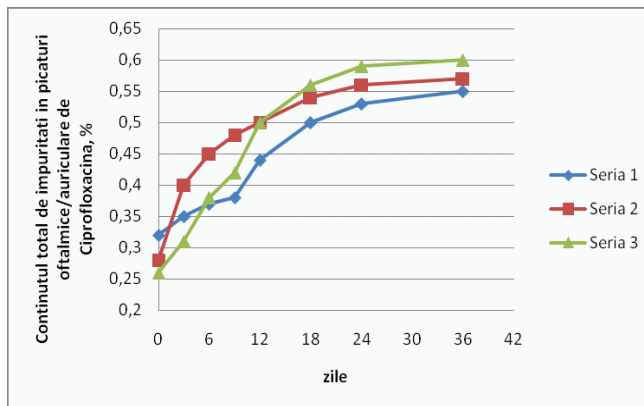


Figura 3. Modificarea conținutului de impurități în picături auriculare de Ciprofloxacină 3 mg/ml în funcție de timpul de depozitare în condiții normale

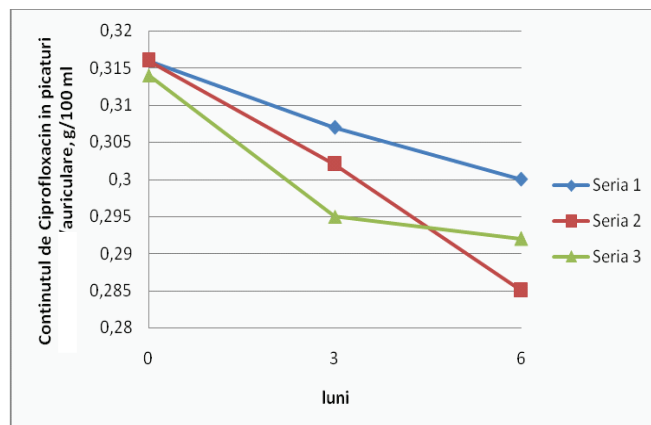


Figura 4. Modificarea conținutului de Ciprofloxacina în picături auriculare 3 mg/ml în funcție de timpul de depozitare în condiții

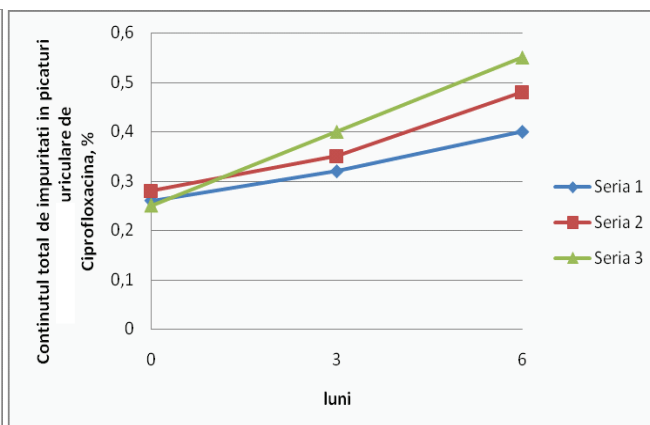


Figura 5. Modificarea conținutului de impurități în picături auriculare de Ciprofloxacina 3 mg/ml în funcție de timpul de depozitare în condiții accelerate

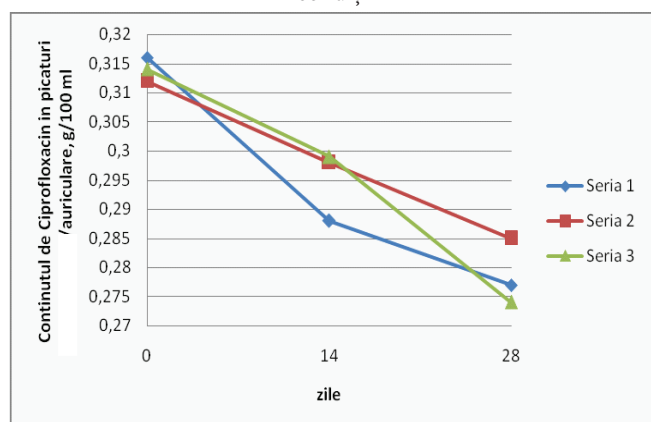


Figura 6. Modificarea conținutului de Ciprofloxacina în picături auriculare 3 mg/ml în funcție de timpul de depozitare, în flacon deschis, în condiții normale

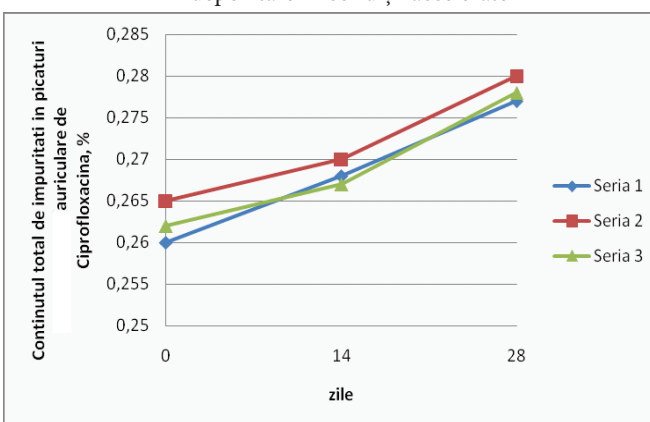


Figura 7. Modificarea conținutului de impurități în picături auriculare de Ciprofloxacina 3 mg/ml în funcție de timpul de depozitare, în flacon deschis, în condiții normale

La depozitarea celor 3 serii de produs timp de 28 de zile din momentul deschiderii flaconului în condiții normale de temperatură și umiditate: la  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  și umiditatea relativă  $60\% \pm 5\%$ , nu au fost semnalate modificări ale pH-ului și aspectului soluțiilor, acestea au rămas limpezi. Totodată, în cele 3 serii cercetate nu s-au atestat schimbări din punct de vedere microbiologic, probele fiind sterile pînă la finalul studiului. Însă, s-a atestat o intensificare ușoară a culorii, dar nu mai intensă decît soluția etalon de culoare GV<sub>7</sub>, ceea ce a corespuns cerințelor specificației de calitate. S-a observat și o micșorare mică a conținutului de ciprofloxacina, dar rezultatele nu au depășit limitele admisibile (figura 6). S-a atestat și o creștere nesemnificativă a conținutului de impurități, dar care a corespuns normelor specificației

de calitate (figura 7). Se cunoaște faptul că oxigenul din aer este factorul principal care contribuie la inițierea reacțiilor chimice de degradare în special în formele farmaceutice lichide [3]. Astfel, vor apărea produși de degradare într-o concentrație mai mare și va scădea conținutul de substanțe active.

### Concluzii

În urma depozitării celor 3 serii de produs pe termen lung: timp de 36 luni, în condiții normale, timp de 3 luni în condiții accelerate și 28 zile în flacoane deschise, produsul picături auriculare cu conținut de Ciprofloxacina 3 mg/ml este stabil din punct de vedere fizico-chimic și microbiologic în ambalajul propus.

### Bibliografie

1. Hardman JG, Limbird LE. Goodman and Gilman. The Pharmacologic Basis of Therapeutics, 11th Ed., McGraw-Hill: New York, 2006.
2. Blessy M., Ruchi D. Patel, Prajesh N. Prajapati, Y.K. Agrawal. Development of forced degradation and stability indicating studies of drugs— A review. Journal of Pharmaceutical Analysis 2014;4(3):159-165
3. Sanjay Bajaj, Dinesh Singla, Neha Sakhuja. Stability Testing of Pharmaceutical Products. Journal of Applied Pharmaceutical Science 02 (03); 2012: 129-13.

## ASPECTE ACTUALE ÎN BIODISPONIBILITATEA MEDICAMENTELOR CURRENT ASPECTS IN THE BIOAVAILABILITY OF DRUGS

<sup>1</sup>Sergiu Parii, <sup>1</sup>Eugeniu Nicolai, <sup>1</sup>Alina Ungureanu, <sup>2</sup>Elena Parii, <sup>1</sup>Vladimir Valica

<sup>1</sup>Centrul Științific al Medicamentului, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova

<sup>2</sup>Agenția Medicamentului și Dispozitivelor Medicale, Republica Moldova

**Rezumat.** Biodisponibilitatea unui medicament este determinată în mare măsură de proprietățile formei de dozare, care depinde parțial de formularea și fabricarea acestuia. Diferențele privind biodisponibilitatea între formulările unui anumit medicament pot avea o semnificație clinică, prin urmare, a ști dacă formulările medicamentoase sunt echivalente este esențial. Echivalența terapeutică a diferitelor formulări ale aceluiași medicament, în prezent, poate fi stabilită numai prin testare la om.

**Cuvinte cheie:** biodisponibilitate, medicament, echivalență.

**Abstract.** Bioavailability of a drug is largely determined by the properties of the dosage form, which depend partly on its design and manufacture. The differences in bioavailability among formulations of a given drug can have clinical significance, thus, knowing whether drug formulations are equivalent is essential. Therapeutic equivalence of different formulations of the same drug can be established at present only by testing in man.

**Keywords:** bioavailability, drug, equivalence.

Obținerea de noi forme farmaceutice capabile să producă un efect terapeutic dorit și cu efecte adverse absente sau minime a fost întotdeauna de importanță deosebită pentru știința farmaceutică.

Wagner J. G., fondatorul Biofarmaciei, a definit biodisponibilitatea (Bd) ca fiind un parametru farmaceutic specific fiecărui medicament, parametru ce poate fi exprimat prin două variabile: cantitatea de substanță activă eliberată dintr-o formă farmaceutică și absorbită în circulația sistemică pe de o parte și viteza cu care substanța activă este eliberată și absorbită.

Totodată, Organizația Mondială a Sănătății (OMS) definește biodisponibilitatea ca cantitate de substanță activă absorbabilă (potențial).

Food and Drug Administration (FDA) definește biodisponibilitatea ca cantitate de substanță activă eliberată, absorbită și care ajunge la locul de acțiune, manifestându-și efectul terapeutic.

American Pharmaceutical Association (APA) definește biodisponibilitatea ca cantitate de substanță activă absorbită și nemodificată.

În final, biodisponibilitatea (disponibilitatea biologică) exprimă cantitatea de substanță activă, precum și viteza cu care aceasta este cedată de medicament, este absorbită în organism, ajunge la locul de acțiune și își manifestă efectul biologic.

Multe decenii, prescrierea medicamentelor și eliberarea lor s-a făcut conform postulatului echivalenței. Postulatul echivalenței prevedea că doza indicată pe eticheta medicamentului este și doza absorbită de organism. Observațiile făcute de-a lungul ultimilor 30 de ani, care s-au

dovedit a fi semnificative statistic, au semnalat apariția unor insuccese terapeutice din cauza subdozărilor, sau a unor accidente datorate supradozărilor, ca urmare a utilizării unui medicament în aceeași posologie (doze și ritm de administrare), dar diferit fiind indivizii la care este administrat, fie formularea preparatului sau tehnologia de preparare, fie numai șarjele. Aceste observații au infirmat postulatul echivalenței.

A fost introdus postulatul bioechivalenței, care stabilește că doza indicată pe etichetă nu este egală cu doza absorbită și care este fondat pe un nou parametru farmaceutic al formei farmaceutice, și anume biodisponibilitate.

Conform postulatului bioechivalenței, pot fi considerate bioechivalente numai preparatele cu aceeași biodisponibilitate.

**Tipurile de echivalență** sunt: chimică, farmaceutică, farmacologică, terapeutică, biologică (bioechivalență).

**Echivalența chimică:** echivalență între medicamente care conțin aceeași substanță activă, în aceeași doză, dar în forme farmaceutice diferite.

**Echivalența farmaceutică:** echivalență între medicamente cu aceeași substanță activă, aceeași doză, același tip de formă farmaceutică, dar cu substanțe auxiliare diferite sau/și tehnologie diferită.

**Echivalența farmacologică:** echivalență între medicamente cu același efect farmacologic, chiar dacă substanța activă diferă, cu condiția că ambele structuri se metabolizează în organism la aceeași structură chimică activă (ex. promedicamentele sau „prodrugurile”).

**Echivalența terapeutică:** echivalență între medicamente cu aceeași eficacitate terapeutică la același individ, în același dozaj, indiferent dacă medicamentul prezintă numai echivalență chimică, farmaceutică sau farmacologică.

**Echivalența biologică (bioechivalența):** echivalență chimică și farmaceutică, plus biodisponibilitate identică între cele două preparate.

Bioechivalente sunt considerate două preparate farmaceutice cu substanțe active echivalente chimic, care administrate la același individ, în aceeași posologie, realizează concentrații plasmatică și tisulare echivalente în timp.

Practic, două produse farmaceutice cu substanța medicamentoasă identică sunt considerate bioechivalente (deci, pot fi înlocuite la bolnav fără risc), dacă biodisponibilitatea lor este diferită nesemnificativ (< 5%).

Consecințele sunt de ordin terapeutic: modificarea efectului în privința parametrilor acestuia (latența, durata și intensitatea efectului), dar pot fi chiar și consecințe toxicologice: efecte adverse, intoxicații.

La administrarea unei singure doze, dacă scade viteza de absorbție sunt afectate mai ales efectele medicamentelor simptomatice (ex. analgezice, spasmolitice, hipnotice), medicamentelor cu debut rapid.

Dacă administrarea se face în doze repetate și prin modificarea biodisponibilității scade cantitatea absorbită și deci scade concentrația sanguină, este afectat efectul terapeutic al medicamentelor administrate cronic (ex. antihipertensive, antidiabetice etc.).

Prin scăderea vitezei de absorbție, este posibil să apară și efecte adverse locale, medicamentele rămânând mai mult timp la locul de administrare (ex. antibiotice cu spectru larg de acțiune, ca tetraciclina).

Exemple de medicamente la care se înregistrează diferențe semnificative în biodisponibilitate, între diferite produse farmaceutice: digoxina, acid acetilsalicilic, tetraciclina, cloramfenicol.

Din punct de vedere clinic, variațiile de biodisponibilitate pot fi semnificative pentru substanțele medicamentoase care au un indice terapeutic de siguranță mic sau/și se absorb limitat (ex. digoxina, fenitoina).

- Farmacistul poate să înlocuiască un medicament cu altul cu condiția ca medicamentele să aibă aceeași substanță activă și să fie bioechivalente.
- Nu se recomandă substituirea în anumite cazuri: substanțe active cu indici terapeutici mici, medicamentele destinate unor maladii cu mortalitate mare (ex. antianginoase, cardiotonice, antidiabetice), substanțe cu particularități deosebite de farmacocinetică, medicamente cu acțiune retard.

**Tipurile de biodisponibilitate și modalitățile de determinare**

Determinarea biodisponibilității se bazează pe criteriile:

- farmacocinetic;
- farmacoterapeutic.

**Criteriul farmacocinetic:** se evaluează concentrația substanțelor active în lichidele biologice ale organismului (sânge, urină, salivă, bilă, lcr), la diferite intervale de timp de la administrare.

**Criteriul farmacoterapeutic:** se determină efectul farmacodinamic, la diferiți timpi de administrare.

Se trasează pe grafic:

- curba variației concentrației sanguine în funcție de timp (fig. 1);
- curba variației efectelor în funcție de timp.

Dacă se fac ambele determinări, se înscrie pe grafic curba efectelor în funcție de concentrația sanguină.

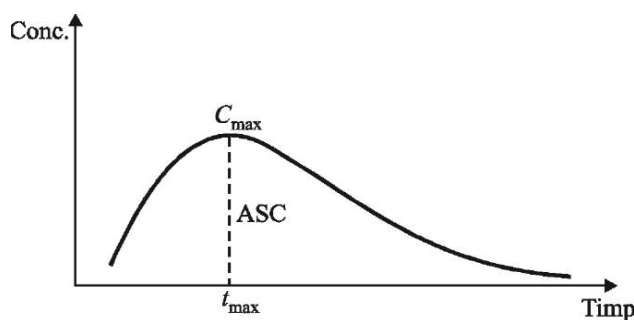


fig. 1

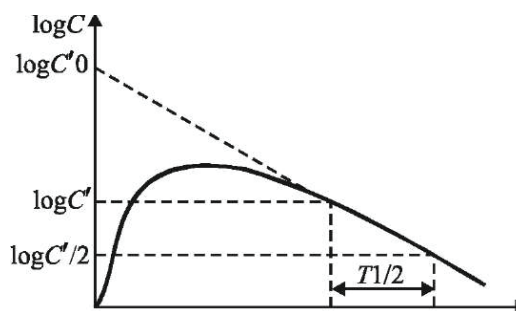


fig. 2

Pe aceste curbe se pot determina respectiv următorii parametri:

- aria suprafeței de sub curbă (ASC), concentrația maximă ( $C_{max}$ ) și timpul necesar obținerii concentrației maxime ( $t_{max}$ ), timpul de înjumătățire - $T1/2$  (fig.1 și fig. 2);
- timpul de debut al efectului (latența), efectul maxim, timpul efectului maxim, durata efectului;
- concentrația minimală eficace ( $C_{min}$  sau CME), concentrația maximală eficace ( $C_{max}$ ), concentrația medie eficace ( $C_{ss}$ ).

**Determinarea ariei de sub curbă (ASC).**

ASC reprezintă cantitatea totală de substanță medicamentoasă din organism și se calculează ca sumă a trapezelor trasate sub curbă, între doi timpi de dozare, succesivi (fig 3).



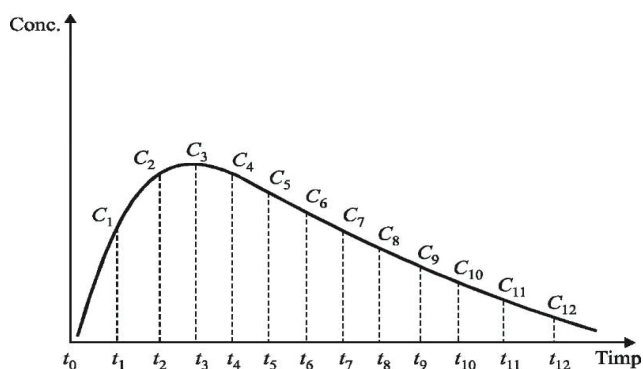


fig. 3

Din punct de vedere al metodologiei de determinare, există trei tipuri de biodisponibilitate:

- absolută;
- relativă;
- relativă optimală.

#### **Biodisponibilitatea absolută**

Biodisponibilitatea absolută corespunde cantității de substanță activă care ajunge la locul de acțiune, în biofază. Întrucât determinările în biofază sunt dificil de efectuat, biodisponibilitatea absolută se determină în plasmă, la nivelul circulației generale, arterială sau venoasă. În consecință, biodisponibilitatea absolută corespunde fracțiunii de substanță activă, din forma farmaceutică de soluție apoasă, care după administrare ajunge în circulația sanguină generală.

Calea intraarterială este calea de referință absolută, cu biodisponibilitate maximă întrucât, substanța activă fiind introdusă direct în sângele circulației generale arteriale, etapa absorbției și primul pasaj (intestinal, hepatic și pulmonar) sunt depășite.

Dar deoarece calea intraarterială este o cale de administrare foarte rar utilizată în clinică, în mod obișnuit, drept referință este luată calea intravenoasă.

Biodisponibilitatea absolută se determină când se cercetează biodisponibilitatea unei substanțe active noi. Se compară biodisponibilitatea acestei substanțe, administrate în soluție apoasă pe diferite căi, cu biodisponibilitatea pe cale intravenoasă sau intraarterială (considerate căi de referință). Testările se efectuează pe același individ.

#### **Exemple**

- Medicamente cu biodisponibilitate absolută foarte mare (90-100%) *per os*: litiu (antidepresiv), diazepam (tranchilizant), fenobarbital și fenitoina (antiepileptice), clonidina (antihipertensiv), sulfametoxazol (sulfamidă antimicrobiană), trimetoprim (chimioterapic antimicrobian), warfarina (anticoagulant), digitoxina (cardiotonic) (tabelul 1).
- Medicamente cu biodisponibilitate absolută redusă (25-50%) administrate *per os*: nifedipina și propranolol (antihipertensive), verapamil (antiaritmie), neostigmina (colinergic), oxacilina (antibiotic), morfina (analgezic).

Măsurile luate în caz de biodisponibilitate absolută este sub 75% ( $F < 0,75$ ) sunt:

- evitarea căii respective și alegerea altor căi; de ex. nitroglicerina și izoprenalina (sublingual), strofantina (intravenos), streptomina (intramuscular);
- administrarea pe aceeași cale, dar cu o doză ridicată, suficientă pentru atingerea concentrației sanguine eficiente terapeutic; de ex.: propranolol, nifedipina, oxacilina, neostigmina.

În cazurile în care,  $F < 0,75$  indică o biodisponibilitate deficitară pentru acea cale, se presupune fie o absorbție incompletă pe calea respectivă, fie o metabolizare a substanțelor active înainte de a ajunge în circulația generală (efectul primului pasaj).

În aceste cazuri este necesară o estimare detaliată a biodisponibilității absolute.

#### **Estimarea detaliată a biodisponibilității absolute**

Valoarea biodisponibilității absolute este determinată de două procese:

- absorbția, exprimată prin coeficientul de absorbție ( $f$ ),

**Tabelul 1. Medicamente cu biodisponibilitate absolută, per os, foarte mare ( $F > 90\%$ )**

Medicamente (exemple)	Clasa chimică	F(%)
1	2	3
Amoxicilina	Penicilină	93 ± 10
Cefalexina	Cefalosporină	90 ± 9
Clordiazepoxid	Benzodiazepină tranchilizantă	100
Clorpropamida	Sulfamidă hipoglicemiantă	> 90
Clonidina	Imidazol antihipertensiv	100
Diazepam	Benzodiazepină tranchilizantă	100
Digitoxina	Glicozizi cardiotonici	> 90
Indometacina	Acid carboxilic heterociclic (AINS)	98
Litiu	Cation timoreglator	100
Metronidazol	5 - nitroimidazol antiparazitar	99 ± 8
Fenobarbital	Barbituric anticonvulsiv	100 ± 11
Fenitoina	Hidantoină antiepileptică	98 ± 7
Acid salicilic	Salicilat antiinflamator	100
Sulfametoxazol	Sulfamidă sistemică antimicrobiană, semiretard	100
Sulfizoxazol	Sulfamidă sistemică antimicrobiană, cu eliminare rapidă	96 ± 14
Teofilina	Metilxantină antiastmatică	96 ± 8
Tolbutamid	Sulfamidă hipoglicemiantă	93 ± 10
Trimetoprim	Diaminopirimidină antimicrobiană	100
Acid valproic	<i>n</i> - dipropil acetic acid antiepileptic	100
Warfarina	Cumarină anticoagulantă	100

– primul pasaj, exprimat prin coeficientul de extracție (E).

Primul pasaj determină:

– fracțiunea de substanță activă extrasă la nivelul primului pasaj, de către un organ (intestin, ficat, plămâni), epurată prin metabolizare și sustrasă circulației generale, exprimată prin coeficientul de extracție al organului (E);

– fracțiunea de substanță activă nesupusă epurării, rămânând nemetabolizată (F’).

Considerând doza administrată unitară  $D = 1$ , atunci  $F' = 1 - E$ .

Rezultă următoarea relație ce exprimă biodisponibilitatea absolută:  $F = f(F') = f(1 - E)$ .

### Efectul primului pasaj (E)

Primul pasaj reprezintă procesul prin care substanța activă suferă o epurare (metabolizare), între momentul administrării și timpul la care ajunge în circulația generală.

Efectul primului pasaj este reprezentat de pierderea de substanță activă prin metabolizare la nivelul căii de administrare și diminuarea concentrației sanguine circulante și deci a efectului terapeutic.

Efectul primului pasaj se exprimă prin coeficientul de extracție al organului care extrage substanța activă și o metabolizează (E).

Nivelele primului pasaj:

- intestinal (I),
- hepatic (H),
- pulmonar (P).

Exemple de medicamente ce suferă un puternic efect la primul pasaj și nu pot fi administrate *per os*: hormonii polipeptidici (insulina, ACTH), hormonii steroizi sexuali (testosteron, progesteron), anestezice locale (procaina, lidocaina).

**Evaluarea primului pasaj în studiu clinic** se efectuează prin determinarea concentrațiilor sanguine și ariilor de sub curbă (ASC), pentru diferite căi de administrare comparativ cu calea intraarterială sau calea intravenoasă, la același individ și cu aceeași doză.

Calea intraarterială (i.a.) reprezintă calea de administrare de referință absolută pentru determinarea efectului primului pasaj întrucât, pe această cale, substanța activă este introdusă direct în circulația generală arterială și nu suferă nici un prim pasaj. Calea intraarterială însă este o cale de administrare foarte rar utilizată în clinică.

Calea intravenoasă (i.v.) impune primul pasaj pulmonar.

În experiment clinic se determină efectul global al primului pasaj, de exemplu pentru calea *per os*:

- suma  $E_I + E_{I'}$  când calea de referință este calea i.v.;
- suma  $E_I + E_H + E_P$  când calea de referință este calea i.a.

Formula de calcul, pentru calea *per os* (p.o.):

$$E = 1 - \frac{ASC_{p.o.} \cdot ASC_{p.o.}}{ASC_{i.v.} \cdot ASC_{i.v.}}$$

### Evaluarea primului pasaj în experiment animal.

În experiment animal, se poate determina detaliat efectul primului pasaj.

Coeficientul de extracție intestinal:

$$E_i = 1 - \frac{ASC_{p.o.} \cdot ASC_{p.o.}}{ASC_{i.v.} \cdot ASC_{i.v.}}$$

Coeficientul de extracție hepatic:

$$E_H = 1 - \frac{ASC_{p.o.} \cdot ASC_{p.o.}}{ASC_{i.v.} \cdot ASC_{i.v.}}$$

Coeficientul de extracție pulmonar:

$$E_p = 1 - \frac{(ASC_{p.o.})}{(ASC_{i.v.})}$$

### Coeficientul de absorbție (f)

Determinarea este posibilă prin utilizarea moleculelor marcate și se efectuează în general în experiment animal. Se măsoară în sânge sau plasmă radioactivitatea totală, aceasta corespunzând, deci, atât moleculelor de medicament, cât și moleculelor de metaboliți ai medicamentelor.

$$\text{Formula de calcul: } f = f' - \frac{ASC_{p.o.} \cdot ASC_{p.o.}}{ASC_{i.v.} \cdot ASC_{i.v.}}$$

unde:

$ASC_{p.o.}$  = aria de sub curba concentrațiilor sanguine sau plasmatiche, ale radioactivității totale, după administrare *per os*;

$ASC_{i.v.}$  (i.a.) = aria de sub curba concentrațiilor sanguine sau plasmatiche, ale radioactivității totale, după injectare i.v. sau i.a.

Prin această metodă se determină cu precizie coeficientul de absorbție (f) dacă, în urma posibilului efect al primului pasaj intestinal, metaboliții se absorb. În caz contrar, în valoarea lui f va fi inclus și efectul primului pasaj intestinal (E).

Medicamentele cu un coeficient de absorbție nesemnificativ, *per os*, nu pot fi administrate pe această cale, pentru efecte sistemice. Ex.: strofantina (cardiotonic), antibiotice aminoglicozidice (tip streptomycină), sulfamidele intestinale (ftalilsulfatiazol).

### Biodisponibilitatea relativă

Biodisponibilitatea relativă se exprimă prin:

- cantitatea de substanță activă dintr-un medicament, care după administrare ajunge în circulația generală;
- viteza cu care se realizează acest proces.

Biodisponibilitatea relativă se determină când cu substanța respectivă nu se poate prepara o soluție apoasă injectabilă pentru calea intravenoasă și, în consecință, nu se poate determina biodisponibilitatea absolută a substanței active. Evaluează comparativ două căi de administrare

diferite, două forme farmaceutice diferite sau formulări diferite, precum și un medicament nou comparativ cu medicamentul „leader” (primul introdus în terapie sau cel mai eficace cunoscut). Se exprimă procentual.

Formula biodisponibilității relative:  $B_{rel} = \frac{ASCT_{ASCT}}{ASCR_{ASCR}} \times 100$ ,

unde:  $ASCT = ASC$  a preparatului testat,  
 $ASCR = ASC$  a preparatului de referință.

Dacă dozele nu pot fi aceleași, se ajustează formula cu dozele respective.

Valoarea  $ASC$  exprimă întreaga cantitate de substanță absorbită, dar este independentă de viteza absorbției, pe care nu o reflectă. Din această cauză, pentru evaluarea biodisponibilității relative, nu este suficient să se compare  $ASC$ , pentru că este foarte posibil ca valorile celor două  $ASC$  să fie egale, dar nesuperpozabile, deoarece desfășurarea lor în timp nu este aceeași (fig. 4).

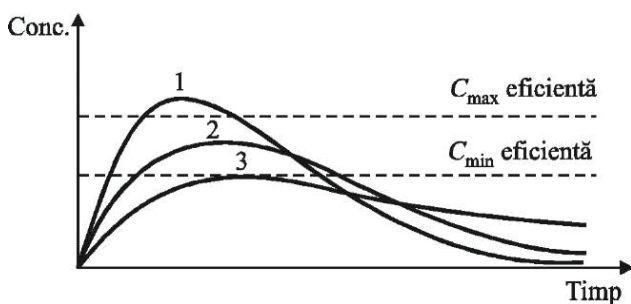


fig. 4

În consecință,  $B_{rel}$  se exprimă nu numai prin  $ASC$ , ci și prin viteza de absorbție, respectiv prin concentrația maximă, timpul pentru obținerea concentrației maxime sau timpul de debut al efectului, durata efectului, intensitatea efectului, concentrația minimală eficientă și concentrația maximală eficientă.

#### **Biodisponibilitatea relativă optimală**

Evaluează comparativ biodisponibilitatea a două forme farmaceutice, din care una este forma de referință cu biodisponibilitatea maximă. Deci, necesită determinarea biodisponibilității pentru fiecare formă farmaceutică și cunoașterea formei farmaceutice cu biodisponibilitatea optimă. Teoretic, se consideră că forma farmaceutică cu biodisponibilitatea maximă este soluția și, ca urmare, forma de referință utilizată este în general soluția apoasă (tabelul 2).

#### **Motivații (scopuri) pentru studiile de biodisponibilitate pot fi numeroase:**

- formularea unei substanțe active noi;
- modificarea dozei de substanță activă în produsul farmaceutic;
- schimbarea căii de administrare;
- o nouă formă farmaceutică;
- modificarea posologiei (doza administrată și ritmul

**Tabelul 2. Această ordine este relativă și poate să fie modificată, în funcție de substanța medicamentoasă și de substanțele auxiliare utilizate.**

Forme farmaceutice lichide	Forme farmaceutice solide
soluție apoasă emulsie U/A soluție uleioasă emulsie A/U suspensie apoasă suspensie uleioasă	pudră granule comprimate, gelule, capsule moi forme cu eliberare rapidă forme cu eliberare prelungită forme cu eliberare controlată

administrării);

- modificarea formulării medicamentului;
- studiul variabilității șarjelor de fabricație;
- studiul influenței factorilor fiziologici (vârstă, sex, alimentație);
- studiul influenței factorilor patologici (afecțiuni hepatice etc.);
- studiul influenței ritmurilor circadiene;
- studiul interacțiunilor între două sau mai multe substanțe active;
- evaluarea bioechivalenței a două forme farmaceutice de același tip sau diferite;
- studiu farmacocinetic;
- studiu farmacogenetic.

Fiecare dintre aceste motivații conduce la realizarea unui protocol de studiu special, adaptat scopului.

Stabilirea protocolului de determinare a biodisponibilității se face în funcție de scopul urmărit și ținând seama de reguli generale. Scopul se referă la tipul de biodisponibilitate ce urmează a fi determinat. Regulile generale se referă la: metodele de dozare a substanțelor active, alegerea subiecților, condițiile experimentale.

#### **Concluzii**

Metodele de dozare trebuie să fie foarte sensibile și specifice pentru substanța respectivă; subiecții să fie perfect sănătoși și cât mai apropiați ca rasă, sex, vârstă, greutate, activitatea pe care o desfășoară; posologia poate fi în doză unică sau în doze repetate; pentru referință, în funcție de scop se alege: cale i.v., soluția apoasă, sau medicamentul „leader”; frecvența și durata prelevării probelor și dozărilor se stabilesc în funcție de timpul de înjumătățire a substanțelor active în sânge ( $T_{1/2}$ ); alimentația indivizilor este în funcție de posologie (în doză unică, experimentul se face pe nemâncate; în doze repetate – alimentația este dată la aceleași intervale și la fel pentru toți indivizii). Studiul se face încrucișat și randomizat.

În studiul încrucișat fiecare individ primește toate preparatele cercetate, succesiv, cu pauze între preparate. Stabilirea timpului la care se face încrucișarea și ordinea în care se primesc preparatele se face pe bază de tabele speciale (de randomizare), diferite, în funcție de numărul preparatelor farmaceutice și  $T_{1/2}$ .

**Bibliografie**

1. Abdou, H. M., 1989, Dissolution, Bioavailability and Bioequivalence, Mack Publ. Co., Pennsylvania, 266-282. Biswal S, J.Sahoo, P.N.Murthy, 2009, Physicochemical Properties of Solid Dispersions of Gliclazide in Polivinylpyrrolidone K90, AAPS PharmSciTech, Vol. 10, No.2, 329-334.
  2. Adegbolagun, O. A., Osumah S. E. Comparative evaluation of the biopharmaceutical and chemical equivalence of some commercially available brands of ciprofloxacin hydrochloride tablets. Tropical journal of pharmaceutical research, 2007; 6(3): 737-745.
  3. Akinleye, M.O, Odulaja, J.O. Comparative Evaluation of Physicochemical Properties of Some commercially available Brands of Metformin Hcl tablets in Lagos, Nigeria. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2012; 2(2): 41-44.
  4. Al Ameri, M.N., Kumar, A., Perrett, D., Arthur Tucker, A., Johnston, A. (2012). The differences between the branded and generic medicines using solid dosage forms: In-vitro dissolution testing. Results in Pharma Sciences, 2012;2: 1-8.
  5. Ammar, H.O., H.A. Salama, M. Ghorab, A. Mahmoud, 2006, Formulation and Biological Evaluation of Glimepiride-Cyclodextrin-Polymer Systems, Int. J. Pharm. 309, 129-138.
  6. Augsburger, L. L. Pharmaceutical Dosage Forms – Tablets. Baltimor, Maryland, USA, Taylor and Francis, 2008.
  7. Dillen, K., Vandervoort, J. Factorial design, physicochemical characterization and activity of ciprofloxacin-PLGA nanoparticles. Int J Pharm, 2004; 275(1-2): 171-187.
  8. Dunne, S., Dunne, C., Walter Cullen, W. A review of the differences and similarities between generic drugs and their originator counterparts, including economic benefits associated with usage of generic medicines, using Ireland as a case study. BMC Pharmacology and Toxicology, 2013; 14(1): 1-19.
  9. Fusier I. T. C., Husson M.C. Medicines containing pharmaceutical excipients with known effects: a French review. Pharm World Sci PWS, 2003; 25(4): 152-155.
  10. Guidance for Industry: Immediate Release Solid oral Dosage Forms, Scale-Up and Post-Approval Changes: Chemistry, Manufacturing and Controls, In Vitro Dissolution Testing, and In Vivo Bioequivalence Documentation. Rockville, MD, USA, US Food and Drug Administration, 1995.
  11. Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. Rockville,MD, USA, US Food and Drug Administration, 1997.
  12. Kyriacos S. B. C., Saf, W., Mroueh, M., Bou Maroun, A., ElKhoury, G., Shehayeb, R. In Vitro Testing of Ciprofloxacin Formulations and Preliminary Study on BCS Biowaiver. Journal of food and drug analysis, 2009; 17(2): 78-84.
  13. Mandell, L., Tillotson, G. Safety of fluoroquinolones: An update. The Canadian Journal of Infectious Diseases, 2002; 13(1): 54-61.
  14. Meredith, P. Bioequivalence and other unresolved issues in generic drug substitution. Clin Ther, 2003; 25(11): 2875-2890.
  15. Mumoli, N. C. M., Luschi, R., Carmignani, G., Camaiti, A. Allergic reaction to Croscarmellose sodium used as excipient of a generic drug. QJM, 2011; 104(8): 709-710.
  16. Sweetman, S. C., (Ed), 2007, Martindale, The Complete Drug Reference, 35th Ed., Pharmaceutical Press, London, Chicago, 399-400.
  17. United States Pharmacopoeial Convention, 2007, The United States Pharmacopoeia 30th, US Pharmacopoeial Convention Inc., Rockville, 2226-2227.
-

## POLIMORFISMUL SUBSTANȚELOR MEDICAMENTOASE

## THE POLYMORPHISM OF MEDICINAL SUBSTANCES

<sup>1</sup>Tatiana Treapițina, <sup>1</sup>Tatiana Ștefanet, <sup>2</sup>Ecaterina Mazur, <sup>1</sup>Elena Donici<sup>1</sup>Catedra Chimie Farmaceutică și Toxicologică, IP USMF "Nicolae Testemițanu", Republica Moldova<sup>2</sup>Centrul Științific al Medicamentului, IP USMF "Nicolae Testemițanu", Republica Moldova

**Rezumat.** Este cunoscut faptul, că diferite condiții de obținere și cristalizare ale substanțelor determină deosebiri ale structurilor acestora în stare solidă. Actualmente o atenție deosebită se acordă fenomenului de polimorfism, care poate fi definit ca o capacitate a substanțelor cu aceeași compoziție chimică de a se cristaliza în diferite forme cristaline sau de a-și modifica structura cristalină la schimbarea condițiilor termodinamice. Importanța acestui aspect se amplifică în cazul substanțelor medicamentoase, modificările polimorfe ale cărora cauzează schimbări majore a biodisponibilității. Acest studiu prezintă o sinteză bibliografică dedicată istoriei polimorfismului, implică principalele caracteristici ale modificărilor polimorfe și ale procedeele de obținerea a acestora, precum și demonstrarea influenței modificărilor polimorfe asupra biodisponibilității.

**Cuvinte cheie:** polimorfism, biodisponibilitate, cristale.

**Abstract.** It is known, that different conditions of obtaining and crystallization of substances, determine the differences of their structures in a solid state.

Nowadays, a close attention is given to the phenomenon of polymorphism, which can be defined as the capacity of the substances with the same chemical composition to crystallize in different crystalline forms or to change the crystal structure by thermodynamic conditions.

This study presents a bibliographic summary of the history of polymorphism, that involves the main features of polymorphic modifications and methods of obtaining them, and to show influence on the bioavailability of polymorphic changes.

**Keywords:** polymorphism, bioavailability, crystal.

Standardizarea produselor farmaceutice este un proces dinamic. În contextul globalizării pieței farmaceutice una dintre principalele tendințe ale acestui proces este armonizarea cerințelor pentru a asigura calitatea, eficacitatea și siguranța medicamentelor [1].

În a doua jumătate a secolului 20, au fost efectuate mai multe studii de către chimiști, farmaciști și medici privind depistarea și cercetarea formelor polimorfe ale substanțelor medicamentoase, fiind demonstrat impactul acestora asupra activității biologice ale substanțelor. Aceste cercetări au contribuit la dezvoltarea unei direcții științifice noi în ramura farmaciei – biofarmacie [2]. În special, o mai mare atenție este acordată evaluării dimensiunii și formei particulelor, existenței unor modificări polimorfe ale substanțelor medicamentoase.

Este cunoscut faptul că biodisponibilitatea formelor medicamentoase, depinde în mare măsură de proprietățile fizico-chimice ale materiei prime. Metoda principală și cea mai accesibilă de obținere a formelor cristaline, inclusiv a principiilor active și a excipienților, este cristalizarea din soluții și din topituri. Anume la această etapă se formează proprietățile fizico-chimice de bază ale formelor cristaline (solubilitatea, mărimea și forma particulelor, densitatea, suprafață specifică, căldură specifică, temperatura de topire, etc.), care determină proprietățile farmacotehnologice și biofarmaceutice ale substanțelor [1,3].

În abordarea modernă a tehnologiei de obținere a medicamentelor în contextul polimorfismului, pe primul

plan apar nu factorii economici (costul, disponibilitatea de reactivi și altele), ci criteriile de eficacitate terapeutică ale substanțelor medicamentoase, care trebuie să corespundă standardelor chimice și biologice.

Importanța polimorfismului pentru practica farmaceutică modernă este foarte mare, deoarece de conținutul anumitor stări polimorfe a substanței active în forma farmaceutică depinde eficacitatea și stabilitatea acesteea. Trebuie de menționat, că în unele cazuri, aceste calități indispensabile ale unui medicament se exclud reciproc [4].

Fenomenul de polimorfism nu a fost luat în considerare, spre exemplu, în cazul preparatului *ritonavir*, care a fost pus în vânzare în anul 1994, de către compania Abbot Inc. Datorită indicației terapeutice a ritonavirului: pentru tratamentul infecției HIV, dar și publicității despre necesitatea asigurării împotriva deficienței imune, o cantitate mare de preparat a fost distribuită în toată lumea, însă numai după doi ani de existență pe piață, preparatul și-a pierdut activitatea terapeutică. Compania farmaceutică l-a lansat pe piață fără să-i verifice pe deplin proprietățile fizice și chimice, inclusiv tendința de transformări polimorfe. Astfel, a fost pusă în circulație o formă polimorfă metastabilă a ritonavirului, care în timp și-a pierdut proprietățile terapeutice, transformându-se într-o formă polimorfă stabilă. Pierderile companiei au ajuns pînă la 500 de milioane de dolari.

Mai mult timp polimorfismul substanțelor a fost considerat de către chimiști un fenomen bizar al naturii, rar întâlnit, care nu ar avea vreo influență în practică.





Figura 1. Mineralele de calcit (stînga) și aragonit (dreapta)

Pentru prima dată existența polimorfismului a fost observată în anul 1788 de către chimistul german M.H. Klaproth în cercetarea mineralelor de calcit și aragonit, care prezintă forme cristaline diferite a carbonatului de potasiu (figura 1), fără să-și dea seama la momentul importanța acestuia [5].

După 23 ani, în 1821, M.H. Klaproth, E. Mitscherlich au confirmat existența carbonatului de calciu în formă de minerale de calcit și aragonit prin publicarea cercetărilor efectuate. Acest fenomen a fost numit «dimorfism». Mai bine de 100 de ani, E. Mitscherlich a fost considerat în întreaga lume drept primul cercetător care a descoperit un fenomen fundamental ale naturii substanțelor – dimorfismul, înlocuit ulterior cu termenul de polimorfism. Pentru o lungă perioadă de timp o mare parte de chimiști considerau dimorfismul (polimorfism) un fenomen al naturii destul de rar întâlnit, care nu ar avea nici o influență în practică.

În 1890, academicianul V.I. Vernadsky pentru prima dată a precizat, fără îndoială că, polimorfismul substanțelor chimice, fiind o proprietate generală a materiei, este una dintre principiile de bază ale existenței sale. În anul 1841, referindu-se la formele diferite de existență ale elementelor chimice ca substanțe simple, chimistul suedez J. Berzelius a introdus termenul de „alotropie”, iar în 1912 V. Oswald a propus ca aceasta să fie considerată un caz particular al cristalelor. Aname alotropia a demonstrat importanța și valoarea practică a polimorfismului ca fenomen natural. Astfel, carbonul poate forma o mulțime de modificări, precum diamantul, grafitul, fulerenul, nanotuburi de carbon (CNT) etc. (figura 2) [6].

Potrivit celor mai recente date, chiar și apa poate exista sub formă de 3 modificări cristaline și 15 amorse.

În 1942 erau cunoscuți peste 1200 de compuși organici polimorfi. În prezent există mai mult de 10 000. Chimistul american W. Mc Crone spunea «Fiecare compus are diferite forme polimorfe și numărul modificărilor

detectate depinde de timp, dar și de posibilitățile cercetătorului».

Studiul polimorfismului compușilor organici biologici activi și, în special, a substanțelor medicamentoase, a început la sfârșitul anilor 30 a secolului trecut. În anul 1937 a fost descoperit polimorfismul sulfanilamidei. În 1941 au fost izolate și studiate modificările polimorfe ale sulfanilamidei cu ajutorul razelor X. Prima revizuire a aplicațiilor farmaceutice ale polimorfismului a fost publicată în 1969.

O importanță deosebită în cercetrea polimorfismului substanțelor medicamentoase în Republica Moldova a avut-o profesorul universitar F.V. Babilev, care, împreună

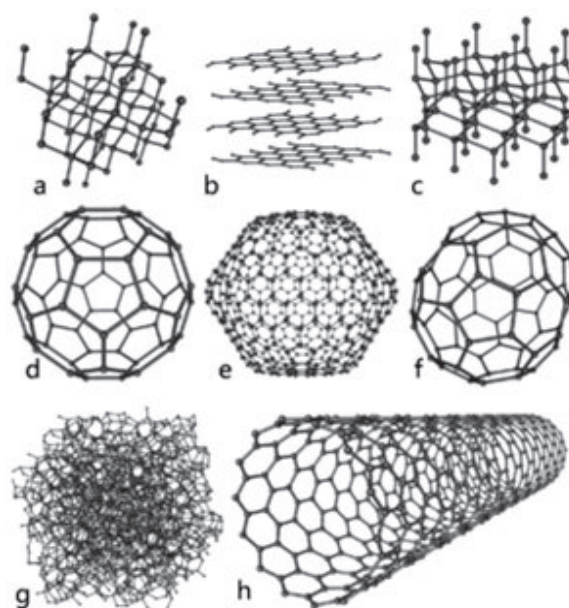


Figura 2. Diagrama formelor carbonului: a) diamant; b) grafit; c) lonsdaleit; d) fullerena – buckyballs  $C_{60}$ ; e) fulerenă  $C_{540}$ ; f) fulerenă  $C_{70}$ ; g) carbon amorf; h) CNT



cu cercetătorul I. Ya. Andronik, în 1981 au publicat monografia «Polimorfismul substanțelor medicamentose» (figura 3). Această monografie conține principiile teoretice de bază și aplicarea unor metode fizico-chimice pentru studierea polimorfismului în cristalele substanțelor medicamentoase, precum și efectul polimorfismului asupra stabilității, solubilității și biodisponibilității substanțelor medicamentoase [7].

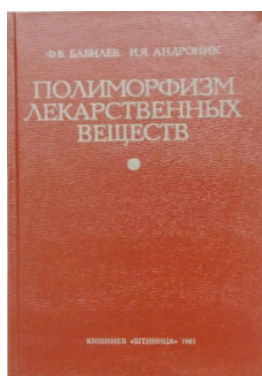


Figura 3. Monografia F.V. Babilev, I.Ya. Andronik “Polimorfismul substanțelor medicamentose”

*Corpuri cristaline și amorfe.* Se știe că o substanță în stare solidă are o formă bine definită, este rigidă și poate fi cristalină sau amorfă. Structura fazei solide devine însă elastică sub acțiunea unor forțe mecanice moderate.

De asemenea, se cunoaște faptul că toate substanțele în stare lichidă la răcire se solidifică. Excepție este doar heliul lichid, care chiar și la temperatura de 0 grade Kelvin, rămâne în stare lichidă. Însă, dacă este supus la o presiune mai mare de 25 atmosfere, la temperatura de 0 grade Kelvin se solidifică, formând o structură cristalină cubică. Se menționează însă faptul că pentru diferite substanțe trecerea de la starea lichidă la starea solidă este diferită [8].

Din punct de vedere a modului cum are loc solidificarea, se disting două tipuri: cristalină și amorfă. În timpul solidificării unei substanțe lichide într-o formă cristalină prin răcirea pînă la 0 grade, la o anumită tem-

peratură se începe formarea cristaliților care, pe măsură ce temperatura scade, numărul lor crește, ca urmare a adausului de atomi și molecule din faza lichidă. În final, cristallul va avea o rețea bine determinată. Starea amorfă se explică prin faptul că, pentru substanțe precum ceara și smoala există numai în starea amorfă de solidificare, datorită faptului că vîscozitatea acestora este destul de mare și crește o dată cu răcirea substanței. Alte substanțe, precum sticla, nu pot să se cristalizeze în rezultatul creșterii vîscozității, deoarece odată cu micșorarea temperaturii, particulele necesare pentru formarea cristalelor sunt împiedicate în deplasarea lor și substanțele se solidifică înainte de a se forma cristallul. Substanțele care se solidifică în forma cristalină posedă o temperatură bine determinată și constantă în procesul de cristallizare și topire numită temperatură de topire [9]. Există corpuri solide în care particulele componente se găsesc într-o stare mai puțin ordonată, sau chiar într-o stare de dezordine avansată. Starea amorfă (fără formă) apare datorită faptului că odată cu răcirea substanței crește puternic vîscozitatea ei, iar atomii și moleculele nu reușesc să formeze cristale (figura 4). Din această categorie fac parte sticla, rășinile, smoala, unele mase plastice etc. Substanțele amorfe sunt compuse din macromolecule sau macroioni, particule care nu se pot mișca ușor unele în raport cu altele. Sub influența temperaturii mărite, substanțele amorfe nu se topesc la temperaturi caracteristice, dar se înmoaie pînă ajung în starea lichidă într-un interval foarte mare de temperatură.

După cum a fost menționat mai sus, corpurile solide pot fi clasificate în două grupe:

- solide cristaline (solide perfecte);
- solide amorfe.

*Corpurile cristaline* (gr. *krystalos* = gheață) au formă geometrică definită, mărginită de suprafețe plane. Corpurile solide ideale sunt cristaline; acestea se caracterizează printr-un grad înalt de ordonare, grad care se extinde și asupra tuturor elementelor constitutive ale materiei: atomilor și moleculelor.

În cazul corpurilor solide “adevărate” (corpurile solide cristaline) nu se observă fenomenul de înmuiere la încălzire dar și acestea trec în stare lichidă în urma încălzirii lor. Această trecere din stare solidă în stare lichidă nu se face treptat, pe măsură ce temperatura crește, ci printr-un salt al temperaturii, la o valoare bine determinată, caracteristică substanței respective – numită temperatura de topire. Aceasta este una din caracteristicile principale care deosebesc între ele corpurile solide amorfe de cele “adevărate”.

O altă particularitate constă în existența unei structuri bine determinate a poziției atomilor sau a moleculelor. În corpurile solide, atomii sau alte particule nu sunt dispuși haotic, precum în cazul lichidelor sau gazelor, ci

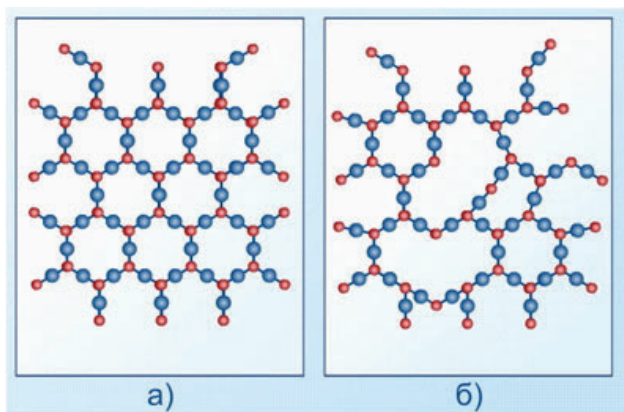
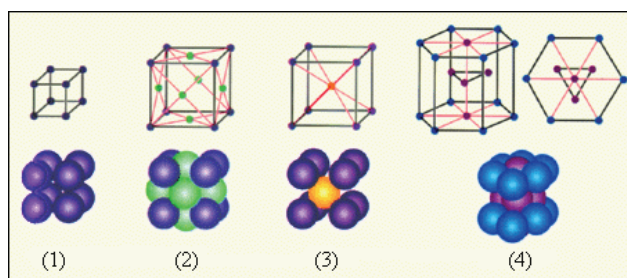


Figura 4. Grilele cristaline (a) și amorfe (b)

într-o anumită ordine, caracteristică pentru fiecare substanță în parte și este aceeași pentru întreg corpul solid (ordine la distanță).

Particulele care alcătuiesc solidul cristalin formează o structură, reprezentată de o *rețea tridimensională*, numită *rețea cristalină*, în care o unitate structurală (celula unitară sau celula elementară) se repetă, cu aceeași orientare în tot cristalul.

Din starea de ordonare a substanțelor solide cristalizate rezultă în toate cele trei direcții spațiale o periodicitate, adică structura cristalografică reprezintă o rețea tridimensională (figura 5).



**Figura 5.** Tipuri de rețele cristaline: 1 – rețea cubică simplă; 2 – rețea cubică cu fețe centrate; 3 – rețea cubică centrată pe corp; 4 – rețea hexagonală

În cadrul acestei structuri, particulele au o poziție fixă, în jurul căreia execută o mișcare de vibrație, amplitudinea ei fiind în funcție de temperatură.

Pozițiile fixe în jurul cărora oscilează particulele unui solid cristalin sunt numite *noduri* (puncte nodale) ale rețelei cristaline.

În corpurile amorfe dispunerea ordonată a particulelor este caracteristică numai pentru atomii vecini (ordine apropiată). Cauzele care duc la dispunerea ordonată a

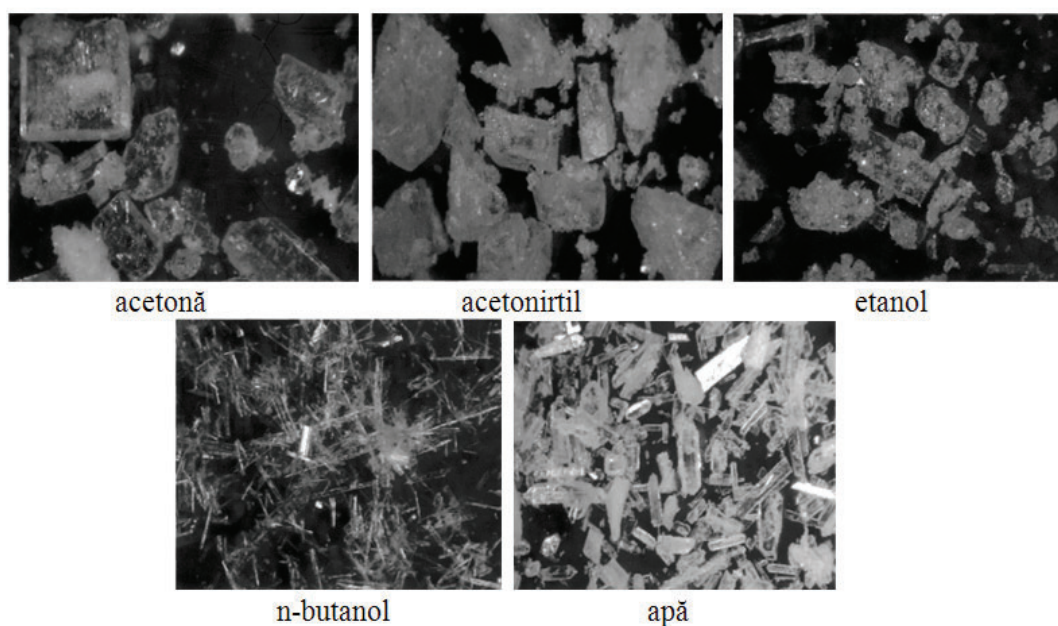
atomilor la formarea stării solide sunt forțele de interacțiune dintre atomi. Deoarece formarea cristalului la răcire are loc de la sine, atomii vor fi dispuși în cristal astfel încât energia lor potențială în câmpul forțelor de interacțiune să fie minimă, în caz contrar ei nu vor fi în echilibru.

*Obținerea formelor polimorfe.* Rămâne a fi actuală problema elaborării metodelor efective de obținere a formelor polimorfe ale substanțelor active, izomorfe și în prezent, fiind cunoscute următoarele metode: recristalizarea topiturilor, răcirea topiturilor, recristalizarea solventului, desolvatare, evaporarea rapidă, răcire rapidă, răcire lentă, difuzia vaporilor și sublimarea [10,11].

Una din cele mai eficiente și des întrebunțate metodă de obținere a formelor polimorfe ale substanțelor medicamentoase este metoda de cristalizare din soluții și topituri, care poate fi cu sau fără echilibru de fază.

Metoda de cristalizare cu echilibru de fază a soluțiilor este bazată pe evaporarea izotermică a solventului din soluție ce se găsește în echilibru cu cristalele forme polimorfe. Cristalizarea fără de echilibru de fază se efectuează în sisteme suprasaturate la cristalizarea rapidă polimerică, la schimbarea solventului, la uscare prin pulverizare sau prin sublimare.

La obținerea substanțelor prin recristalizare se deosebesc următoarele etape: apariția cristalelor, separarea germenilor de cristalizare din soluția suprasaturată și creșterea cristalelor. În etapa de creștere a cristalelor, viteza de creștere este determinată nu numai de numărul de germeni, ci și de adsorbția pe suprafața cristalelor a unor impurități din soluție. Prin adsorbția impurităților pe punctele active ale suprafeței cristalelor, creșterea ulterioară a acestora se diminuează, iar dimensiunile maxime se limitează.



**Figura 6.** Cristalele sulfanilamidei obținute din soluții suprasaturate prin metoda de răcire.



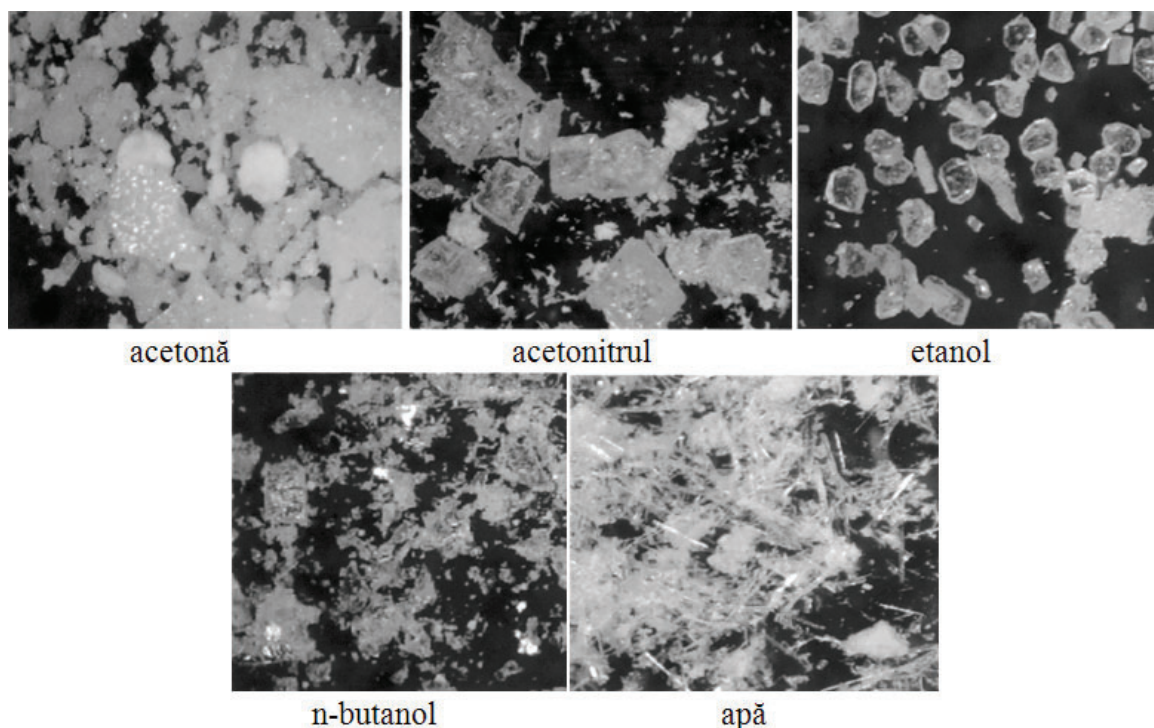


Figura 7. Cristalele sulfanilamidei obținute cu diferiți solvenți prin uscarea la 20°C.

Dimensiunile și forma cristalelor obținute prin cristalizarea soluțiilor și topiturilor depind de viteza de răcire și de diferența de temperatură dintre mediul de răcire și sistemul care se răcește. Cu cât acești doi factori sunt mai mari, cu atât cristalele sunt mai mici.

La realizarea proceselor de cristalizare, o importanță deosebită prezintă reglarea dimensiunilor și formei cristalelor, omogenitatea cristalelor, forma, compoziția și metoda de îndepărtare a impurităților.

Procesul de cristalizare poate fi îmbunătățit prin micșorarea temperaturii, prin mărirea suprafeței de cristalizare, prin agitarea soluției, prin frecarea pereților vasului cu o baghetă de sticlă, prin mărirea presiunii, prin aplicarea câmpurilor magnetice și electrice și prin însămânțare. De asemenea, viteza de cristalizare depinde de gradul de diluare a soluției și de natura solventului. Astfel, în figurile 6 și 7 sunt prezentate cristalele sulfanilamidei obținute prin diferite metode – răcirea soluțiilor suprasaturate și prin uscare la 20°C [12].

În prezent, cerințele Farmacopeei privind aprecierea calității formelor polimorfe nu sunt obligatorii, dar această proprietate nici decum nu trebuie să fie neglijată.

Identificarea și dozarea formelor polimorfe ale substanțelor medicamentoase, precum și datele despre rețelele cristaline sunt necesare la elaborarea fluxului tehnologic. Datele despre existența unor eventuale forme polimorfe ale substanțelor medicamentoase trebuie introduse în specificațiile de calitate, în special atunci

când acestea ar putea avea vre-o influență directă asupra cineticii de dizolvare, biodisponibilității, stabilității, uniformității dozării dar și asupra aspectului medicamentului. În conformitate cu cerințele Conferinței Internaționale pentru Armonizare (ICH), aceste specificații se prezintă obligatoriu la etapa de înregistrare a remediilor medicamentoase noi [13,14]. Formele polimorfe ale substanțelor medicamentoase, conform *ICH Guidance Q6A specification*, includ: formele cristaline diferite decât cea a substanței medicamentoase, produșii rezultați în urma solvării și hidratării substanțelor medicamentoase (solvații pseudopolimorfi), precum și formele amorfe existente.

În SUA, testările formelor polimorfe ale substanțelor medicamentoase noi, sunt introduse în cerințele FDA<sup>1</sup>. Farmacopeea SUA ediția 23, specifică existența formelor polimorfe ale indometacinei, etaminolului sodic, clorhidratului de tetracaină, plaquienilului etc. [2].

În Farmacopeea Europeană (EPH), ediția a 8-a, este introdusă monografia generală «Polimorfism», care oferă noțiuni generale, precum și prezentarea detaliată a metodelor de analiză ale formelor polimorfe. Dintre toate monografiile farmaceutice ale substanțelor medicamentoase introduse în EPh-8, cca 15% conțin date privind existența formelor polimorfe (piracetam, acetat de cortizon, prednizolon, clorhidrat de clorpromazină etc.) [15].

ICH recomandă următoarele metode de identificare și caracterizare a formelor polimorfe ale substanțelor medicamentoase: difracția de raze X – pentru determinarea structurii cristaline a substanței medicamentoase;

<sup>1</sup> US FDA – engl. Food and Drug Administration

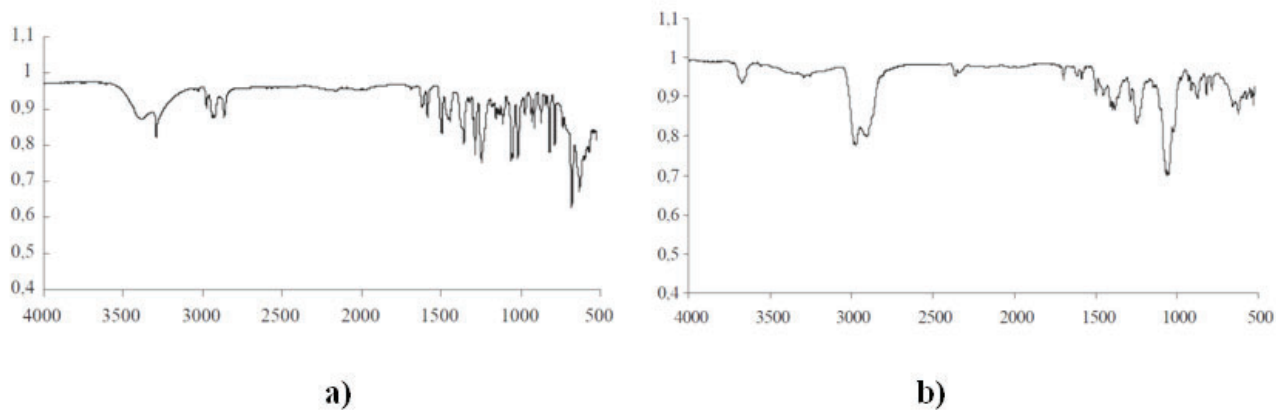


Figura 8. Spectrele IR: a) etinilestradiol, substanța inițială; b) etinilestradiol, substanța, obținută la recristalizarea din acetonă

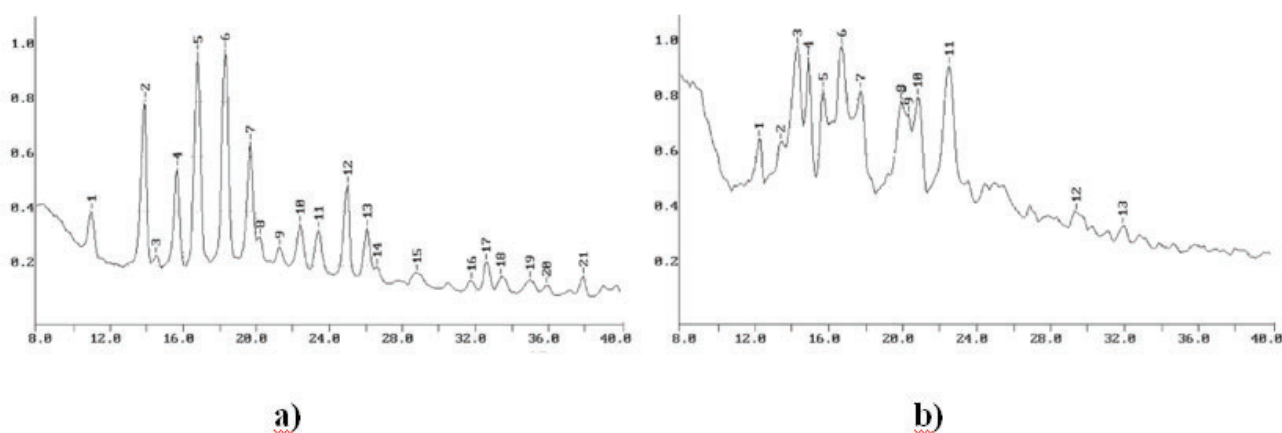


Figura 9. Difractograma cristalelor: a) etinilestradiol, substanța inițială; b) etinilestradiol, substanța, obținută la recristalizarea din acetonă

metodele spectrale – pentru caracterizarea modificărilor substanțelor medicamentoase în baza interacțiunilor intramoleculare; metodele termice – pentru determinarea cantitativă a tranzițiilor de fază; analiza microscopică electronică și optică – pentru studierea morfologiei cristalelor.

Cristalografia cu raze X se utilizează pentru determinarea poziției atomilor unei structuri cristaline. Esența metodei constă în aplicarea unui fascicul de raze X asupra cristalului studiat, iar în baza unghiurilor de difracție și a intensităților razelor dispersate se obține o imagine tridimensională a densității electronilor din interiorul cristalului. În baza valorilor obținute a densității de electroni pot fi determinate pozițiile atomilor în cristal, precum și legăturile chimice dintre ei [14].

Potrivit Confederației Internațională de analiză termică (International Confederation of Thermal Analysis) termenul de “Analiza termică” cuprinde mai multe tehnici, care au scopul de a înregistra schimbările fizice și chimice ale unei substanțe medicamentoase în funcție de temperatură. În cercetarea formelor polimorfe se aplică următoarele tehnici de analiză termică: Analiza termogravimetrică (TGA), Analiza termică diferențială (DTA),

Calorimetria diferențială de baleaj (DSC), Analiza Mecanică Dinamică (DMA) etc.

DTA este o tehnică în care se înregistrează variațiile de entalpie dintre substanța de analizat și o substanță de referință în procesul unei încălziri uniforme prin reglarea temperaturii.

DSC este o tehnică de măsurarea a energiei calorice care însoțește schimbările de fază ca urmare a unei variații de temperatură pentru o probă menținută la același regim de temperatură cu o probă de referință. Dacă calorimetrul cu probă trece printr-o stare de tranziție, procesul fiind endo-sau exoterm, acesta sau calorimetrul cu referință vor primi o energie echivalentă astfel încât să se mențină temperatura egală pentru ambele calorimetre: cel cu probă și cel cu referință. Deci rezultatele analizei reprezintă variația fluxului termic în timp sau raportat la variația temperaturii [16].

Spre exemplu, studiul formelor polimorfe ale etinilestradiolului denotă, că la recristalizarea substanței inițiale din soluția suprasaturată în acetonă la temperatura de 60°C se obține o formă polimorfă, confirmată prin spectroscopie IR și cristalografie cu raze X (figura 8, 9) [17].

Este necesară cunoașterea dependenței dintre struc-

tura chimică a substanței și condițiile de sinteză pentru a obține anumite forme polimorfe metastabile. Biodisponibilitatea acestora este mai mare decât a formelor polimorfe stabile. Modificările polimorfe ale substanțelor medicamentoase pot provoca: inactivarea rapidă a medicamentelor, modificarea proprietăților fizice ale formei farmaceutice, incompatibilitatea chimică a ingredientelor din forma farmaceutică. Polimorfii unor medicamente, utilizate pe scara largă în practica medicală, diferă semnificativ privind stabilitatea chimică, higroscopicitatea și compresibilitatea. În funcție de tipul legăturilor ce formează cristalul, condițiile de mediu, structura chimică, acestea se pot transforma în analogi mai puțin activi și stabili. De exemplu, substanțele anhidre ale cofeinei și teofilinei au viteză de dizolvare mai mare decât formele cristaline.

Din acest motiv, substanțele medicamentoase produse la diferite unități de producere sau chiar în cadrul aceleiași uzine, pot să difere după proprietățile fizice și chimice, fiind determinate de particularitățile tehnologice de producere a acestora, în special la etapa de cristalizare, dar și de apariția unor eventuale modificări polimorfe în timpul transportării și depozitării. Formele polimorfe rezultate prezintă un pericol, deoarece contribuie la modificarea proprietăților produsului finit [17,18].

De exemplu, moleculele de paracetamol sintetizat la diferite uzine, deși ar avea aceeași rețea cristalină, ar putea fi diferite după forma cristalelor: cubică, rombică etc. În procesul tehnologic, o presare mai bună vor prezenta cristalele cu forma cubică, ceea ce va duce la creșterea biodisponibilității produsului final. Acetatul de hidrocortizon poate exista sub cinci forme cristaline diferite, fiecare cu disponibilitate biologică proprie. Formele B și cea amorfă a palmitatului de cloramfenicol, care sunt hidrolizate rapid la nivelul intestinal de către enzimele

pancreatice, ar putea evolua progresiv în varietatea A cristalizată, care, deși este mai stabilă din punct de vedere fizico-chimic, este insensibilă la hidroliza enzimatică și neabsorbabilă. Se cunoaște că forma amorfă a novobiocinei este de 10 ori mai solubilă și mai bine absorbită decât novobiocina cristalizată. O suspensie apoasă de novobiocin ar putea trece lent în forma sa cristalină, fiind urmată de o scădere a biodisponibilității. Și alte substanțe precum acidul acetilsalicilic, barbituricele, corticoizii, sulfatazozolul, compușii steroizi etc. se întâlnesc sub două sau mai multe forme cristaline, fiecare cu viteză de dizolvare proprie diferită, deci și cu absorbție diferită [19,20].

### Concluzii

Rezultatele acestui studiu denotă, că odată cu dezvoltarea conceptelor despre atestă o influența majoră a polimorfismului asupra biodisponibilității substanțelor medicamentoase. Apariția formelor polimorfe ale substanțelor medicamentoase ar putea avea loc din mai multe motive: în urma schimbării solventului, introducerii substanțelor auxiliare în formele farmaceutice lichide sau moi, la uscare etc. Aplicarea pe scară largă a metodelor instrumentale pentru studierea formelor polimorfe diminuează substanțial impactul nedorit al consecințelor cauzate de fenomenul polimorfismului asupra comportamentului farmacocinetic al medicamentelor. Formele polimorfe ale aceluiași substanțe medicamentoase, diferă după stabilitate, solubilitate, mărime și formă a particulelor, densitate, suprafață specifică, căldură specifică, temperatura de topire, etc. – factori care determină proprietățile farmacotehnologice și biofarmaceutice ale medicamentelor. Este necesar de evidențiat faptul că apariția formelor polimorfe ale substanțelor medicamentoase poate avea loc atât la etapa de obținere, purificare și uscare, cât și în timpul depozitării.

### Bibliografie

1. Сеткина, С.Б.; Хишова, О.М. Биофармацевтические аспекты технологии лекарственных средств и пути модификации биодоступности. Биофармацевтические аспекты биодоступности. // Вестник ВГМУ. 2014. Том 13, № 4, С. 162-172.
2. Василькин, Д.А.; Поцелуева, Л.А.; Литвинов, И.А.; Губайдуллин, А.Т. Фармакотерапевтическая эффективность лекарственных веществ во взаимосвязи с их полиморфизмом как фармацевтическим фактором. Вестник Санкт-Петербургского университета. Вып. 1, 2010, с. 166-174.
3. Popa, L.; M. V.; Ghica, St. Moisescu. Biodisponibilitatea medicamentului, Ed. Printech, Bucuresti, 2013.
4. Bauer, John F, Polymorphism – A cristal consideration in pharmaceutical development, manufacturing, and stability / Journal of validation technology [Autumn 2008], P. 15-23.
5. Леонидов, Н.Б. История развития концепции полиморфизма химических веществ (краткий очерк) // Российский Химический Журнал. – 1997. – Том XLI, № 5. – с. 10–21.
6. Леонидов, Н.Б. Научный фундамент фармацевтики. Полиморфизм субстанций // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013, № 3.

7. Бабилев, Ф.В.; Андроник, И.Я. Полиморфизм лекарственных веществ. Под ред. чл.-кор. АМН СССР профессора А.И.Тенцовой. Кишинев, «Штиинца», 1981.
  8. Бернштейн, Дж. Полиморфизм молекулярных кристаллов / Дж. Бернштейн. – М.: Наука, 2007. 511 с.
  9. Dinu-Pirvu, C. E. – Metode de investigare in chimia fizica a medicamentului, Ed. Printech, Bucuresti, 2013.
  10. Гильдеева, Г.Н.; Гуранда, Д.Ф. Получение полиморфных модификаций лекарственных веществ. Химико-фармацевтический журнал. 2010, № 5, С.22-28.
  11. Шахтшнейдер, Т. П. Влияние механических воздействий на физико-химические свойства лекарственных веществ 02.00.04 – физическая химия Диссертация на соискание ученой степени доктора химических наук. Новосибирск – 2013.
  12. Ганичева, Л.М.; Вдовина, Г.П. Биофармацевтические аспекты разработки, производства и применения лекарственных средств. Вестник ВолгГМУ. Выпуск 3 (43). 2012. С. 3-9.
  13. ICH Guidance Q6A specification: Specifications of new drug substances and products: Chemical substances // Federal Register. – 2000.-Vol.65. – №251. – P.83041-83063.
  14. Popovici, I.; Lupuleasa, D. – Tehnologie farmaceutica, vol.1, editia a-III-a, Ed. Polirom, Iasi, colectia BIOS, 2011.
  15. European Pharmacopoeia 8.0.th Edition, Council of Europe, Strasbourg, 2014, vol. 1 – 1380, vol. 2 – 2133.
  16. Гильдеева, Г.Н.; Гуранда, Д.Ф. Анализ полиморфных модификаций лекарственных веществ // Фармация, 2009, № 7. – с. 52–54.
  17. Бусыгина, И. А.; Сливкин А. И. Исследование полиморфизма этинилэстрадиола. Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация, 2008, № 2. – с. 131–134.
  18. Snider, A. D. Polymorphism in generic drug product development / A. D. Snider, W. Addicks, W. Owens // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2004 Feb. – Vol. 56. N 3 – P. 391-395.
  19. Aulton, M. E. – Pharmaceuticals. The science of dosage form design, 2nd ed., Churchill Livingstone, Edinburgh, 2002.
  20. Dinu-Pirvu, C. E.; Arama, C. C.; Radu, C.; Uivarosi, V. // Preliminary preformulation studies for a new norfloxacin ruthenium (III) complex with biological activity. Farmacia, 61(2), 2013, P. 251-261.
-



# STUDIUL PLANTELOR MEDICINALE

## PLANTE MEDICINALE ȘI FITOPREPARATE UTILIZATE ÎN AFECȚIUNILE TRACTULUI GASTROINTESTINAL *MEDICINAL PLANTS AND PHYTOPREPARATIONS USED IN DISEASES OF GASTROINTESTINAL TRACT*

Maria Cojocaru-Toma, Anatolie Nisteanu, Anastasia Sulă

Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică, IP USMF " Nicolae Testemițanu ", Republica Moldova

**Rezumat.** Tractul gastrointestinal reprezintă ansamblul morfologic și funcțional de organe ce realizează digestia, absorbția alimentelor ingerate precum și evacuarea reziduurilor neasimilabile. Organele aparatului digestiv care sunt cele mai supuse afecțiunilor sunt cavitățile bucală, stomacul, intestinul subțire, intestinul gros sau colonul și rectul. Decesele cauzate de boli ale aparatului digestiv constituie 8,8% din totalul cauzelor de deces în Moldova, mai pronunțate fiind în zona centrală a republicii. Din flora R. Moldova, găsim o gamă largă de plante medicinale și fitopreparate care pot fi utilizate pentru tratarea disfuncțiilor digestive, prin acțiuni: antiinflamatoare, antidiareice, antihelmintice, tonice-amare, laxative, carminative, antiulceroase și antihemoroidale. Fitopreparatele utilizate în afecțiunile tractului gastrointestinal constituie 15,4 % din numărul total al produselor cuprinse în Nomenclatorul de Stat al Medicamentelor.

**Cuvinte cheie:** tract gastro-intestinal, patologii, acțiuni, plante medicinale, fitopreparate

**Abstract.** The gastro intestinal tract is a morphological and functional ensemble of organs which are responsible not only for the digestion and absorption of the ingested food, but also for the evacuation of unassimilable residues. The most affected organs of digestive tract are: the oral cavity, the stomach, the small intestine, the big intestine (or the colon) and the rectum. In the Republic of Moldova 8,87 of deaths are caused by the diseases of the digestive tract, most of them are localized in the central zone of the country. In the Republic of Moldova flora we can find a large range of medicinal plants and phytodrugs which can be used in order to treat the digestive disfunctions. They can serve as anti-inflammatory, antidiarrhoeal, anthelmintic, bitter tonic, laxatives, carminatives, antiulcer and anti-hemorrhoids. The phyto-drugs used in affections of gastro-intestinal tract represent 15,4 % of the total number of products included in State Drug Nomenclature.

**Keywords:** gastro intestinal tract, pathologies, activity, medicinal plants, phyto-drugs

### Introducere

Principală activitate a tractului gastrointestinal este transformarea alimentelor în nutrienți, care pot fi absorbiți de către organism pentru a produce energie, atât de necesară în fiecare zi. Tractul gastrointestinal este format dintr-un tub muscular care începe la nivelul cavității bucale și continuă cu faringele, esofagul, stomacul, intestinul, rectul și anusul. În sistemul digestiv sunt cuprinse și alte organe auxiliare pentru ca acesta să-și poată îndeplini activitățile zilnice, cum ar fi: glandele salivare, ficatul, pancreasul și vezica biliară. Digestia propriu zisă a alimentelor are loc în stomac și în intestinul subțire, unde proteinele, grăsimile și carbohidrații sunt transformate chimic în molecule, care sunt absorbite prin epitelul intestinului subțire și intră în circulația sanguină, iar intestinul gros joacă un rol important în reabsorbția excesului de apă. În cele din urmă, materiile nedigerate și reziduurile sunt transformate în materii fecale și sunt eliminate din organism. Afecțiunile organelor tractului digestiv pot apărea la orice persoană, indiferent de sex, vârstă sau clasă socială. Astăzi există numeroase remedii

naturiste pe care le putem studia și utiliza, înainte să apelăm la tratamentul alopatic.

### Materiale și metode

Pentru realizarea studiului au fost evaluate plantele medicinale după Farmacopeele de referință, cât și Nomenclatorul de Stat al Medicamentelor. După afecțiunile frecvent întâlnite ale aparatului digestiv, s-au selectat plantele medicinale și produsele vegetale utilizate în tratamentul acestora, după acțiunea antiinflamatoare, antivirală, antidiareică, antihelmintică, tonic-amară, laxativă, carminativă, regeneratoare, emolientă, antiseptică, antihemoroidală, hepatoprotectoare și antidiabetice.

### Rezultate și discuții

Conform datelor Biroului Național de Statistică al Republicii Moldova se constată, că în ultimii cinci ani se prezintă date constante, în ceea ce privește numărul de bolnavi cu patologii ale tractului gastro-intestinal. Astfel, în anul 2010 au fost înregistrați circa 331,7 mii bolnavi cu astfel de patologii; 2011-346.6 mii-cazuri; 2012-339,5

mii; respectiv în 2013 au fost înregistrați 329,6 cazuri; 2014-331,3 ca apoi în 2015 cu o ușoară creștere, să ajungă la 332,3 mii de bolnavi. Conform informației Centrului Național de Management în Sănătate al Ministerului Sănătății, structura mortalității pe clase ale cauzelor de deces practic nu s-a schimbat, fiind analogică anilor anteriori, cele mai multe decese (58,1%) au drept cauză bolile aparatului circulator, urmate de tumori (15,5%), bolile aparatului digestiv constituie (8,8%), urmate de accidente, intoxicațiile și traumele (7,5%) și maladiile aparatului respirator (4,5%). Mortalitatea generală pe cauze de deces diferă semnificativ și în profil teritorial. Decesele cauzate de boli ale aparatului digestiv cele mai pronunțate au fost în zona centrală a republicii, în raioanele: Rezina, Șoldănești, Telenești, Orhei, Hîncești, Nisporeni și Călărași deoarece în aceste regiuni apa și solul sunt de calitate mai proastă în comparație cu alte raioane, prin cantități mai mari de pesticide utilizate, produse de uz fitosanitar și nu în ultimul rând sunt multe gunoiști neautorizate [5;14].

În cazul unei afecțiuni gastrointestinale, activitățile tractului digestiv nu mai sunt îndeplinite corespunzător iar pacienții pot prezenta simptome precum: grețuri, stări de vomă, diaree, constipație sau ocluzie intestinală. Afecțiunile gastrointestinale sunt din cele mai frecvente și este imposibil ca o persoană să nu sufere de o asemenea afecțiune măcar o dată în viață, atunci când tractul gastrointestinal se poate menține sănătos cu 85% probiotice, sau floră de fermentație și 15% agenți patogeni, ce constituie flora de putrefacție. Deci, sănătatea colonului depinde de echilibru dintre aceste două tipuri de bacterii.

Din patologiele tractului gastrointestinal menționăm: stomatite, ce reprezintă leziuni ale mucoasei bucale, mici vezicule care se transformă în ulcerații și devin foarte dureroase sau jenante. Pentru aceste leziuni, cele mai bune remedii naturiste reprezintă infuzia de flori de mușețel (*Matricaria camomilla*), din frunze de salvie (*Salvia officinalis*), ceaiul de busuioc (*Ocimum basilicum*) și de petale de trandafir (*Rosa damascena*) [2].

*Gingivita* este o inflamație a gingiilor, care netratată, poate duce la pierderea dinților. Principala cauză a gingivitei este igiena orală precară, însă fumatul, diabetul, un sistem imunitar slăbit și o dietă săracă în nutrienți sunt la fel de periculoase pentru dantură. Persoanele cărora le sângerează gingiile ar trebui să facă gargară cu ceai de sunătoare (*Hypericum perforatum*) sau din flori de mușețel (*Matricaria camomilla*) timp de o săptămână [2].

*Herpesul* este o infecție virală, care este foarte neplăcută. Pentru a se elimina, este util usturoiul (*Allium sativum*) tocat pus pe herpes timp de 10 minute, cu repetări de 5-6 ori în următoarele 24 ore. Proprietăți antivirale manifestă și florile de tei (*Tilia cordata*) prin conținutul de ulei volatil (farnazol), cât și ghimbirul (*Zingiber officinale*) prin zingiberină și borneol [8].

*Ulcerul* reprezintă o boală a stomacului caracterizată prin apariția unei ulcerații la nivelul mucoasei. Această afecțiune se poate trata prin infuzia din amestec de flori de nalbă de pădure (*Malva sylvestris*), flori de mușețel (*Matricaria camomilla*) și flori de urzică albă moartă (*Lamiun album*) sau infuzie din frunze de pătlăgină (*Plantago major*) [12].

*Gastrita* este o inflamație a mucoasei stomacului, ce poate fi tratată cu ceai de flori de salcâm (*Robinia pseudacacia*), frunze de zmeur (*Rubus idaeus*), ceai de tătăneasă (*Symphytum officinale*) [13]. În caz de ulcer gastric, ulcer duodenal și în gastrite se utilizează infuzia de albumeală (*Gnaphalium uliginosum*), care se administrează în complex cu alte plante medicinale. În caz de ulcer stomacal cu aciditate mărită, poate fi administrat un cocktail vitaminizant, ce conține fructe de măcieș (*Rosa canina*), părți aeriene de talpa găștei (*Leonurus cardiaca*), rizom de obligeană (*Acorus calamus*), părți aeriene de albumeală (*Gnaphalium uliginosum*), părți aeriene de sunătoare (*Hypericum perforatum*), frunze de mentă (*Mentha piperita*), apă până la 1,5 litri. Aciditatea gastrică poate apărea în diferite afecțiuni ale stomacului, precum gastrite, ulcer, cancer stomacal, iar printre remediile pentru această afecțiune menționăm fructele de fenicul (*Foeniculum vulgare*), câte două înaintea fiecărei mese principale și ceaiul preparat din 25 g de semințe de fenicul (*Foeniculum vulgare*), 50 g de rădăcină de nalbă mare (*Althaeae officinalis*), 25 g de flori de nalbă de pădure (*Malva sylvestris*), 25 g frunze de roiniță (*Melissa officinalis*), 50 g de coada șoricelului (*Achillea millefolium*) [2;8;13].

*Enterocolita*, o patologie din ce în ce mai frecventă la copii, de natură infecțioasă, ce se poate trata cu fructe de mărar (*Anethum graveolens*), fenicul (*Foeniculum vulgare*), coriandru (*Coriandrum sativum*) sau cu un ceai din amestec de scoarță de crușin (*Frangula alnus*), frunze de nuc (*Juglans regia*), rădăcini de lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*), semințe de fenicul (*Foeniculum vulgare*) rădăcini de nalbă mare (*Althaeae officinalis*) și semințe de in (*Linum usitatissimum*), administrat în două prize [1;2].

*Balonările* reprezintă acumularea foarte mare de gaze în stomac și sunt însoțite de o senzație neplăcută și de flatulență. Pentru a trata senzația de balonare putem consuma ceai din flori de mușețel (*Matricaria camomilla*), frunze de salvie (*Salvia officinalis*) sau de coada șoricelului (*Achillea millefolium*). În aceste afecțiuni poate fi administrată și infuzia de mentă (*Mentha piperita*) sau de măghiran (*Origanum majorana*) [2;9].

*Helmintiazele*. Simptomele sunt diareea, crampele abdominale, greață, varsături, lipsa poftei de mâncare, flatulență și simptome generale intestinale. Un remediu se obține prin 10 părți semințe de in (*Linum usitatissimum*) cu o parte de cuișoare (*Eugenia caryophyllata*) măcinate. Pulberea poate fi utilizată în salate sau administrată câte 25 de grame în fiecare zi timp de o lună. Utilă în tratamentul teniazelor (tenifugă naturală), cât și altor

specii parazitare ca: *Ascaris*, *Ankylostoma*, *Botriocephalus*- este rădăcina de ferigă (*Dryopteris filix-mas*), prin componenții floroglucidici, unde activitatea antihelmintică crește odată cu gradul de condensare a nucleelor. Se administrează produsele din rădăcina de ferigă sub formă de extract eteric cu un conținut de 25% filicină brută, iar acțiunea antihelmintică poate fi potențată în amestec cu semințe de dovleac (*Cucurbita pepo*), vetrice (*Tanacetum vulgare*) sau pelin (*Artemisia absinthium*) [1;2].

*Constipația* este o afecțiune care apare la un număr din ce în ce mai mare de persoane prin stilul de viață alimentar nesănătos, consumului de produse fast-food și semipreparate, modului sedentar, stresul și chiar după o naștere naturală. Cele mai bune și eficiente remedii pentru constipație sunt scoarța de crușin (*Frangula alnus*) ceaiul de flori de nalbă mare (*Althaeae officinalis*), volbură (*Convolvulus arvensis*), sau flori de soc (*Sambucus nigra*), sau dimineața se administrează un pahar cu apă în care s-au înmuiat cu o seară înainte patru sau cinci prune uscate (*Prunus domestica*) [15].

*Hepatita* este o boală infecțioasă a ficatului, de natură virală sau non- virală, care constă în distrugerea celulelor hepatice. Printre remediile naturiste în tratarea hepatitelor putem puncta: armurariu (*Silybum marianum*), ce stimulează refacerea și întărește membrana hepatocitului, prevenind pătrunderea toxinelor, prin prezența silibininei și silimarinei. Anghinara (*Cynarascolumus*) posedă proprietăți remarcabile antioxidante, iar efectul se manifestă prin stimularea contracțiilor vezicii biliare, prin cinarină. Siminocul (*Helichrysum arenarium*) mărește secreția de bilă, modificând și compoziția acesteia, micșorează nivelul bilirubinei, prin helihrizina A și B, cvercitol, kamferol [2;3;8].

În *pancreatită* (inflamația pancreasului) medicina naturistă recomandă: infuzie din anason (*Anisum vulgare*), fracționată în trei reprize, înainte de mese; infuzie din sânziene (*Galium verum*) ce se administrează de trei ori în zi. În diabet, disfuncția pancreasului, se recomandă:

dudul (*Morus alba*) acționează în toate formele de diabet, reducând glicemia, prin taninuri, acid aspartic, arginină, și l- deoxinojirimicină, principiu activ, similar insulinei. Dintre terapiile alternative antidiabetice menționăm și afinul (*Vaccinium myrtillus*), prin compușii fenolici (glucichinina), brusturele (*Arctium lappa*), prin proprietăți detoxifiante, prin taninuri și lignane. Fasolea (*Fasoleus vulgaris*) este valoroasă prin arginină, fibre, iar tecile sale intră în componența speciilor antidiabetice [6;7;9].

*Hemoroizii* apar ca urmare a vieții sedentare și constipației sau chiar după nașterea naturală. Hemoroizii pot da o stare generală destul de proastă datorită iritației pe care o produc. Pentru calmarea durerilor produse de hemoroizi se recomandă consumul de mur (*Morus alba*), mușețel (*Matricaria chamomilla*) sau coada șoricelului (*Achillea millefolium*) zilnic, iar pentru vindecarea hemoroizilor, pe plan extern, se fac spălături zilnice cu ceai de frunze de nalbă (*Malva sylvestris*), tătăneasă (*Symphytum officinale*) sau mușețel (*Matricaria chamomilla*) [1;8].

În contextul celor menționate, fitoterapia are o lungă tradiție în tratarea tulburărilor gastro-intestinale, iar plantele medicinale din flora R. Moldova au fost selectate după acțiunile manifestate. Din șirul plantelor cu acțiune antiinflamatoare, menționăm mușețelul, albumeala, traista – ciobanului, păpădia. Prin antivirale se manifestă usturoiul, teiul și gimbirul. Acțiune laxativă manifestă planta de aloe, crușinul și ricinul. Remarcabile proprietăți carminative manifestă mărarul, feniculul, coriandru. Studiile remarcă proprietăți regeneratoare pentru uleiul de cătină, sunătoare, inclusiv pentru varza albă în ulcere. Inul și pătlagina- mare manifestă proprietăți emoliente. Din șirul antihelminticelor menționăm vetricea, pelinul, coada-șoricelului, feriga și semințele de dovleac. Produsele vegetale cu conținut de uleiuri volatile sunt în mare parte antiseptice, inclusiv salvia, ienupărul, cimbru, cimrișorul, obligeana, cât și cuișoarele. Din specii hepatoprotectoare punctăm: armurariul, anginara, siminocul.

Tabelul 1.

## Plante medicinale și principii active utilizate în afecțiunile tractului gastrointestinal

Denumirea plantei în română	Denumirea plantei în latină	Principii active	Forme farmaceutice
<i>Plante medicinale antiinflamatoare</i>			
mușețel	<i>Matricaria chamomilla</i> L.	uleiuri volatile (chamazulena), pro-chamazulene (matricină și matricarină)	Flori de mușețel, produs vegetal; Ceai hepatic; Arfasetin, specie medicinală antidiabetică; Specie coleretică Nr. 1; Specie gastrointestinală; Rotocan; Romazulan; Kamillosan; Enterokind; Kindinorm; Dentokind; Detoxiphyt; Gastrophyt
albumeală	<i>Gnaphalium uliginosum</i> L.	flavonoide (gnafalozidele A,B) vit.C, B1, K, gnafalină	Eextract uleios; Gnaphalii uliginosi herb; Guna Diur-IC
traista- ciobanului	<i>Capsella bursa-pastoris</i> L.	taninuri, colină, histamină, acetilcolină, provitamina A	Traista ciobanului, produs vegetal; Tinctură de traista ciobanului; Menstrofit cu vitex; Normoponderol; <i>Capsella bursa pastoris</i> TM;

păpădia	Taraxacum officinalis L.	triterpene (taraxerol, taraxol) taraxacină, inulină	<i>Taraxaci radices</i> , produs vegetal; <i>Detoxiphyt</i> ; <i>Hepatophyt</i> ; <i>Normoponderol</i>
<b>Plante medicinale laxative</b>			
aloe	Aloe arborescens Mill.	antraglicozide (aloină, emodină)	Balsam amar suedez <i>dr.Theiss</i> ; <i>extract fluid de Aloe</i>
crușin	<i>Rhamnus frangula L.</i>	derivații antracenului (frangularizida, frangula-emodol) acid crizofanic	<i>Scoarță de Crușin</i> , produs vegetal; <i>Sirop de Crușin</i> ; <i>Ephiplant</i> ; <i>Carbocif</i> ; <i>Cortelax</i> ; <i>Normoponderol</i> ; <i>Dr Theiss</i> ; <i>Nova figura</i> ; <i>Specie antihemoroidală</i> ; <i>Specie antihelmintică</i> ; <i>Ceai Favibil</i> ; <i>Ceai pentru slăbit</i> ; <i>Depuraflux</i> ; <i>Vicalin</i> ; <i>Ceai laxativ Nr. 2</i>
<b>Plante medicinale carminative</b>			
mărar	Anethum graveolens L.	cumarine (bergaptenă, scopoletină, umbeliferonă) ulei volatil (limonen, carvonă)	<i>Anethi graveolens fructus</i> , produs vegetal; <i>Specie gastrointestinală</i> ; „ <i>Trejos devynerios</i> ”; <i>Specie antihemoroidală</i> ; <i>Vigor</i>
coriandru	<i>Coriandrum sativum L.</i>	ulei volatil (citral, linalool, geraniol) aldehida decilenică	<i>Ceai fructe de coriandru</i> , produs vegetal; <i>Ceai gastric</i> ; <i>Carminativum Babynos ColicDrops</i> ; <i>Depuraflux</i> ; <i>Specie coleretică N1</i> ; <i>Tinctura Amara</i>
anason	Anisum vulgare Gaertn. ( <i>Pimpinella anisum L.</i> )	ulei volatile (anetolul cca 90%, aldehida anisică, alcoolul anisic)	<i>Gastroedol</i> ; <i>Gastroedol Plus</i> ; <i>Carbocif</i> ; <i>Depuraflux</i> ; <i>Guna digest</i> ; <i>Ceai natural</i> ; <i>Digestie ușoară</i> ; <i>Dr. Theiss Ulei de anason</i>
fenicul	Foeniculum vulgare Mill.	anetol, estragol, aldehida anisică, 1,8-cineol, pinen, limonen, camfen, fenhonă	<i>Fructe de fenicul</i> , produs vegetal; <i>Carminativum Babynos</i> ; <i>Altalex</i> ; <i>Depuraflux</i> ; <i>Normoponderol</i>
<b>Plante medicinale regeneratoare</b>			
sunătoare	<i>Hypericum perforatum L.</i>	hipericina, hiperozida, rutozida, quercetol, cineol	Părți aeriene de sunătoare; <i>Arfasetin</i> ; <i>Detoxiphyt</i> ; <i>Gastrophyt</i> ; <i>Specie stomahică</i> ; <i>Guna Addict 2</i>
cătina	<i>Hippophae rhamnoides L.</i>	Vitamine (C, E, Gr.B, P) taninuri, cumarine, fitoncide	<i>Armon</i> ; <i>Catină</i> ; <i>Olasol</i> ; <i>Ulei de catină</i> ; <i>Adenolin</i>
<b>Plante medicinale emoliente</b>			
in	<i>Linum usitatissimum L.</i>	mucilagi, ulei gras, albumine, linamarozida	Semințe de in; <i>Ceai Detoxi Plus</i>
pătlagina mare	<i>Plantago major L.</i>	mucilagi neuzuronic, constituite, în mare parte, din xiloză, vitaminele A, C, K, o heterozida amară-aucubozida, taninuri	<i>Frunze de Pătlagină</i> , produs vegetal; <i>Plantagucid</i> ; <i>Suc de pătlagină</i> ; <i>Mucofalk Apple</i> ; <i>Mucofalk Orange</i> ; <i>Specie stomahică N1</i>
<b>Plante medicinale antihelmintice</b>			
vetricea	<i>Tanacetum vulgare L.</i>	acizi organici, ulei volatile (tuionă), tanacetină, vit.C	<i>Flori de vetrice</i> , produs vegetal; <i>Specie antihelmintică</i> ; <i>Specie coleretică Nr. 1</i>
dovleac	<i>Cucurbita pepo L.</i>	ulei gras, acizi omega-6, coenzima Q, lecitină, steroli, cucurbitina	<i>Specie antihelmintica</i> ; <i>Dovisan</i> ; <i>Doresan</i> ; <i>Peponen</i>
feriga	<i>Dryopteris filix-mas L.</i>	floroglucide, acid filicinic, filicina	<i>Specie antihelmintica</i> ; <i>Extract Filicis maris rhizomata</i> ; <i>Suspensie (Filicis maris rhizomata: Cucurbitae pepo semina)</i>
coada-șoricelului	<i>Achillea millefolium L.</i>	camazulenă, camfor, tuionă, borneol, cineol, achilina, millefină	<i>Infuzie</i> ; <i>extract lichid</i> , <i>Detoxiphyt</i> ; <i>Gastrophyt</i> ; <i>New Woman</i>

<b>Plante medicinale antiseptice</b>			
salvia	<i>Salvia officinalis</i> L.	ulei volatil (cineol, tuionă, tuiol, sabinol,	<i>Infuzie; Frunze de salvie; Pulbere din extract de salvie; Ceai antibalonare cu topinambur; Dr. Theiss Extract de salvie cu vitamina C; Extract de salvie; Specie Aeolecasolum</i>
cuișoare	<i>Eugenia caryophyllata</i> L.	acizi grași, omega-3, eugenol	Ulei de cuișoare; pulbere; Luteină
obligeană	<i>Acorus calamus</i> L.	ulei volatil, azaronă, aldehida azarilică, o heterozida amară –acorina, vit C	<i>Rizomi de obligeană, produs vegetal fragmentat; Vicair; Vicalin; Specie gastrointestinal; Tinctura Amara; Gastrophyt; Detoxiherba</i>
<b>Plante medicinale tonic-amare</b>			
giņtura	<i>Gentiana lutea</i> L.	substanțe amare, iod, oligoza-haride, acizi fenolici, taninuri, lupeol	<i>Aflubin; Violet de Gențiană; Tinctură Gențiană; Gențiană rădacină; Extract hidroalcoolic de gențiană</i>
pelin	<i>Artemisia absinthium</i> L.	absintina, anabsintina, capilina, vitamine A,B,C,H	<i>Infuzie; macerat; pulbere; ulei; Extract „Trejos devynerios”; Gastrophyt; Picături gastrice; Specie antihelmintice; Vigor</i>
<b>Plante medicinale antivirale</b>			
usturoi	<i>Allium sativum</i> L.	compuși sulfuroși, aliina, allicina, dialildisulfoxid	<i>Alixina N-250; Allithera; Allochol; Garlic Oil; Kolez</i>
tei	<i>Tilia cordata</i> Mill.	ulei volatil (farnesol) hesperidină, glicozida tiliacina	<i>Flori de tei, produs vegetal; Vigor; Ceai multivitamin</i>
ghimbir	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	zingiberină, bisabolen, borneol, farnesen, gingerol	<i>Pulbere; tinctură; picături orexigene; preparate tonizante</i>
<b>Plante medicinale antihemoroidale</b>			
urzică	<i>Urtica dioica</i> L.	vitamina C, K, B1, B2, carotenoide, acid pantotenic, clorofilă, acizi organici	<i>Frunze de urzică, produs vegetal; Specie antihemoroidală; Specie antidiabetică; Ceai E antidiareic Fares; Antitox; Allochol; Fat-Slim; Hepatophyt; Gastrophyt</i>
călinul	<i>Viburnum opulus</i> L.	lagochilină, flavonoide, taninuri, acid ascorbic	<i>Viburnum opulus, extract fluid</i>
tătăneasă	<i>Symphytum officinale</i> L.	alantoină, poliholozide	<i>Dr. Theiss; unguent cu tătăneasă; Hepathrombin; Guna Oral Spray; Traumeel S; Galium-Heel</i>
<b>Plante medicinale hepatoprotectoare</b>			
armurariu	<i>Sylibum marianum</i> L.	flavonoide, flavonolignane, silibină, silicristină, alcaloizi	<i>Hepatophyt; Silimarină; Silibinum; Silimarin-forte; Silarsil; Carsil; Hepaticum; Hepatoprotect; Hepatovit; Hepcarsil; Legalon-70; Lagosa; Octoliv</i>
siminoc	<i>Helichrysum arenarium</i> L.	substanțe amare, flavone, ulei volatil	<i>Flamin; Flamin- Zdorovie; Specie colagogă nr.2; Gastrophyt; Hepatophyt</i>
anghinare	<i>Cynara scolymus</i> L.	compuși polifenolici, cinarină, oxidaze, polifenoli, flavone, vitaminele A, B, C	<i>Tinctură de anghinară; Silymarin; MagAnghinar cu săruri organice de magneziu; Chophytol; Hepatoclean</i>



### **Concluzii**

1. Patologiile tractului gastrointestinal constituie 8,8% din topul cauzelor de deces din Republica Moldova, ocupând locul trei după bolile circulatorii și tumori.

2. Raioanele din zona centrală a R. Moldova sunt cele mai afectate prin patologiiile tractului gastro intestinal, corelat cu conținutul mai înalt de pesticide, calitatea apei și solului.

3. În tratamentul patologiilor tractului gastrointestinal sunt utilizate plante medicinale cu acțiuni: tonice-amare, laxative, antiinflamatoare, antidiareice, antihelmintice, carminative, antiulceroase, antihemoroidale, hepatoprotectoare și antidiabetice.

4. Cota fitopreparatelor utilizate în afecțiunile tractului gastrointestinal constituie 15,4 % din numărul total al produselor după Nomenclatorul de Stat al Medicamentelor.

---

### **Bibliografie**

1. Gonciar V., Cazacu V., Dumbrava V. Farmaco- și fitoterapia în gastroenterologie, Chișinău, CEP Medicina, 2006, 183p
  2. Gonciar V., Obrijanu D., Nistreanu A. Elemente de fitofarmacologie, Chișinău: S.n.2012, 248p
  3. Grigorescu O. Pascu –Vol I-Tratat de gastroenterologie clinică, 1996, 814p
  4. Stanciu C.- Actualități în gastroenterologie și hepatologie, Junimea 2011, 188p
  5. <http://www.statistica.md/category.php?l=ro&idc=198&>
  6. Nita M. Diabetul și plantele medicinale din tezaurul etnobotanic românesc, Ed. Aius, 2014, p54-63
  7. Cojocaru-Toma M., Ancuceanu R., Calalb T., Dinu M., ș.a. Produse vegetale și fitopreparate cu acțiune hipoglicemiantă, Buletinul Academiei de Științe a Moldovei, 1(46), Chișinău 2015
  8. Bojar O., Popescu O., Fitoterapie tradițională și modernă, Ed. Fiat Lux, 2005, p.177-178
  9. Craciun F., Alexan M., Ghidul plantelor medicinale uzuale, Ed. Științifică, București 1992, p.114-168
  10. www.amed.md, Agenția medicamentelor și Dispozitivelor Medicale Republica Moldova. Nomenclatorul de Stat al Medicamentelor Republicii Moldova, disponibile la 16.01.2015.
  11. [http://www.realitatea.net/tratamente-naturiste-pentru-herpes\\_1690978.html](http://www.realitatea.net/tratamente-naturiste-pentru-herpes_1690978.html)
  12. <http://sanatate.bzi.ro/ulcerul-gastro-duodenal-10-remedii-naturiste-55835>
  13. <http://calivita.bio-sanatate.com/Remedii-naturale/tratamente-naturiste-gastrita-hiperacida>
  14. [http://ms.gov.md/sites/default/files/rapoarte/raport\\_anual\\_in\\_sanatate\\_-\\_2010.pdf](http://ms.gov.md/sites/default/files/rapoarte/raport_anual_in_sanatate_-_2010.pdf)
  15. <http://www.csid.ro/health/medicina-alternativa/ai-probleme-cu-constipatia-iata-cateva-remedii-laxative-naturale-11720926>.
-

**ACȚIUNEA ANTIBACTERIANĂ ȘI ANTIFUNGICĂ A ULEIULUI VOLATIL DIN  
HYPERICUM PERFORATUM L. DIN FLORA REPUBLICII MOLDOVA**

**THE ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTION OF ESSENTIAL OIL FROM  
HYPERICUM PERFORATUM L. FROM THE FLORA OF REPUBLIC OF MOLDOVA**

<sup>1</sup>Anna Benea, <sup>2</sup>Viorel Prisacari, <sup>2</sup>Anna Dizdari, <sup>1</sup>Tatiana Chiru

<sup>1</sup>Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică, IP USMF "Nicolae Testemițanu", Republica Moldova

<sup>2</sup>Laboratorul științific „Infecții intraspitalicești”, IP USMF "Nicolae Testemițanu", Republica Moldova

**Rezumat.** Uleiul volatil din părțile aeriene de *Hypericum perforatum* L. a fost obținut prin metoda de hidrodistilare. Activitatea antimicrobiană a uleiului volatil a fost studiată pe bacterii (grampozitive, gramnegative) și fungi.

**Cuvinte cheie:** ulei volatil, acțiune antibacteriană, antifungică, *H. perforatum* L.

**Abstract.** The volatile oil of aerial parts of *H. perforatum* L. was obtained using hydrodistillation. The antimicrobial activity of the volatile oil was tested against gram-positive and gram-negative bacteria and fungi.

**Keywords:** essential oil, antibacterial and antifungal action, *H. perforatum* L.

### Introducere

În lume sunt răspândite cca 460 de specii din genul *Hypericum*, inclusiv 5 în flora Republicii Moldova: *H. perforatum* L., *H. elegans* Steph., *H. hirsutum* L., *H. tetrapterum* Fries. și *H. montanum* L. Reprezentanții genului *Hypericum* au proprietăți: antivirale, cicatrizante, antioxidante, citotoxice, antimicrobiane, antifungice, anxiolitice și anticonvulsive. Aceste acțiuni se datorează conținutului diferitor grupe de substanțe biologice active: floroglucinoși (hipericina), naftodiantrone (hiperforina), flavonoide, taninuri, xantone [1,7,8,9]. Specia *H. perforatum* L. este cea mai studiată din punct de vedere chimic și biologic.

Cercetarea activității biologice a uleiului volatil din speciile de *Hypericum* L. a fost dedicată, în special, proprietăților antibacteriene și antifungice. Uleiul volatil din părțile aeriene ale speciei *H. perforatum* L. posedă acțiunea antibacteriană față de următoarele organisme patogene: *Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas tolaasii*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Sarcina lutea*. La fel a fost demonstrată acțiunea antifungică a uleiului volatil din părțile aeriene de *H. perforatum* L. față de *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium fungiculosum*, *Trichoderma viride* [2,6].

Uleiul volatil obținut din specia *H. maculatum* Granz. din flora Serbiei, a arătat o puternică acțiune împotriva spectrului larg de microorganisme (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea*) și fungi (*Aspergillus niger*, *Candida albicans*) [1].

Filippo Maggi și colab. au studiat acțiunea antimicrobiană a uleiului volatil din șase specii de *Hypericum* (*H. perforatum* subsp. *perforatum*, *H. perforatum* subsp.

*veronense*, *H. calycinum*, *H. montanum*, *H. richeri* subsp. *richeri*, *H. hyssopifolium*, *H. hirsutum*, *H. hircinum* subsp. *majus*, și *H. tetrapterum*), răspândite în Italia Centrală. În urma studiului, a fost stabilite concentrațiile minime de inhibiție. Bacteria gram-pozitivă *Bacillus subtilis*, a fost inhibată de toate uleiurile testate, pe când *S. aureus* a fost mai mult inhibat de uleiul din *H. hirsutum* urmat de *H. richeri* subsp. *Richer* și *H. tetrapterum*. A fost demonstrată activitatea antimicrobiană a uleiului volatil din aceste trei specii este mai mare comparativ cu activitatea uleiului din *H. perforatum* subsp. *veronense* and *H. perforatum* subsp. *perforatum* [3].

Speciile genului *Hypericum* L. din flora spontană a Republicii Moldova se deosebesc prin conținutul de ulei volatil. Analiza GC-MS a probelor de ulei volatil, luate în studiu, a demonstrat deosebiri substanțiale atât cantitative cât și calitative [4,5].

În laboratorul științific „Infecții intraspitalicești” pe lângă Catedra de epidemiologie a USMF „N. Testemițanu” a fost efectuată cercetarea activității antibacteriene și antifungice a uleiului volatil din părțile aeriene de *H. perforatum* L.

### Material și metode

Produsul vegetal *Hyperici herba* a fost colectat în faza de înflorire din flora spontană, în apropierea satului Suruceni, raionul Ialoveni. Uleiul volatil s-a obținut prin hidrodistilare în aparatul Ginsberg, s-a deshidratat cu Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidru și s-a păstrat în congelator până la efectuarea studiului.

Studiul activității antibacteriene a uleiului volatil din *Hyperici herba* a fost analizată prin metoda diluărilor în serie în mediu nutritiv lichid (bulion peptonat din carne 2% cu pH=7,0). Activitatea antibacteriană a fost analizată pe următoarele culturi de referință a microorganismelor

grampozitive (*Staphylococcus aureus* (tulpina 209-P)) și gramnegative (*Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* (tulpina ATCC 25922), *Proteus vulgaris* (tulpina HX 19222), *Pseudomonas aeruginosa* (tulpina ATCC 27853)). Inițial, uleiul volatil a fost dizolvat în dimetilformamidă, apoi emulsia obținută s-a dizolvat în bulion peptonat din carne 1%. Pentru însămânțare a fost folosită cultura de tulpini ale microorganismelor indicate, crescute pe geloză de carne în decurs de 18 ore, spălate cu soluție izotonică de clorură de sodiu. Doza de însămânțare constituie 500 mii de corpi microbieni la 1 ml de mediu (după standardul optic de turbiditate). În calitate de control a servit bulionul din carne, însămânțat cu aceleași tulpini fără conținut de ulei volatil. Tuburile au fost agitate și termostatate la 37°C timp de 24 ore și 48 de ore.

Proprietatea antifungică a uleiului volatil a fost cercetată în bulion Saburo pe tulpini de *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* și *Penicillium*. Uleiul volatil a fost dizolvat inițial în dimetilformamidă, emulsia obținută a fost dizolvată în bulion Saburo 1%. Soluția de 1% a fost diluată în serie, folosind mediu Saburo. Inoculatele au fost pregătite din culturi de fungi, crescute la temperatura 28°C în mediu lichid Saburo timp de câteva zile. După amestecarea inoculatele cu diluțiile uleiului volatil, tuburile au fost expuse în termostat la temperatura 28°C timp de 7 zile și pentru *C. albicans* – 48 ore.

**Rezultate**

Evaluarea activității bacteriostatice (concentrația minimă de inhibiție – CMI) a fost efectuată vizual, con-

form lipsei creșterii microorganismelor în mediul nutritiv lichid. Activitatea bactericidă (concentrația minimă bactericidă -CMB) s-a determinat în baza lipsei creșterii microorganismelor după însămânțarea repetată pe geloză peptonată cu termostatarea ulterioară timp de 24 și 48 de ore. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 1.

Rezultatele obținute au demonstrat, că uleiul volatil din *H. perforatum* L. posedă activitatea bacteriostatică înaltă numai față de microorganismele grampozitive: *S. aureus* și *E. faecalis* (CMI constituie 0,0009-0,125%), față de celelalte culturi bacteriene, luate în cercetare, CMI este mai mare de 0,5% (tabelul 1). Activitatea bactericidă a uleiului volatil cercetat s-a manifestat față de *S. aureus* (t. 209-P) și *E. faecalis* cu concentrația minimă de inhibiție 0,5% și 0,125%, după 24 de ore de incubație și 0,0037-0,25 % după 48 ore de incubație (tabelul 1).

Activitatea fungistică a fost determinată după lipsa creșterii fungiiilor în mediu nutritiv lichid. Activitatea fungicidă a fost demonstrată după lipsa creșterii fungiiilor la o însămânțare repetată pe geloză Saburo, cu incubare timp de 7 zile, dar pentru *C. albicans* timp de 48 de ore. Rezultatele experimentale sunt expuse în tabelul 2.

**Concluzii**

În urma studiului a fost demonstrat că uleiul volatil din *Hypericum perforatum* L. manifestă activitate bacteriostatică înaltă față de microorganismele grampozitive, inclusiv în concentrație de 0,0009% către *S. aureus* (t. 209-P) și 0,125% către de *E. faecalis*. Activitatea bactericidă față de *S. aureus* constituie (t. 209-P) – 0,0037%, și față de *E. faecalis* – 0,25%.

**Tabelul 1.**

**Activitatea antibacteriană a uleiului volatil din *Hyperici herba***

Compus biologic activ	Microorganismele testate,%									
	S. aureus t. 209-P		E. faecalis		E. coli t. ATCC 25922		Ps. aeruginosa t. ATCC 27853		P. vulgaris t. HX 19222	
Ulei volatil	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
		0.0009	0.5 0.0037	0.0009	0.125 0.25	> 0.5	> 0.5	≥ 0.5	≥ 0.5	0.5

CMI – concentrația minimă de inhibiție, CMB – concentrația minimă bactericidă

**Tabelul 2**

**Activitatea antifungică a uleiului volatil din *Hyperici herba***

Compus biologic activ	Doza	Microorganismele testate, (%)							
		CMI	CMF	CMI	CMF	CMI	CMF	CMI	CMF
Ulei volatil	1%	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.5%	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.25%	+	+	+	+	+	+	+	+
	0.125%	+	+	+	+	+	+	+	+
	0.062%	+	+	+	+	+	+	+	+

CMI – concentrația minimă de inhibiție, CMF – concentrația minimă fungicidă

Concentrația bacteriostatică și bactericidă a probei de ulei luată în studiu, față de microorganismele gramnegative, inclusiv *E. coli* (t. ATCC 25922), *P. vulgaris* (t. HX 19222) și *P. aeruginosa* (t. ATCC 27853) este mai mare de 0,5%.

Uleiului volatil din *Hyperici herba* a demonstrat proprietăți antifungice față de toate funghiile luate în studiu până la concentrația de 0,5%.

De aici reiese, că *Hyperici herba* poate servi ca sursă de ulei volatile cu proprietăți antimicrobiene pronunțate

---

### Bibliografie

1. Motavalizadehkakhky Alireza. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils of four *Hypericum* from Khorasan, Iran. In: Journal of Medicinal Plants Research, 2012, Vol. 6(12), p. 2478-2487. 2.
  2. Bertoli Alessandra, Cirak Cuneyt, Jaime A. Teixeira da Silva *Hypericum* Species as Sources of Valuable Essential Oils. Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology, (Special Issue):2011, 5, p.29-47.
  3. Filippo Maggi, Cinzia Cecchini, Alberto Cresci et al. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from Several *Hypericum* Taxa (Guttiferae) Growing in Central Italy (Appennino Umbro-Marchigiano). In: Chemistry & Biodiversity, 2010, Vol.7, p.447-466.
  4. Anna Benea, Maria Goncariuc, Ion Dragalin, Anatolie Nisteanu. Conținutul și componența uleiului esențial la specii de *HYPERICUM* L. din flora spontană a Republicii Moldova. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei, Chișinău, 2013, 2(320), p. 87-92. ISSN 1857-064X
  5. Anna Benea, Maria Goncariuc, Veaceslav Kulcitki, Ion Dragalin, Anatolie Nisteanu. Essential oil chemical composition biodiversity in the *Hypericum* L. species from the spontaneous flora of the Republic of Moldova / Oltenia Journal for Studies in Natural Sciences. Museum of Oltenia Craiova, Romania. Tom. 29, No. 2/2013, p. 47-52. ISSN 1454-6914
  6. Sara L. Crockett. Essential Oil and Volatile Components of the Genus *Hypericum* (Hypericaceae). In: Nat. Prod. Commun., 2010, 5(9), p. 1493-1506.
  7. Куркин В.А., Дубищев А.В., Правдивцева О.Е., Зимина Л.Н. Изучение нейротропной активности новых лекарственных препаратов из травы зверобоя. № 4 (9) ноябрь 2009 Медицинский альманах, стр. 33-36.
  8. Куркин В.А., Правдивцева О.Е., Зимина Л.Н. Антидепрессантная активность препаратов травы зверобоя. В: Фармация, 2010, № 5, ст. 40-41.
  9. Куркин В.А., Правдивцева О.Е., Дубищев А.В., Кадацкая Д.В., Запесочная Г.Г., Жданов И.П. Исследование сырья и препаратов зверобоя. Фармация. 2005. Т. 53. № 3. С. 23-25.
-

## PLANTE MEDICINALE ȘI FITOPREPARATE CU ACȚIUNE CARDIOSEDATIVĂ, EVALUĂRI ȘI PERSPECTIVE

### MEDICINAL PLANTS AND PHYTOPREPARATIONS WITH CARDIOSEDATIVE ACTION, EVALUATION AND PERSPECTIVES

Maria Cojocaru-Toma, Anatolie Nisteanu, Maria Florea

Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică, IP USMF “ Nicolae Testemițanu ”, Republica Moldova

**Rezumat.** Bolile cardiosedative rămân cea mai mare cauză a deceselor la nivel mondial, deși de-a lungul ultimelor decenii s-au implementat Programe Naționale și Internaționale de prevenire și control al lor. Astfel, patologiile cardiosedative reprezintă o problemă stringentă atât medicală, cât și socio-economică, inclusiv pentru Republica Moldova și se plasează pe primul loc printre cauzele de deces ale populației, cu 57,5 % din numărul total al maladiilor. Din principiile active responsabile de acțiunea cardiosedativă se evidențiază: heterozidele cardiotonice, flavonoidele, uleiurile volatile și alcaloizii, atunci când cota fitopreparatelor cardiosedative constituie 1,89% după Nomenclatorul de Stat al Medicamentelor, dintre care: uleiurile volatile se plasează în top și constituie 32,7%, urmate de medicamente cu conținut de flavonoide – 31,8 %, apoi heterozidele cardiotonice – 19,6% și alcaloizii – 15,9%.

**Cuvinte cheie:** plante medicinale, principii active, fitopreparate.

**Abstract.** Cardiosedatives diseases remain the biggest cause of death worldwide, although over the last decades have been implemented National and International Programs to prevent and control them. Thus, cardiosedatives pathologies are a serious medical and socio-economic problem, including in Republic of Moldova and ranks first among causes of death of the people, with 57.5%. Of active principles responsible for cardio-sedative action are notable: cardiac heterosides, flavonoids, essential oils, alkaloids, then the quota of cardiosedatives phytopreparations is 1.89%, after Nomenclature of Authorized Medicines of Moldova including: volatile oils are placed on the top with 32,7%, followed by drugs with flavonoid content – 31,8%, then cardiac heterosides – 19,6%, and alkaloids – 15,9%.

**Keywords:** medicinal plants, active principles, phytopreparations.

#### Introducere

Starea sănătății populației este un indice integrat al dezvoltării sociale a țării, o reflectare a bunăstării socio-economice și morale a populației, a condițiilor de trai și consumului de servicii medicale, precum și a gradului de educație adecvată despre factorii de risc și comportamente sănătoase. Patologiile cardiosedative reprezintă pentru Republica Moldova o problemă stringentă atât medicală, cât și socio-economică, întrucât acestea se plasează pe primul loc printre cauzele de deces ale populației, deținând cca 57,5 % din numărul total al maladiilor.

Conform datelor Organizației Mondiale a Sănătății, bolile cardiosedative reprezintă cea mai frecventă cauză de deces la nivel global în ultimele decenii (29,8% din numărul total de decese), iar prognoza până în anul 2020 prevede creșterea numărului total de decese din cauza maladiilor cronice netransmisibile cu 15% (până la 44 milioane), majoritatea acestora fiind determinate de afectarea organelor cu funcții vital importante: cord și creier. Vulnerabilitatea țărilor cu venit mic și mediu pe cap de locuitor, precum este și Republica Moldova, depășește considerabil riscul țărilor cu economii avansate [3; 4; 9].

Cazurile de deces prin boli cardiosedative constituie de la 24 la 30% din categoria celor premature în vîrsta aptă de muncă, cu o tendință de creștere cu 34% pe parcursul ultimilor 10 ani, predominînd la populația de gen masculin [9]. Pentru R. Moldova, contrar prognosticului

pentru incidență, prevalența maladiilor sistemului cardiovascular are o tendință spre creștere pentru adulți de 1,5 ori pentru ultimii 5 ani, și doar la copii se remarcă o tendință spre diminuare [3].

Printre bolile sistemului circulator se numără cele legate de hipertensiunea arterială, colesterol, diabet și fumat; cele mai comune cauze de deces fiind legate de bolile sistemului circulator, cum ar fi: cardiopatiile ischemice și bolile cerebrovasculare. Cardiopatiile ischemice au fost responsabile pentru 137 de decese la 100 000 de locuitori în Uniunea Europeană și constituie 28%, pentru a. 2012. Statele membre ale UE cu cele mai ridicate rate standardizate ale mortalității cauzate de cardiopatiile ischemice au fost: Lituania, Letonia, Slovacia, Ungaria, Estonia și Republica Cehă, toate raportând o rată de peste 350 de decese la 100 000 de locuitori în a. 2012. La polul opus, Franța, Portugalia, Țările de Jos, Spania, Belgia, Luxemburg și Danemarca au înregistrat cele mai scăzute rate standardizate ale mortalității cauzate de cardiopatiile ischemice, înregistrând date sub 100 de decese la 100 000 de locuitori, pentru aceeași perioadă [4].

Menționăm, că pe lângă măsurile de prevenire, tratament conservativ și recuperare a patologiilor cardiovasculare, un rol important în reducerea mortalității și invalidizării populației revine produselor medicinale naturale, care urmează să fie studiate și mai bine cunoscute în rândul specialiștilor și populației.



### Materiale și metode

În realizarea acestui studiu s-a stabilit planul metodologic al cercetării, care a cuprins evidențierea, formularea și argumentarea studiului plantelor medicinale și fitopreparatele cu acțiune cardiovasculară. S-au utilizat datele Biroului Național de Statistică, a Centrului Național de Management în Sănătate, Centrului Național Științifico-Practic de Medicină Preventivă. Plantele medicinale au fost evaluate după Farmacopeele de referință, iar fitopreparatele după Nomenclatorul de Stat al Medicamentelor din Republica Moldova [10; 11].

### Rezultate

Din plante medicinale utilizate în sistemul cardiovascular, remarcăm produse vegetale bogate în heterozide cardiotonice (*Digitalis purpurea*, *Digitalis lanata*, *Convallaria majalis*, *Adonis vernalis*, *Erysimum difusum*, *Strophanthus kombe*), plante medicinale cu conținut de flavonoide (*Crataegus monogina*, *Leonuris cardiaca*, *Aronia melanocarpa*, *Scutellaria baicalensis*), cu conținut de uleiuri volatile (*Melisa officinalis*, *Mentha piperita*, *Valeriana officinalis*) și alcaloizi (*Pasiflora incarnata*, *Sophora pachycarpa*, *Rauwolfia serpentina*). [1]

Speciile cu conținut de heterozide cardiotonice (degețelul roșu și lânos) se manifestă ca cardi tonic vascular, ce influențează puterea de contracție a miocardului și normalizează ritmul bătăilor cu mărirea amplitudinii acestor bătăi, fiind considerate și diuretice indirecte, prin buna irigare renală. Acțiunea directă asupra miocardului se manifestă prin creșterea puterii contracției (efect

inotrop pozitiv), mărirea excitabilității (efect batmotrop pozitiv), prelungirea diastolei (efect cronotrop negativ), cât și reducerea conductibilității (efect dromotrop negativ) [2; 7].

*Produsele vegetale cu conținut de flavonoide:* păducelul, talpa găștii. manifestă activitate cardiovasculară, simpaticolitică, vasodilatatoare și sedativă. Se recomandă în tratamentul cordului hipertonic, scleroze coronariene, în insuficiența miocardului. Principiile active ale păducelului și talpa-găștii dilată vasele coronare și encefalice, cresc sensibilitatea miocardului la glicozidii cardiaci, stimulează contractilitatea miocardului și îi reduce excitabilitatea și sunt cu un grad de toxicitate mai redus [5; 6; 8]

Pentru produsele vegetale cu conținut de uleiuri volatile, acțiunea cardiosedativă este potentată în asociere de roiniță, izmă bună cu odeolean. Odeoleanul manifestă acțiune sedativă, hipnotică, asupra sistemului nervos central și vegetativ, cu administrare în stări de nevroze, palpitații, tulburări nervoase. Are efect sedativ moderat prin *izovalerianatul de bornil*, facilitează instalarea somnului fiziologi, atunci când efectul sedativ se manifestă lent, dar destul de stabil. *Acidul izovalerianic* și *valepotriatii* posedă acțiune spasmolitică slabă, iar complexul substanțelor biologice active al speciei reduce frecvența contracțiilor cardiace și dilată vasele coronariene. Normalizarea activității cardiace se efectuează prin mecanisme neuro-reglatoare și influența directă asupra automatismului și sistemului de conducere ale cordului [6; 7].

Principiile active cu conținut de alcaloizi, cum ar fi: pahicarpina, rezerpina, pot fi utilizate în tratamentul hi-

Tabelul 1

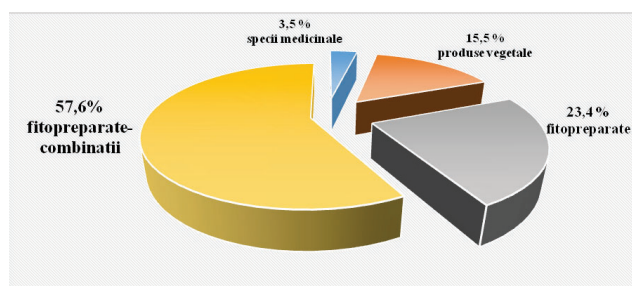
Plante medicinale, principii active, fitopreparate cardiotonice

Nr. or.	Denumirea plantei română/latină	Principii active	Produse farmaceutice
<i>Plante medicinale cu conținut de heterozide cardiotonice</i>			
1.	degețel roșu ( <i>Digitalis purpurea</i> L)	heterozide cardiotonice de tip cardenolidic, cedupă structura chimică a agliconilor, se împart în 3 grupe: digitoxigenol, gitoxigenol, gitaloxigenol	<i>Digitalin</i> 1mg/ml, și comp. 0,0001g; <i>Cordigit</i> comp. 0,0008; <i>Pumpan</i> picături orale, sol. 25 ml
2.	degețel lânos ( <i>Digitalis lanata</i> Ehrh)	prin prezența unui radical acetil fixat la a 3 moleculă de digitoxoză din catena glucidică, care îl apropie prin acțiune, de grupul strofantului	<i>Digoxin</i> , sol. injectabilă 0,25 mg/ml; <i>Digoxin</i> , comp. 0,1mg; <i>Digoxină Grindex</i> comp. 0,25; <i>Lanatosid C</i> comp. 0,25mg; <i>Lanicor</i> , comp. 0,25mg; <i>Celanid</i> , comp. 0, 25 mg
3.	strofant ( <i>Strophanthus Kombe</i> Oliv)	heterozida nativă K-strofantozida, agliconul K-strofantigenol	<i>Tinctură Strofantha K</i> , 1:10; <i>Strofantină acetat</i> , sol. 0,05% K
4.	roșcuță de primăvară ( <i>Adonis vernalis</i> L)	heterozide: cimaroizida și adonitoxozida, flavonoide	<i>Cardiophyt</i> sol. orală 100 ml; <i>Cardiovalen</i> picături buvabile 25 ml; <i>Mixtura Bexterev</i> 25 ml; <i>Adonis-Brom</i> , comp. filmate N25
5.	lăcrimioară ( <i>Convallaria majalis</i> L)	heterozida convalatoxozida (3-ramnozida K-strofantigenolul), considerată una din cele mai toxice heterozide	<i>Corglyconum</i> sol., 0,06% 1 ml; <i>Valocarmid</i> , sol. orală 30 ml; <i>Convaflavin</i> , comp. 0, 01g; <i>Mixtură sedativă</i>
6.	mixandre ( <i>Erysimum difusum</i> Ehrh.)	erizimozida și erizimina, ce diferă după radicalul din poziția trei, partea glucidică	<i>Cardiovalenum</i> , picături buvabile 25 ml

<b>Plante medicinale cu conținut de flavonoide</b>			
1.	păducel ( <i>Crataegus monogyna-Jacq.</i> )	flavonoida hiperozida 3-galactozida quercetolul, rutozida, vitexina, derivați ai flavanului, compuși polifenolici	<i>Novo-passi</i> sol. buvabilă; <i>Passivit</i> capsule; <i>Boyarishnik</i> comp. 100 mg; <i>Nobrassit</i> sol. buvabilă; <i>Carditon</i> comp. masticabile 300 mg; <i>Persen Cardio</i> capsule; <i>Eficardinsiro</i> 140 g; <i>Extrasedyl</i> , comp; <i>Imunovit</i> comp; <i>Central Bcapsule</i> ; <i>Calmocard</i> capsule și picături cardiace; <i>Picături cardiace</i> 25 ml, <i>Calmo- Plus</i> prod. vegetal fragmentat; <i>Ceai multivitamin</i> ; <i>Vagostabyl</i> drageuri; <i>Sedanax</i> comp. filmate; <i>Sedavit</i> sol. orală; <i>Pumpan</i> picături orale; <i>Valeriana Plus</i> granule 20 g, flacon; <i>Valfen Plus</i> capsule N20
2.	talpa – găștii ( <i>Leonurus cardiaca</i> L.)	heterozidele flavonoidice, printre care rutinozida, quercitina, quinquelozida, hiperozida	<i>Părți aeriene de talpa – găștii</i> prod. vegetal.; <i>Detoxiphyt</i> prod. vegetal; <i>Calmocard</i> picături orale; <i>Cratal</i> comp.; <i>Specie sedativă N1</i> ; <i>Specie sedativă N2</i> ; <i>Specie sedativă N3</i> ; <i>Ceai sedativ</i> ; <i>Picături cardiace</i> , <i>Sedocalm</i> , comp.; <i>Cardiophyt</i> , sol. orală
3.	aronie ( <i>Aronia melanocarpa</i> (Michx.))	heterozide flavonoidice: hesperidina, rutozida, quercetina, antociane, vitamine, iod	<i>Eficardinsiro</i> , 140 g
4.	gura – lupului ( <i>Scutellaria baicalensis-Georgi.</i> )	flavonoidele: scutelarozida și baicalinozida	<i>Tinctura antihipertensivă Scutellariae baicalensis radices</i>
<b>Plante medicinale cu conținut de uleiuri volatile</b>			
1.	roiniță ( <i>Melissa officinalis</i> L)	ulei volatil (monoterpenoide aciclice, componentul principal fiind citralul)	<i>Părți aeriene de roiniță</i> prod. vegetal; <i>Frunze de melisă</i> prod. vegetal; <i>Ceai sedativ</i> prod. vegetal; <i>Persen</i> drageuri; <i>Persen Forte</i> capsule; <i>Sedasen forte</i> capsule; <i>Persevit</i> capsule; <i>Relaxil</i> capsule; <i>Novo-passit</i> sol. buvabilă; <i>Vagostabyl</i> drageuri; <i>Sediphyt</i> sol.
2.	izmä bună ( <i>Mentha piperita</i> L.)	ulei volatil (monoterpenoide monociclice: conține 50 – 70% mentol, însoțit de mentonă, piperitonă, mentofuran, pinen)	<i>Frunze de izmä bună</i> prod. vegetal; <i>Comprimate cu ulei de Mintă</i> 25 mg; <i>Mentavit</i> capsule; <i>Corvalment</i> capsule sublinguale; <i>Carditon</i> comp. masticabile 300 mg; <i>Sedanax</i> comp.
3.	odolean ( <i>Valeriana officinalis</i> L)	ulei volatil (monoterpenoide biciclice: izovalerianatul de bornil, format în rădăcini în timpul uscării și valepotriaii, care la uscare trec în acidul izovalerianic)	<i>Rizomi cu rădăcini de odolean</i> prod. vegetal; <i>Extract de Odolean</i> comp. filmate 20 mg; <i>Tinctură de Odolean</i> pic. orale; <i>Valeriana</i> comp. filmate, 30 mg; <i>Valeriana forte</i> capsule, 300 mg; <i>Valeriana Plus</i> granule 20 g; <i>Somnocalm</i> capsule 300 mg; <i>Valocordin</i> picături orale; <i>Valocormid</i> picături orale; <i>Valoferin</i> picături orale, 20 ml; <i>Valfen și Valfen Plus</i> capsule; <i>Corvalol</i> picături orale; <i>Corvalfen</i> picături orale; <i>Extrasedyl</i> comp.; <i>Extraviral</i> comp.; <i>Validol</i> comp.
<b>Plante medicinale cu conținut de alcaloizi</b>			
1.	Sofora ( <i>Sophora pachycarpa</i> C.A.Mey)	alcaloizi din șirul chinolizidinic, principalul fiind pahicarpina	<i>Pachycarpini hydroiodidum</i> sol. injectabilă, 2,5%; <i>Pachycarpini hydroiodidum</i> comp. 0,1g
2.	rauwolfie ( <i>Rauwolfia serpentina</i> (L.) Benth.)	alcaloizi, derivați ai indolului: rezerpina, serpentina, papaverina, aimalina, iohimbina	<i>Reserpină</i> comp. 0,1 mg; <i>Hiposerpil</i> comp. 0,25 mg; <i>Plecidrex</i> comp; <i>Normatens</i> drajeuri; <i>Adelphane Esidrex</i> comp.; <i>Clorhidrat de Yohimbina</i> comp.
3.	pasifloră ( <i>Passifloraincarnata</i> L)	alcaloizi indolici:harman, harmină și harmol	<i>Novo-passit</i> sol. buvabilă; <i>Passivit</i> capsule; <i>Nobrassit</i> sol. buvabilă; <i>Alora</i> sirop și comp. filmate; <i>Persen Cardio</i> capsule; <i>Calmogen Plant</i> comp.; <i>Herbastress</i> comp.

pertensiunii arteriale, reduc tonusul simpatic și relaxează muxulatura vasculară netedă, prin epuizarea stocului de norepinefrină din terminațiunile simpatiche vasculare și encefalice. Totodată, reduc și rezervele de serotonină și dopamină din structurile encefalice, cu efecte antipsihotice moderate și declanșare de depresie, pentru unele persoane. Se recomandă în nevroze, psihoze, tensiune premenstruală, hipertiroidie, utilizată în tratamentul psoriasisului. Alcaloizii indolici identificați în părți aeriene de pasifloră: harman, harmină și harmol, sunt responsabili de acțiunea sedativă și se regăsesc într-un șir de produse farmaceutice cardiosedative cu conținut de extract complex *guaifenesinum* sau extract de pasifloră [6; 8].

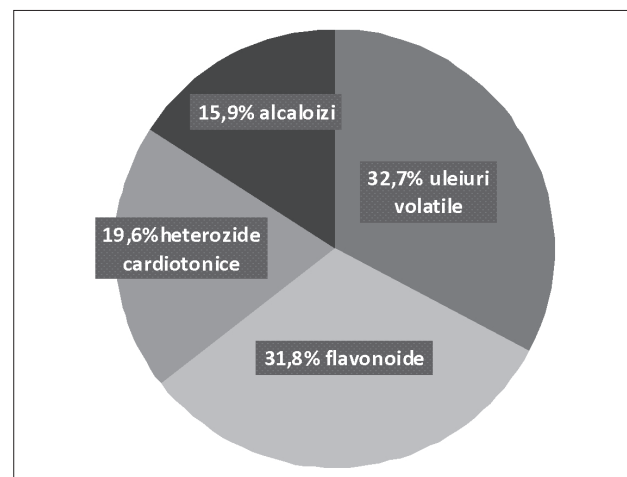
Din 5661 produse medicamentoase incluse actualmente în Nomenclatorul de Stat al Medicamentelor, ponderea plantelor medicinale, fitopreparatelor, produselor homeopate, vaccinurilor și serurilor constituie 13,9%, conform ordinul Ministerului Sănătății al Republicii Moldova nr. 770 din 22.11.2010 „Cu privire la clasificarea medicamentelor autorizate în Republica Moldova” [10; 11]. În rezultatul studiului constatăm că produsele vegetale ating cota de 15,5%, speciile medicinale constituie 3,5%, fitopreparatele-mono- 23,4% și fitopreparatele în combinații, respectiv 57,6% [10]. Cota parte a produselor vegetale, speciilor medicinale și fitopreparatelor se prezintă în figura nr. 1



**Figura 1.** Cota parte a produselor vegetale, speciilor medicinale și fitopreparatelor în Nomenclatorul de Stat al Medicamentelor

Fitopreparatele cardiosedative constituie 1,89%, după Nomenclatorul de Stat al Medicamentelor. Din ele

produsele medicamentoase cu conținut de uleiuri volatile se plasează în top și constituie 35 produse sau 32,7%, urmate de medimaente cu conținut de flavonoide (34 produse) – 31,8%, apoi heterozidele cardiotonice cu 21 produse – 19,6% și alcaloizii cu 17 forme medicamentoase sau – 15,9%. Cota fitopreparatelor cu acțiune cardiosedativă, după principii active se prezintă în figura nr.2



**Figura 2.** Cota fitopreparatelor cu acțiune cardiosedativă, după principii active

### Concluzii

1. Patologiile cardiovasculare reprezintă una din sechele majore, cu cea mai înaltă rată de deces la nivel global, cu 57,5 % decese din numărul total al maladiilor pentru Republica Moldova.

2. În reducerea mortalității și invalidizării populației cupatologii cardiosedative, un rol important revine plantelor medicinale, fitopreparatelor, în asociere cu măsuri de prevenire, tratament și recuperare.

3. Cota fitopreparatelor cardiosedativele constituie 1,89% după Nomenclatorul de Stat al Medicamentelor, dintre care: uleiurile volatile se plasează în top și constituie 32,7%, urmate de medimaente cu conținut de flavonoide – 31,8 %, heterozidele cardiotonice – 19,6 și alcaloizii – 15,9%.

### Bibliografie

- Bojor O. Ghidul plantelor medicinale și aromatice de la A la Z, Editura Fiat Lux, 2002, p.304-352.
- Giurgiu E, Giurgiu O – Plantele medicinale importante în tratamentele naturiste, Ediția a III-a 2013 p. 310.
- Gramma R.; Spinei L; Bivol A.; Jemna S. Analiza stării de sănătate a populației Republicii Moldova prin prisma indicatorilor statistici, Chișinău, 2010, p. 46-52.
- Hotărârea Nr 300 din 24.04.2014, cu privire la aprobarea Pogramului național de prevenire și control al bolilor cardiovasculare pentru anii 2014-2020, MO :din 06.05.2024, Nr 104-109 art Nr:327.
- Matcovschi C – 100 plante de leac, Editura Ericon, Chișinău 2009, p 33- 34.
- Matcovschi C, Safta V- Ghidfarmacoterapeutic, Ed. Vector, Chișinău, 2010, p. 898-899; 1163-1170.
- Nisteanu A. Farmacognozie. Chișinău, 2000, p. 164-191; 269-311; 531-564; 343-441.
- Părvu C. Universul plantelor – Mica enciclopedie ediția a-III-a, Editura Enciclopedică, 2000, p. 89-103.
- http://www.statistica.md, accesat la 06.09.16.
- http://www.amed.md (Nomenclatorul de Stat al Medicamentelor, accesat la 11.10.16)
- http://www.ms.gov.md (legislație, accesat la 02.09.16;10.10.16).

SPROUTING AS A METHOD OF INCREASING THE TOTAL PHENOLIC  
CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SELECTED SEEDS  
*GERMINAREA SEMINTELOR – METODĂ DE MAJORARE A TOTALULUI FENOLIC  
ȘI A CAPACITĂȚII ANTIOXIDANTE*

Valeria Grigoriev, Tatiana Chiru

Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică, IP USMF “Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova

**Rezumat.** Scopul acestui studiu este de a investiga efectul germinării asupra totalului fenolic și acțiunii antioxidante a semințelor de grâu, floarea soarelui și porumb. Germinarea majorează totalul fenolic la fel ca și capacitatea antioxidantă, evaluată utilizând metoda DPPH. Printre probele cercetare, semințele de grâu se deosebesc prin valorile cele mai scăzute ale totalului fenolic și capacității antioxidante. Germeții de porumb și floarea soarelui sunt cei mai bogați în conținutul de fenoli și manifesta cea mai înaltă capacitate antioxidantă. În această lucrare s-a dezvoltat că germeții sunt o sursă reușită de compuși bioactivi cu antioxidanți în rația noastră alimentară.  
**Cuvinte cheie:** Germeți, fenoli, antioxidanți, compuși bioactivi.

**Abstract.** The aim of this study was to investigate the effect of germination on the phenolic content and antioxidant activity in the seeds of wheat, sunflower and maize. Germination increased total phenolic content as well as antioxidant activity, evaluated using DPPH method. Among the samples, wheat seed was characterized by lowest levels of total phenols and antioxidant activity. Maize and sunflower sprouts were the most rich in phenols and exhibited the highest antioxidant activity. In this work it was found that the sprouts are a good source of bioactive compounds in our diet with health-promoting antioxidants.

**Keywords:** Sprouts, phenols, antioxidants, bioactive compounds.

### Introduction

The role of agriculture in terms of employment, exports and poverty reduction in Moldova's economy is indisputable. An ingenious question towards the occupation that constitutes more than 16.2% of GDP and involves 40.6% of population is its role in adequate health maintenance and the perspectives of pharmacotherapeutic use of the products.

*Zea mays*, *Triticum aestivum*, and *Helianthus annuus* are our national cultures that in the last 3 years record slow but certain increase in cultivated surface and amount of harvest. They are named staple food because of their economic availability, high nutrient value and balance, ability to face world population growth; as well they are basic ingredients of bread and other bakery products [1]. Currently there is an up-to-date preference among consumers for food systems that contain not only traditional nutrients but also provide other compounds that are beneficial to health and well-being. Grains are rich in polysaccharides (starch – between 60% and 75% of the total dry weight), fibers (soluble ones which include pectic substances and hydrocolloids and insoluble type made of cellulose, hemicellulose and lignin) proteins (albumins, globulins and the gluten complex- glutenins and gliadins – proteins that will form the gluten at dough making), lipids, vitamins (essential in human genetic regulation and genomic stability: folic acid, vitamin B12, vitamin B6, niacin, vitamin C, vitamin E and D), minerals (Fe, Zn, Se) [2].

Meanwhile seeds contain significant amounts of undesirable compounds, such as oxalic acid, lectins and phytic acid, one the most known antinutrients, located in the germ and acting as a defense mechanism. Most of the inorganic phosphorus (Pi) present in mature cereal seeds (40–80%) is stored as phytate that forms complexes with minerals such as  $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Zn^{2+}$  and  $Mg^{2+}$  reducing their bioavailability. It was proved that soaking does not reduce phytic acid at all in grains that have been heat-treated, because they no longer contain the phytic acid-degrading enzyme phytase [3]. Cooking without soaking first also hasn't effect on phytic acid. Anyway more than 50% of world daily caloric intake is derived directly from cereal grain consumption. And we should be aware of cruel disadvantages of whole grains that limit their use: they are loaded with gluten, spike blood sugar rapidly, contains substances that “steal” nutrients from the body, are associated with several brain diseases (cerebellar ataxia, schizophrenia), may be addictive, drastically raises LDL cholesterol. More than 55 diseases have been linked to gluten. It's estimated that 99% of the people who have either gluten intolerance or celiac disease are never diagnosed [4].

Phenolic compounds, a group of above 8,000 phytochemicals that received considerable attention for being potentially protective factors against degenerative diseases, are the most widely spread class of secondary metabolites in our day by day diet, their total intake constitutes approximately 1 g/d, 10 times higher than dietary



vitamin C and 100 times higher than vitamin E and carotenoid levels. In food polyphenols contribute to the bitterness, astringency, color, flavor, odor and oxidative stability. Their health effects depend on their respective intake, synergism and bioavailability [5]. These ubiquitous chemical compounds are centered on response to pathogen attacks, UV protection, cytotoxic antitumor activity and the most cited one – the antioxidant activity. Pollution, cigarette smoke, drugs, stress increase free radical exposure. Even the initial attack of these electrically charged molecules is neutralized, because of the unpaired electron a chain reaction occurs. The cells most frequently damaged by oxidative stress are unsaturated fatty acids in lipids, cholesterol, different functional polypeptides and proteins, and nucleic acids. That's why free radicals lead to cumulative and debilitating diseases like diabetic retinopathy, Parkinson's and Alzheimer's diseases, adult respiratory distress syndrome, ischemic arrhythmia, kidney failure, AIDS, diabetes, etc. Mechanisms of antioxidants consist of free radical quenching, transition metal chelating, reducing peroxide, and simulation of in vivo antioxidative enzyme activities [6]. Polyphenols have a perfect antioxidant structure, due to the presence of an aromatic phenolic ring that can stabilize the unpaired electron. The phenolic groups in polyphenols accept an electron to form relatively stable phenoxyl radicals, thereby disrupting chain oxidation reactions in cellular components. So, among vitamin C, vitamin E and carotenoids they protect the body's tissues against oxidative stress.

### Materials and methods

The seeds of wheat, maize and sunflower were harvested in the village Rădeni, district Strășeni in 2015. For obtaining the dry extract an amount of 20.0 g was weighed, grinded using a mortar and a pestle, added a quantity of 96% ethanol, mixed on a high speed, extracted nearly 24 h. The extraction was performed 3 times consecutively till depletion and finally introduced in a rotary evaporator.

Total phenolic content of extracts was measured by employing the Folin–Ciocalteu assay [7]. An aliquot of 50  $\mu$ l of an extract was mixed with 250  $\mu$ l of Folin–Ciocalteu phenol reagent (10 x diluted), 500  $\mu$ l water, and allowed to react for 1 min. Then 800  $\mu$ l of  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  solution 20 % was added and allowed to stand for 2 h (30 min at 40 °C) before the absorbance of the reaction mixture was read at 760 nm against a blank without extract. The total phenolic content of the extracts was expressed as mg gallic acid per gram of plant material on dry basis.

The stable 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl radical (DPPH) was used for the determination of the free radical – scavenging activity of the extracts [8]. It is a free radical at room temperature which produces violet color

in methanol and it is reduced in the presence of an antioxidant molecule, giving rise to uncolored solution. The use of DPPH provides an easy and rapid way to evaluate antioxidants. Sample stock solutions (1 mg/ml) were diluted to final concentration of 200, 100, 50, 25, 10, 5 and 1  $\mu$ l/ml in ethanol. Different concentrations of each extract were added, at an equal volume (0.75 ml), to ethanolic solution of DPPH (1.5 ml, 20 mg/l). After 15 min at room temperature, the absorbance was recorded at 517 nm. Ethanol was used as the blank. DPPH solution (1.5 ml, 20 mg/l) and ethanol (0.75 ml) was used as the negative control. The  $\text{IC}_{50}$  value was calculated graphically and it denotes the concentration of sample, which is required to scavenge 50% of DPPH free radicals.

### Results and discussions

From the results it was revealed that sprouts exhibited greater total phenolics than seed extracts in terms of gallic acid equivalent (Figure 1). The sprouts and seeds of *Zea mays* showed  $48.44 \pm 0.82$  and  $20.87 \pm 0.31$  mg GAE/g dried weight respectively. Similarly the sprouts and seeds of *Triticum aestivum* showed  $22.05 \pm 1.49$  and  $17.35 \pm 0.47$  mg GAE/g dried weight respectively while, sprouts and seeds of *Helianthus annuus* showed  $86.14 \pm 0.47$  and  $52.96 \pm 3.16$  mg GAE/g dried weight.

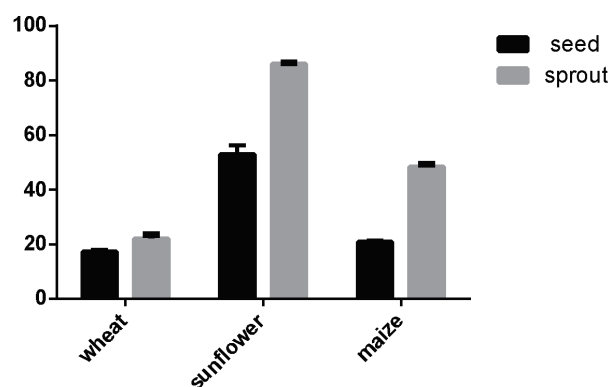


Figure 1. Total phenol as gallic acid equivalent (mg GAE/g dried weight)

In all assays, the extracts of sprouts showed the highest values of antioxidant activity as shown in the Table 1. The results revealed that the  $\text{IC}_{50}$  value was found to be the highest in sprouts of *Helianthus annuus* and lowest in seeds of *Triticum aestivum*. On the basis of the results of DPPH radical scavenging activity for  $\text{IC}_{50}$ , the plants were placed in the following order: sprouted *Helianthus annuus* > sprouted *Zea mays* > seed *Zea mays* > seed *Helianthus annuus* > sprouted *Triticum aestivum* > seed *Triticum aestivum*. The evident correlation between the two experiments is the major increase of total phenolic content and antioxidant capacity in sprouts in relation to seeds.



**Table 1. Free radical scavenging ability of the seeds and sprouts by the DPPH method<sup>1,2</sup>**

	DPPH IC <sub>50</sub> (µg/ml)	
	Seeds	Sprouts
Wheat	766.26 ± 2.32 <sup>a</sup>	653.21 ± 1.15 <sup>a</sup>
Sunflower	428.21 ± 2.54 <sup>b</sup>	<b>128.81 ± 1.68<sup>b</sup></b>
Maize	347 ± 2.03 <sup>c</sup>	169 ± 0.63 <sup>b</sup>
Ascorbic acid	0.60 ± 0.01	
Gallic acid	1.50 ± 0.02	

<sup>1</sup>The values are mean ± standard deviation

<sup>2</sup>Values in the same column not sharing the same superscript were significantly different from each other (p < 0.05)

### Conclusions

Experimentally it was revealed that sprouts exhibited higher total antioxidant capacity compared to seed extracts. The results showed that sprouts are a promising source of phenolic compounds with antioxidant potential.

Sprouted grains extract could be used in food as an additive, i.e. as a source of natural antioxidants in order to replace the synthetic ones. Thus, sprouted cereals, due to easy availability, can serve as good substrates offering significantly low-cost, nutritional dietary supplements and bioactive compounds, and had a tremendous potential in food and pharmaceutical industry.

Sprouting may be suggested as an alternative for increasing the total phenolic content and the antioxidant capacity of the seeds, as a quick, accessible, accurate, non-destructive and safe (lack of side effects) method.

### Bibliography

1. Plumb, G.W.; Price, K.R.; Rhodes, M.J.C.; Williamson, G. Antioxidant properties of the major polyphenolic compounds in broccoli. *Free Radical Res.* 1997, 27, 429-435.
2. Crozier, A.; Jaganath, I.B.; Clifford, M.N. Phenols, polyphenols and tannins: An overview. In *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*; Crozier, A., Clifford, M., Ashihara, H., Eds.; Blackwell: Oxford, UK, 2006; pp. 1-24.
3. Crozier, A.; Jaganath, I.B.; Clifford, M.N. Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat. Prod. Rep.* 2009, 26, 1001-1043.
4. Scalbert, A.; Williamson, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.* 2000, 130, 2073S-2085S.
5. Halliwell, B., Free Radicals, Antioxidants, and Human Disease: Curiosity, Cause, or Consequence? *Lancet* 1994;344:721-724.
6. M.L. Lopez-Amoros, T. Hernandez, I. Estrella, Effect of germination on legume phenolic compounds and their antioxidant activity, *Journal of Food Composition and Analysis*, 19 (2006) 277-283.
7. Singleton V. et al. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by mean of Folin–Ciocalteu reagent. In: *Methods in Enzymology*, part A, 1999, p. 152-178.
8. Brand-Williams W. et al. Use of a free radical Method to evaluate Antioxidant activity. In: *LWT – Food Science and Technology*, 1995, vol. 28, No 1, p. 35-30.

VALORIFICAREA SPECIEI *PHYSALIS ALKEKENGI* L., DIN COLECȚIA CȘCPM USMF "N. TESTEMIȚANU"VALORIFICATION OF THE SPECIES *PHYSALIS ALKEKENGI* L., FROM THE COLLECTION OF SCCMP SUMP<sup>h</sup> "N. TESTEMITANU"

Maria Cojocaru-Toma, Anastasia Bili

Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică, IP USMF «Nicolae Testemițanu», Republica Moldova

**Rezumat.** *Physalis alkekengi* L. este o specie perenă, erbacee, din genul *Physalis*, familia *Solanaceae*, cunoscută sub denumirile de: păpălău, lampion chinezesc sau floarea lampion și este introdusă în cultura Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale a Universității de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu". Ca rezultat al cercetărilor, s-a realizat analiza chimică a produselor vegetale a speciei *Physalis alkekengi* L.: frunze, caliciu și fructe, prin identificarea și dozarea compușilor polifenolici și acidului ascorbic, principii active, responsabile de acțiunea antioxidantă. Rezultatele denotă că conținutul total de compuși polifenolici, în produsele vegetale de *Physalis alkekengi* L, dozați prin metoda spectrofotometrică, constituie: 13.18% în frunze, urmat de 12,99% în caliciu și respectiv 11.82% în fructe. Pentru acidul ascorbic, remarcăm cel mai înalt conținut în frunze, ce constituie 0,83% , în caliciu – 0,72%, în fructe – 0,64%. Astfel, mai bogate în principii active sunt frunzele de păpălău *Physalis alkekengi folia*.

**Cuvinte cheie:** plante medicinale, produse vegetale, *Physalis alkekengi* L., compuși polifenolici, acid ascorbic.

**Abstract.** *Physalis alkekengi* L. herbaceous perennial plant, genus *Physalis*, family *Solanaceae*, well known as: lantern or Chinese lantern is introduced in the culture of the Scientific Cultivation Center of the State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemiteanu". According to the research results, qualitative and quantitative analysis was made upon the plant materials of *Physalis alkekengi* L.: leaves, fruits and flower cups by determination of ascorbic acid and polyphenolic compounds, that are responsible for the antioxidant effect. The results show that the total amount of polyphenolic compounds in plant materials of *Physalis alkekengi* L, which were determined by spectrophotometric method, is: 13.18% in the leaves, followed by 12.99% in flower cups and 11.82% in fruits. The highest amount of ascorbic acid was detected in leaves, which constitutes 0.83%, in flower cups – 0.72%, in fruits – 0.64%. Thus, the biggest amount of active substances is observed in *Physalis alkekengi folia*.

**Keywords:** medicinal plants, herbal products, *Physalis alkekengi* L., polyphenol compounds, ascorbic acid.

### Introducere

Specia *Physalis alkekengi* L., este o plantă din flora spontană specifică zonelor de climă temperată din Europa și Asia. În cultura Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale IP USMF "Nicolae Testemițanu" este introdusă din anul 2012.

*Physalis alkekengi* L. include un număr mare de substanțe active, cum ar fi: polifenoli, taninuri, substanțe amare (fisolina), flavonoide, saponine, esteri, steroizi, colesterol, fructoză, glucoză și pectine. Specia este bogată în vitamine: A, C, B1, B2, B6, B12, iar un conținut înalt de acid ascorbic se înregistrează la maturitatea fructelor. Din alcaloizi remarcăm prezența solaninei și scopoletinei. În fructe se conțin mulți acizi organici: malic, tartric, citric, succinic; acizi fenolcarboxilici: galic, cafeic, clorogenic și ferulic. Fructele și caliciu sunt viu colorate prin prezența unui carotenoid, numit licopen. Totodată, remarcăm că speciile *Physalis* sunt comestibile și sunt pe larg utilizate în alimentație.

Fructele culese la maturitate pot fi utilizate la prepararea marmeladelor și bomboanelor. Când este uscată, planta poate fi folosită ca element decorativ, prin faptul că fructele și caliciul își păstrează culoarea.

În fitoterapie sunt utilizate fructele și frunzele. Din

gama largă de efecte terapeutice remarcăm acțiunile: antireumatică, decongestivă, diuretică, antiinflamatoare, cicatrizantă, coleretică, hemostatică, febrifugă și laxativă. Totodată, extractele etanolice din specie manifestă o acțiune antimicrobiană pronunțată, față de bacteriile *Gram-pozitiv* și *Gram-negativ*, cât și față de cinci specii de *Candida*, acțiune confirmată prin utilizarea metodei difuziei pe disc, mai pronunțată asupra bacteriilor *Gram-pozitiv*, cu valori cuprinse între 32 și 128 mcg/ml. Fructele de *Physalis alkekengi* L sunt capabile de a elimina urații din organism, scad colesterolul sanguin, participă la sinteza hormonilor glandelor suprarenale, stimulând producția de interferon. Planta poate fi folosită și ca un produs multivitaminic, imunomodulator, prin prezența vitaminelor, ce ajută la funcționarea normală a sistemului imunitar, asigurând rezistența organismului împotriva infecțiilor. Menționăm, că fructele imature au un conținut ridicat de alcaloizi: solanina, scopoletina, și substanță amară fisolina, ceea ce le face toxice, fiind consumate verzi și în cantități mari [4].

Din acțiuni, menționăm efectul antioxidant, prin proprietatea speciei de a preveni transformarea nitraților în substanțe cancerigene, acțiune ce se realizează prin prezența compușilor polifenolici.

### Material și metode

În calitate de produse vegetale au fost folosite: caliicele, frunzele și fructele de *Physalis alkekengi* L., colectate din colecția Centrului de Cultivarea a Plantelor Medicinale a Universității de Stat de Medicină și Farmacie «Nicolae Testemițanu» și uscate în conformitate cu recomandările prevăzute de Farmacopeele în vigoare [3].

Pentru identificarea și separarea compușilor polifenolici a fost utilizată cromatografia în strat subțire, cu sistemele: (I) *acetat de etil – acid acetic – apă* (5: 1: 1), (II) *cloroform – alcool metilic* (8: 2) și (III) *cloroform – alcool etilic 96%* (9: 1). Ca soluție de comparație s-a utilizat acidul galic, iar cea mai bună separare a compușilor polifenolici a fost observată în sistemul (III). Detectarea spoturilor s-a realizat prin fluorescență proprie și în lumina – UV, fiind prelucrate cromatogramele cu reagentul Folin – Denis.

Printre metodele de analiză pentru determinarea cantitativă a compușilor polifenolici menționăm metoda Folin – Denis, metodă spectrofotometrică directă, bazată pe măsurarea densității optice a produșilor colorați, care rezultă din oxidare [2].

În determinarea calitativă și cantitativă a acidului ascorbic s-a utilizat metoda farmaceutică, bazată pe proprietatea vitaminei C de a reduce 2,6-diclorofenolindofenolatul de sodiu, care în mediu alcalin are culoarea albastră, în mediul acid – roșu, iar la reducere se decolorează. Acidul ascorbic a fost identificat prin cromatografie pe strat subțire, cu sistemul de solvenți: *acetat de etil – acid acetic glacial* (80:20) și tratat cu sol. 0,04% de 2,6-diclorofenolindofenolat de sodiu, identificat prin spoturi albe pe fon roz. Dozarea s-a efectuat prin titrare cu 2,6-diclorofenolindofenolat de sodiu, cu apariția culorii roz persistente, în mediul acid, obținut prin adăugarea acidului clorhidric 2% [1].

### Rezultate și concluzii

Specia *Physalis alkekengi* L., este întâlnită prin păduri, tufișuri, la marginea drumurilor, sau poate fi cultivată în grădini, crește sub formă de tufe, înalte până la 80 cm, în locuri însorite, sau cu umbră parțială. *Physalis alkekengi* L. este considerată și o specie ornamentală, apreciată pentru culoarea portocalie a caliciului care învelește fructele. Planta dezvoltă cu repeziciune rădăcinile care dau naștere unor noi lăstari, prin ce este considerată semiinvazivă și nu se plantează alături de alte plante sensibile, cum ar fi cele aromatice: cimbrul, cimbrișorul, măghiranul, busuiocul. În lunile de vară înflorește cu flori mici, nesemnificative, de culoare alb-gălbui. Frunzele alterne sunt serate pe margini și cresc în spirală. Fructele sunt bace, asemănătoare cireșelor, acoperite cu un înveliș protector de consistența hârtiei- caliciu, de culoare portocaliu aprinsă, asemănătoare ca formă cu felinarele chinezești, de unde îi vine și denumirea speciei.

Din produsele vegetale colectate: frunze, calicii și fructe de *Physalis alkekengi* L., s-au identificat și dozat compușii polifenolici și acidul ascorbic, principii active, responsabile de acțiunea antioxidantă.

*Compușii polifenolici* au fost identificați prin cromatografie pe strat subțire, iar cele mai bune rezultate ale analizei calitative din cele 3 sisteme menționate, se constată pentru: *cloroform – alcool etilic 96%* (9: 1), unde în calitate de martor, s-a utilizat acidul galic, în soluție standard de 0,05%. Spoturile au devenit vizibile, după prelucrarea cromatogramei cu reagentul Folin – Denis, cu coeficientul de retenție ( $R_f$ ) = 0.794.

Printre metodele de analiză existente pentru determinarea compușilor polifenolici menționăm metoda *Folin-Denis*, bazată pe reacția de oxido – reducere, cu formarea compușilor de nuanță albastră, prin oxidarea



Figura 1. Specia *Physalis alkekengi* L.

acidului fosforovolfamic, în mediul bazic, creată cu soluția saturată de carbonat de sodiu. Intensitatea culorii este direct proporțională conținutului de polifenoli, iar în calitate de martor s-a utilizat soluția 0,05% a acidului galic. Pentru a accelera procesul de oxidare și a exclude formarea precipitatului, probele s-au încălzit la baie de apă la temperatura de 80 ° C timp de 30 minute, conform metodei Mechikova [2].

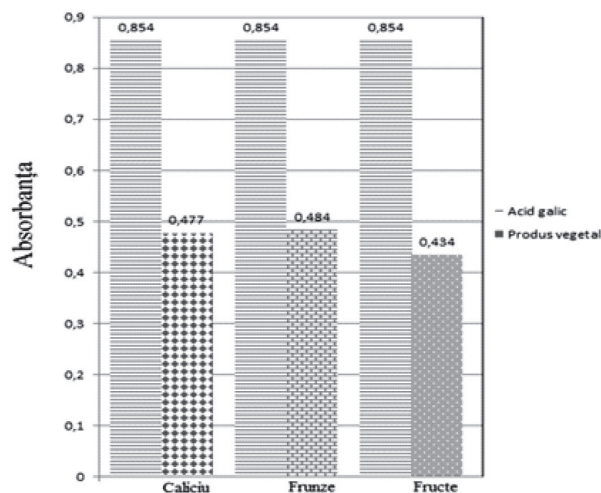


Figura 2. Absorbanța spectrofotometrică pentru produse vegetale de *Physalis alkekengi* L.

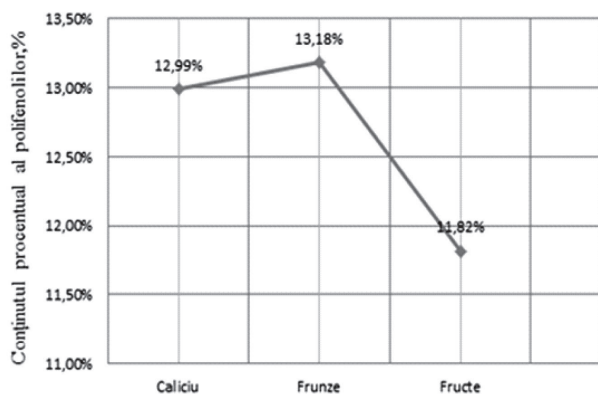


Figura 3. Conținutul de polifenoli în produse vegetale de *Physalis alkekengi* L.

Conținutul total de compuși polifenolici, exprimat în procente, prin metoda spectrofotometrică directă, în produsele vegetale de *Physalis alkekengi* L., constituie: 13,18% în frunze, urmat de 12,99% în caliciu și respectiv 11,82% în fructe.

Acidul ascorbic a fost identificat în produse vegetale, prin cromatografie pe strat subțire, în sistemul de solvenți: acetat de etil – acid acetic glacial (80:20), cu coeficientul de retenție ( $R_f$ ) = 0,26, în calitate de martor utilizând acidul ascorbic pur.

Conținutul procentual al acidului ascorbic în frunze, caliciu și fructe de *Physalis alkekengi* L, obținut prin titrimetrie cu 2,6 diclorofenolindofenolat de sodiu, se prezintă în raport cu produsul vegetal uscat. Studiul denotă, că conținutul de acid ascorbic este cel mai înalt în frunzele de *Physalis alkekengi* L. și constituie 0,83% , în caliciu – 0,72% și respectiv, în fructe – 0,64% (fig. 4).

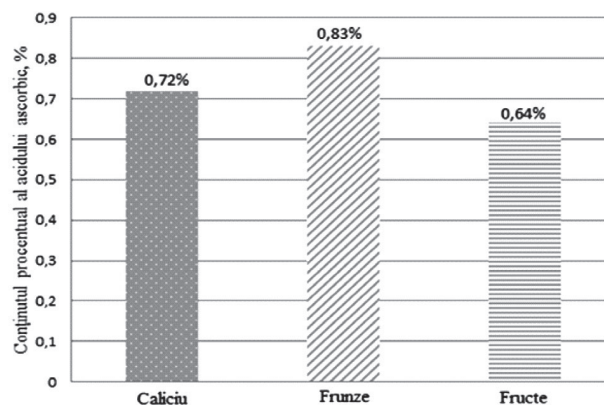


Figura 4. Conținutul acidului ascorbic în produse vegetale de *Physalis alkekengi* L.

### Concluzii

În rezultatul analizei chimice a fost valorificată specia păpălău (*Physalis alkekengi* L.), familia *Solanaceae*, prin identificarea și dozarea principiilor active, responsabile de acțiunea antioxidantă.

Din produsele vegetale analizate, cele mai bogate în principii active se prezintă frunzele, urmate de caliciu și apoi fructele de *Physalis alkekengi* L., prin conținut de polifenoli și acid ascorbic.

### Bibliografie

1. Analiza chimică a plantelor medicinale. Determinarea calitativă și cantitativă a acidului ascorbic. Chișinău, Universitat, 1993, p.6 – 10.
2. Мечикова Г. Количественное определение суммы фенольных соединений в листьях земляники, Химико Фармацевтический журнал, №2, 2007, p. 38 –41.
3. European Pharmacopoeia. 2014. Vol. 1, 1456 p.
4. Popescu Bianca-Maria, Păpălău –*Physalis alkekengi*. Botanica farmaceutică, 2001, p.7 – 14.



## DINAMICA ACUMULĂRII PRINCIPIILOR ACTIVE ÎN *SOLIDAGO CANADENSIS L.*

### DYNAMIC OF ACCUMULATION OF ACTIVE PRINCIPLES IN *SOLIDAGO CANADENSIS L.*

Maria Cojocaru-Toma, Mihaela Nartea

Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică, IP USMF "Nicolae Testemițanu", Republica Moldova

**Rezumat.** Splinuța (*Solidago canadensis L.*) este utilizată de secole, în medicina populară a multor țări ca diuretic, antiseptic, expectorant, astringent și antiinflamator. În scopul determinării principiilor active, care datorează acțiunea farmacologică, s-au colectat produsele vegetale: *Solidaginis flores et folia*, aa. 2013-2014, din cultura Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale a Universității de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu". Principiile active (flavonoidele și taninurile) au fost identificate prin reacții de culoare și cromatografie pe strat subțire, iar pentru dozarea lor s-au utilizat metode farmacopeice: titrimetria pentru taninuri și spectrofotometria pentru flavonoide. Rezultatele denotă că florile de splinuță sunt mai valoroase în principii active, cu o creștere a taninurilor de la (7,3% la 8,6%) și cu o diminuare în conținut de flavonoide de la (4,1% la 3,9%), iar acumularea lor este influențată și de factorii climaterici, inclusiv temperatură și umiditate.

**Cuvinte cheie:** plante medicinale, *Solidago canadensis L.*, taninuri, flavonoide, identificare, dozare.

**Abstract.** Goldenrod (*Solidago canadensis L.*) is used for centuries in folk medicine in many countries, as a diuretic, antiseptic, expectorant, astringent and antiinflammatory. In order to determine the active principles, that due to the pharmacological activity, were harvested vegetal products: *Solidaginis flores et folia*, two years 2013-2014, from the culture of Scientific Center for Cultivation of Medicinal Plants of State University of Medicine and Pharmacy „Nicolae Testemițanu”. The active principles (flavonoids and tannins) have been identified by color reactions and thin-layer chromatography, but in the dosage of the active principles were used pharmacopoeia methods: titrimetry for the tannins and spectrophotometry for flavonoids. The results denote that goldenrod flowers are more valuable in active ingredients, with an increase of concentration of the tannins from (7.3% to 8.6 %) and a decrease in flavonoids content from (4.1 % to 3.9 %), and their accumulation is influenced by climatic factors, including temperature and humidity.

**Keywords:** medicinal plants, *Solidago canadensis L.* tannins, flavonoids, identification, assay.

#### Introducere

Utilizarea de secole a plantelor medicinale în tratarea unor maladii a devenit de mult o tradiție, care se bazează de fapt, pe proprietățile terapeutice ale acestora. Speciile genului *Solidago* sunt întâlnite în Europa de Est, Caucaz, Siberia de Est și Vest, Orientul Îndepărtat și Asia, cca 12. Pe teritoriul României sunt întâlnite și studiate trei specii: *S. canadensis L.*, *S. gigantea Ait.*, *S. virgaurea L.*, atunci când în Republica Moldova este cultivată doar specia *S. canadensis L.* [10,12].

Splinuța (*Solidago canadensis L.*) este utilizată prin proprietățile sale diuretice și antiseptice a căilor urinare. Tot mai multă atenție se acordă proprietăților antioxidante, antiinflamatoare și antitumorale, acțiuni relevate prin prezența principiilor active.

În compoziția chimică a speciei *Solidago canadensis L.* constatăm prezența :flavonoidelor (rutozidă, izoramnetină, narcisină, kaempferol, quercetol), acizi carboxilici aromatici (acidul cafeic), cumarine (scopoletină, umbeliferonă), saponine triterpene (heterozide ale acidului oleanolic, canadensisaponine, baiogeninsaponine). Din substanțe tanante, au fost identificate acidul galic, elagic, catechina și epicatechina. În componentele uleiului volatil, remarcăm: limonenul,  $\alpha$  – pinen,  $\beta$  – mircen. Au mai fost identificate poliholozide și substanțe amare [7,11].

Acțiunea diuretică a speciei *Solidago virgaurea* a fost confirmată prin studii preclinice efectuate pe șobolani

de ambele genuri, unde fracția de flavonoide, în doză de 25 mg/kg, a crescut diureza la șobolani cu 88% după 24 ore de la administrare, observându-se scăderea excreției nocturne de sodiu și potasiu și creșterea excreției calciului din organism [9]. Activitatea antiinflamatoare a saponinelor din *S. virgaurea* a fost testată pe modelul edemului la șobolani, cu o reducere semnificativă de edemăție după administrarea intravenoasă 1,25-2,5 mg/kg complex de saponine triterpene. Diterpena din extractul apos a inflorescențelor de *S. virgaurea* a demonstrat activitate gastroprotectoare, atunci când saponinele triterpene au demonstrat o activitate antifungică împotriva speciilor din genul *Candida* mai mare decât amestecul total de saponine. În alte experimente s-a demonstrat activitatea antifungică a extractului alcoolic de *S. virgaurea* împotriva dermatofitelor: *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium gypseum* și *M. Canin*. Acțiunea antioxidantă a fost confirmată experimental prin utilizarea extractului alcoolic apos de splinuță ca o componentă a medicamentului *Phytodolor*, care inhibă formarea de specii reactive de oxigen [1,3, 8]. Totodată, remarcăm că prin evaluarea produselor medicamentoase, constatăm 35 medicamente cu conținut de principii active din speciile *Solidago* din țările europene și spațiul CSI, atunci când în Republica Moldova este înregistrat și prezent pe piața farmaceutică doar un singur produs: *Solidagoren N*, fapt ce denotă o valorificare insuficientă a speciilor genului *Solidago*.



### Materiale și metode

Produsele vegetale: *Solidaginis flores et floia* au fost colectate 2 ani la rând (2012-2013), la începutul lunii august, din cultura Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale USMF "Nicolae Testemițanu". Momentul recoltării a coincis cu prima parte a înfloririi, când planta nu era trecută în etapa de fructificare. S-au recolat de la baza tulpinii întreaga parte foliată, care s-a taiat, ulterior în fragmente lungi de circa 30 cm.

Ne-am propus ca scop identificarea și dozarea taninurilor și flavonoidelor, principii active responsabile de acțiunea antioxidantă, astringentă și antiinflamatoare în produsele vegetale: *Solidaginis folia et flores*.

Taninurile au fost identificate prin reacții specifice de indelicare, cu alaun de fier și cromatografie pe strat subțire în sistema: *n-butanol: acid acetic: apă* (4:1:5), cu utilizarea acidului galic în calitate de martor. Dozarea taninurilor a fost efectuată prin metoda titrimetrică, bazată de reacția de oxidare, cu utilizarea soluției de permanganat de potasiu 0,1. N, conform formulei de calcul [2, 4, 5].

Determinarea calitativă a flavonoidelor a fost efectuată prin reacții de identificare, proba chinodă și cromatografie pe strat subțire, utilizând 3 sisteme: *toluen: acid acetic: apă* (60:22:1,2); *acetat de etil: acid formic: acid acetic glacial: apă* (100:11:11:26) și: *butanol-n: acid acetic glacial: apă* (4:1:2), cu utilizarea rutinei și quercetinei, în calitate de martor, în sistemele menționate. Dozarea flavonoidelor s-a efectuat prin metoda spectrofotometrică, ce se bazează pe reacția de culoare cu soluția de clorură de aluminiu, iar concentrația flavonoidelor s-a calculat cu ajutorul curbei etalon, pe baza absorbanțelor corespunzătoare a soluției de rutozidă [4, 6].

### Rezultate și discuții

Splinuța (*Solidago canadensis L.*) este introdusă în cultura Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale USMF "Nicolae Testemițanu" din anul 2002. Produsul vegetal constituie: framente de tulpini erecte, de culoare verde, pubescente pe toată lungimea lor, framente de frunze alungit lanceolate, lung acuminate, acut serate, cu margini întregi pentru cele bazale, pubescente pe partea superioară și scurt pubescente pe partea inferioară; antodii numeroase, dispuse la partea superioară a ramurilor grupate într-un panicul piramidal; fragmente de flori galbene aurii, cu dimensiuni mai mari pentru cele marginale decât involucriul. La etapa uscării, s-au separat frunzele (*Solidaginis folia*) și florile (*Solidaginis flores*), în scopul analizei principiilor active atât în flori cât și frunze, obținând astfel, câte două mostre de produse vegetale din fiecare an.

Substanțele tanate sunt amestecuri de polifenoli diferiți ce au adesea o structură compusă, sunt foarte labili, deaceia izolarea și studierea componentelor individuale prezintă unele deficiențe. Substanțele tanate au fost identificate prin reacția cu alaun de fier cu amoniu. Precipitatul apărut de o culoare negru-albastru (alaun de

fier) denotă atât prezența taninurilor, cât și specificarea celor hidrolizabile în toate patru mostre. Prin cromatografie pe strat subțire, cu utilizarea sistemului: *n-butanol: acid acetic: apă* (4:1:5), în probele: *Solidaginis folia et Solidaginis flores*, constatăm prezența acidului galic cu  $R_f = 0,35$  în toate 4 probe, cu spoturi de culoare brună, cât și alte trei spoturi, două dintre ele de culoare brună al treilea de culoare cenușie, cu  $R_f = 0,30; 0,65; 0,76$ , ce vorbește de prezența altor taninuri, cum ar fi: acidul elagic, catechinei și epicatechinei, conform referințelor științifice.

Tabelul 1.

### Rezultatele cromatografiei pe strat subțire la identificarea taninurilor în *Solidaginis folia et flores*

Nr.	Probe, anul recoltării	Sistemul <i>n-butanol: acid acetic: apă</i> (4:1:5)
1.	<i>Solidaginis folia</i> , 2013	$R_f = 0,30; 0,35; 0,65; 0,76$
2.	<i>Solidaginis flores</i> , 2013	$R_f = 0,30; 0,35; 0,65; 0,76$
3.	<i>Solidaginis folia</i> , 2014	$R_f = 0,30; 0,35; 0,65; 0,76$
4.	<i>Solidaginis flores</i> , 2014	$R_f = 0,30; 0,35; 0,65; 0,76$
5	acidul galic (martor)	$R_f = 0,35$

În dozarea substanțelor tanante în produsele vegetale: *Solidaginis folia et flores* s-a utilizat metoda titrimetrică, bazată de reacția de oxidare cu utilizarea soluției de permanganat de potasiu 0,1. N, în prezența acidului indigosulfonic, până la culoarea galben aurie. Constatăm că, pentru anul 2013 conținutul de taninuri constituia 7,3% în flori și 7,06% în frunze, atunci când în anul 2014 taninurile se prezintă în cantități mai mari, respectiv 8,6% în flori și 8,3% în frunze. Astfel, totalul de substanțe tanante prevalează în flori, cu un conținut mai mare pentru anul 2014.

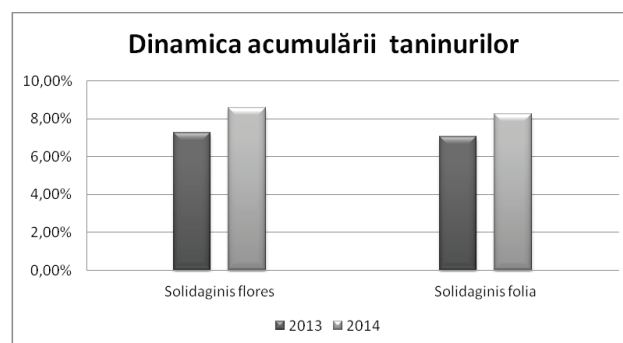


Fig. 1. Dinamica acumulării taninurilor în *Solidaginis flores et folia*

Flavonoidele prezintă un grup de pigmenți vegetali înrudiți, derivați ai fenil- benzo- gama pironei, iar extragerea lor se bazează pe solubilitate în apă sau alcool, la cald. Identificarea flavonoidelor în *Solidaginis folia et flores* a fost efectuată prin reacții de identificare, utilizând proba Chinodă. Reacția cianidinică pozitivă, a fost confirmată prin obținerea nuanțelor roșu portocaliu, pentru produsele vegetale luate în studiu. Pentru metoda cromatografiei pe strat subțire, s-au utilizat trei sisteme, dintre

care, sistema *toluen: acid acetic: apă* (60:22:1,2), nu ne-a oferit rezultate pozitive, spoturile fiind mai vizibile pentru sistemele: *acetat de etil: acid formic: acid acetic glacial: apă* (100:11:11:26) și *butanol-n: acid acetic glacial: apă* (4:1:2), cu identificarea rutozidei și quercetolului în toate partu probe, cu Rf 0,52 și 0,55 pentru rutozidă și Rf 0,87 și 0,97 respectiv, pentru quercetol, în sistemele menționate.

Tabelul 2

**Rezultatele cromatografiei pe strat subțire la identificarea flavonoidelor în *Solidaginis folia et flores***

Nr.	Probe	Sistem I acetat de etil: acid formic: acid acetic glacial: apa (100:11:11:26)	Sistem II butanol-n: acid acetic glacial: apa (4:1:2)
1.	<i>Solidaginis folia</i> , 2013	Rf = 0,52; 0,87	Rf = 0,55; 0,97
2.	<i>Solidaginis flores</i> , 2013	Rf = 0,52; 0,87	Rf = 0,55; 0,97 -
3.	<i>Solidaginis folia</i> , 2014	Rf = 0,52; 0,87	Rf = 0,55; 0,97
4.	<i>Solidaginis flores</i> , 2014	Rf = 0,52; 0,87	Rf = 0,55; 0,97
	rutozidă (martor) spot brun	Rf = 0,52	Rf = 0,55
	quercitrol (martor), spot oranj	Rf = 0,87	Rf = 0,97

*Dozarea flavonoidelor* prin metoda spectrofotometrică este bazată pe reacția de culoare a lor în prezența soluției de clorură de aluminiu, iar concentrația în flavonoide a probelor de analizat se calculează cu ajutorul unei curbe etalon, stabilite în paralel și în aceleași condiții cu soluția probă luând în lucru: 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 și 5,0 ml soluție de rutozidă 0,1 g/l în metanol [ 6]. Rezultatele denotă, că flavonoidele, în produsele vegetale studiate: *Solidaginis folia et Solidaginis flores* prevalează în flori. Astfel, pentru anul 2013, conținutul de flavonoide constituia 4,1 % în flori, și 3,92% în frunze, atunci când în anul 2014 flavonoidele se prezintă în cantități mai mici, respectiv 3,9% în flori și 3,6 % în frunze.

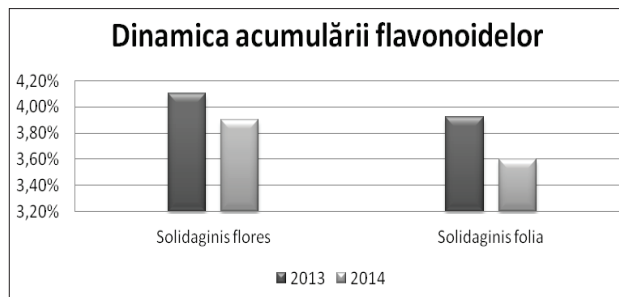


Fig. 2. Dinamica acumulării flavonoidelor în *Solidaginis flores et folia*

Identificarea și dozarea principiilor active în *Solidaginis folia et Solidaginis flores* dovedesc că acumularea flavonoidelor și taninurilor, nu a fost stabilă în perioada anilor de studiu (2013, 2014), fiind influențată de un șir de factori, inclusiv factori climacterici, cum ar fi temperatura și umiditatea.

### Concluzii

1. Produsele vegetale *Solidaginis folia et flores* au fost colectate din cultura Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale a Universității de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu".

2. Florile de splinuță (*Solidaginis flores*) sunt mai valoroase în principii active, cu o creștere a taninurilor de la (7,3% la 8,6%) și cu o diminuare în conținut de flavonoide de la (4,1% la 3,9%)

3. Acumularea principiilor active: flavonoidelor și taninurilor, nu a fost stabilă în perioada aa. 2013 și 2014, fiind influențată de un șir de factori, cu prevalență pentru substanțe tanante și diminuare pentru flavonoide.

4. Din speciile genului *Solidago* sunt elaborate și înregistrate în țările europene și spațiul CSI cca 35 produse medicamentoase, atunci când în Republica Moldova este înregistrat doar un singur produs- *Solidagoren N*, 22, ce denotă o valorificare insuficientă a speciilor genului *Solidago*.

### Bibliografie

- Bucciarelli A., *Evaluation of gastroprotective activity and acute toxicity of Solidago chilensis Meyen (Asteraceae)*, Pharm Biol., vol. 48, 2010, 1025–1030.
- Ciulei I., Istudor V., Palade M., Albulescu D., Gord C. *Analiza farmacognostică și fitochimică a produselor vegetale*, vol.I, Ed. Tehnoplast Company, București, 1995, 22- 46.
- Demir H. *Antioxidant and antimicrobial activities of Solidago virgaurea extracts*, J. of Biotechnology, 2009, vol. 8; 274–279.
- European Pharmacopoeia. 2014. Vol. 1, 1456 p.
- European Pharmacopoeia. 2014. Vol. II, 3655 p.
- Onigă I., Benedec D., Hanganu D. *Analiza produselor naturale medicinale*. Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, 2004, 94-104.
- Tămaș M., Roșca M. *Cercetări asupra saponinelor triterpenice din specii indigene de Solidago*, Editura Farmacia, Cluj-Napoca, 1988, 167-171.
- Tămaș M. *Cercetări chemotaxodinamice la genul Solidago*, Contribuții botanice, Cluj-Napoca, 1986, 109-113.
- Voștinaru O., Mogoșan C., Tămaș M. *Cercetări farmacologice asupra acțiunii diuretice, saluretice și uricozurice a speciei Solidago virgaurea L.*, Clujul medical, 2004, 551-555.
- Weber E., *Latitudinal population differentiation in two species of Solidago (Asteraceae) introduced into Europe*, American J. of Botany, 1998; vol. 85, 1110–1121.
- Соколова П.Д., *Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейство Asteraceae (Compositae)*, Растительные ресурсы СССР: Наука, 1993, 352.
- Федотов В.В., *Виды рода золотарник (Solidago): значение для медицинской практики, перспективы изучения*, Медицина, Фармация, 2012, (16); 136–145.

# FARMACOLOGIE ȘI FARMACIE CLINICĂ

ARTICOL DE SINTEZĂ

## EVOLUȚIA TRATAMENTULUI HEPATITEI VIRALE C EVOLUTION OF VIRAL HEPATITIS C TREATMENT

Sergiu Cerlat, Alexandrina Fratovcean

Catedra de farmacologie și farmacie clinică, IP USMF "Nicolae Testemițanu", Republica Moldova

**Rezumat.** Până în 2011, opțiunile terapeutice în HVC erau bazate pe interferoni. Primul tratament folosit include monoterapia cu interferon, având RVS - 7%. Mai târziu, s-au utilizat combinațiile dintre interferoni cu ribavirină, ce au majorat nivelul RVS la 28%, iar peg-interferon și ribavirină până la RVS de 40%. După 2011, tratamentul include AAD, care au crescut RVS: boceprevir cu peg-interferon și ribavirină - 68%, simeprevir cu peg-interferon și ribavirină - 80%, sofosbuvir cu peg-interferon și ribavirină - 90%, ombitasvir cu paritaprevir, dasabuvir și ritonavir - 97%, sofosbuvir cu ledipasvir - 99%.

**Cuvinte cheie:** hepatita virală C, antivirale cu acțiune directă, răspuns virologic susținut.

**Abstract.** Until 2011 therapeutic options in VHC were based on interferon's. Interferon monotherapy was the first used treatment and had a SVR - 7%. Later, combinations of interferons with ribavirin were used, these increased the level of SVR - 28% and peg-interferon with ribavirin with SVR - 40%. After 2011 the treatment included direct acting antivirals, that increased the SVR such as: boceprevir with peg-interferon and ribavirin - 68%, simeprevir with peg-interferon and ribavirin - 80%, sofosbuvir with peg-interferon and ribavirin - 90%, ombitasvir with paritaprevir, dasabuvir and ritonavir - 97%, sofosbuvir with ledipasvir - 99%.

**Keywords:** viral hepatitis C, direct acting antivirals, sustained virological response.

### Actualitate

În prezent, conform datelor Organizației Mondiale de Sănătății, de Hepatita C cronică (HCC) suferă circa 150 milioane de oameni în întreaga lume. În fiecare an numărul celor care mor în urma complicațiilor legate de virusul hepatitei C ajunge la 500 000 persoane. Tratamentul Hepatitei C a fost o problema importantă încă înainte de a fi descoperit virusul Hepatitei C (VHC). Primele tratamente aveau o eficacitatea scăzută și erau anevoioase ceea ce făcea ca virusul să se răspândească rapid. Creșterea numărului celor bolnavi și lipsa unui vaccin propriu-zis face actuala elaborarea unor preparate mai eficiente. În ultimii ani se observă un progres mare în acest domeniu cu apariția unor preparate cu o eficacitate de 99%. Aceasta dă speranța unor tratamente mai simplificate și mărirea procentului persoanelor vindecate.

### Rezultate și discuții

Tratamentul HVC are o evoluție de peste 30 de ani (fig. 1). O mare parte din această perioadă li se atribuie interferonilor care au pus baza terapiei HCC și au constituit tratamentul standard timp de 25 de ani. În ultimii ani, interferonii își au o întrebuințare tot mai restrânsă datorită apariției unor preparate noi.

**Interferonii** au fost primele substanțe folosite în tratamentul Hepatitei non-A non-B, înainte ca virusul Hepatitei C să fie descoperit în 1989, la pacienții tratați ob-

servându-se normalizarea nivelului alaninaminotransferazei [1]. Ei reprezintă o clasă de proteine determinate genetic, care se produc de către celulele specializate ale organismului ca răspuns la acțiunea diferitor agenți cu scop de a inhiba etapele intracelulare de dezvoltare a patogenilor. Se cunosc trei tipuri de interferoni: alfa, beta și gama, însă subtipurile clasei alfa își au cea mai mare întrebuințare în medicină. Primul din această clasă a fost folosit interferonul alfa-2b care a fost aprobat în anul 1991 în Statele Unite de către FDA (Food and Drug Administration) sub denumirea comercială Intron A (Schering Plough, SUA). Mai târziu, în 1996 este aprobat de către FDA și interferon alfa-2a sub denumirea Roferon A (Roche Pharmaceuticals, Elveția). Ambele tipuri de interferon se administrează intramuscular sau subcutanat câte 3 mil. UI de trei ori pe săptămână.

În 2001 apare pe piața farmaceutică un nou tip de interferon - Peg-interferon, obținut prin tehnica de pegilare. Acesta se deosebește de interferonii standard prin prelungirea duratei de acțiune, reducerea imunogenității și creșterea stabilității și solubilității. Un mare avantaj a fost și reducerea dozei la o dată pe săptămână ce a îmbunătățit calitatea tratamentului. În prezent sunt produse două tipuri de Peg-interferon: peg-interferon alfa-2a ramificat (Pegasys, Hoffmann-La Roche) și peginterferon alfa-2b liniar (PegIntron, Schering-Plough). Un studiu realizat pe 1219 pacienți, în care s-a analizat diferența dintre te-

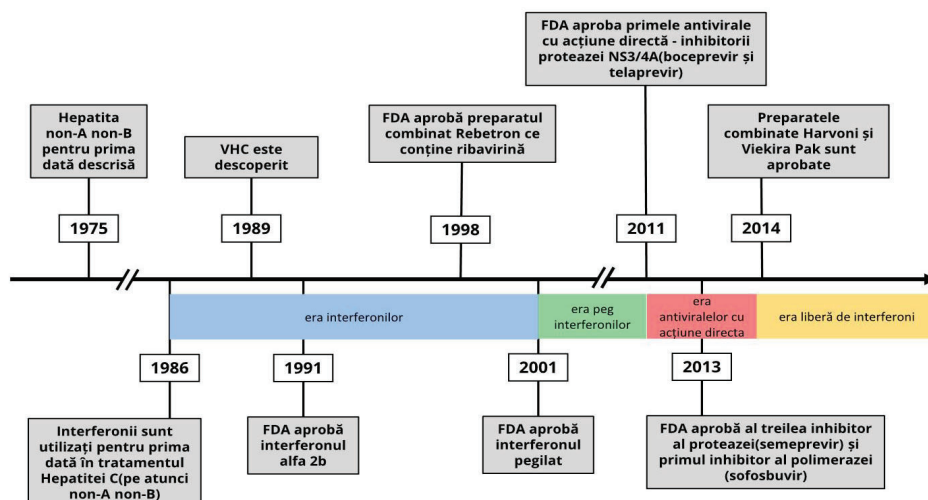


Fig. 1. Evoluția în tratamentul Hepatitei C.

rapia cu peg-interferon alfa-2b comparativ cu interferon alfa-2b a arătat creșterea răspunsului virusologic susținut de la 12% în cazul interferonului standard (3 mil. UI de 3 ori pe săptămână) la 23% în cazul interferonului pegilat (1,5  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  o dată pe săptămână) [2]. Toleranța și siguranța interferonului pegilat nu se deosebește esențial de cel standard, fiind înregistrate aceleași reacții adverse însă cu o rată mai crescută a simptomelor asemănătoare gripei (dureri de cap, oboseală, febră, dureri musculare) și a inflamației la locul injectării, în cazul interferonului pegilat. Alte reacții adverse specifice interferonilor sunt greață, anorexie, depresie, insomnie, iritabilitate, alopecie.

**Ribavirina.** O nouă etapă în tratamentul Hepatitei C a constituit introducerea ribavirinei în terapia cu interferon. Ribavirina reprezintă un analog guanozinic cu un spectru larg de acțiune contra virusilor ARN și ADN. Mecanismul de acțiune nu este bine cunoscut dar se presupune că acesta acționează atât ca imunomodulator cât și ca antiviral, prin inhibarea formării guanozin trifosfatului care este necesar sintezei ARN-ului viral cât și prin inducerea catastrofei mutaționale în virus [3]. Combinarea ribavirinei cu interferonul a fost necesară deoarece studiile au arătat că monoterapia cu ribavirină este inefficientă în reducerea răspunsului virusologic susținut la pacienții cu Hepatita C cronică [4,5,6]. Astfel, în anul 1998 FDA aprobă preparatul combinat Rebetron (Schering-Plough) care include ribavirină capsule și Intron A în injecții. Tratamentul combinat s-a dovedit a fi mai eficient din punct de vedere atât virusologic cât și biochimic și histologic. Răspunsul virusologic susținut la pacienții tratați timp de 48 săptămâni a crescut de la 13% (7% în genotipul 1) în cazul monoterapiei cu interferon la 38% (28% în genotipul 1) în cazul combinării interferon - ribavirină [7]. Apariția Peg-interferonului în 2001 și scoaterea pe piața farmaceutică a ribavirinei separat sub denumirea Rebetol (Schering-Plough) face posibilă com-

binarea acestor două preparate pentru un rezultat și mai eficient. Răspunsul virusologic susținut ajunge să fie în jur de 54-56% (42% -genotipul 1) printre pacienții tratați [8,9]. Ribavirina se administrează oral, în doză de 1000-1200 mg pe zi în dependență de greutatea corporală. Pe lângă prezența reacțiilor adverse ale interferonului, în cadrul terapiei combinate s-au adăugat și reacțiile specifice ribavirinei cum ar fi anemie hemolitică, tuse, dispnee, efect teratogen. Acestea au cauzat o creștere a bolnavilor care necesitau reducerea dozelor cât și a celor care întrerupeau tratamentul [10].

#### Antivirale cu acțiune directă

Timp de peste zece ani tratamentul standard pentru Hepatita C era combinația peg-interferon - ribavirină. În anul 2011 începe o nouă eră în tratamentul Hepatitei C – cea a antiviralelor cu acțiune directă. Aceste preparate acționează direct la o etapă a ciclului viral, inhibând replicarea virusului. Adăugarea lor la terapia standard peg-interferon - ribavirină a dus la creșterea evidentă a ratei răspunsului virusologic susținut la pacienții tratați. Odată cu apariția antiviralelor cu acțiune directă mai efective a fost posibilă trecerea la tratamentul fără interferoni și a ridicat rata RVS până la 99%. Mecanismul de acțiune al antiviralelor cu acțiune directă este îndreptat împotriva proteinelor nestructurale ale virusului hepatitei C cum ar fi proteaza NS3/4A, polimeraza NS5B sau proteina NS5A (Fig. 2) [26].

**Boceprevir, Telaprevir.** Primele preparate antivirale cu acțiune directă au fost aprobate de către FDA în mai, 2011. Boceprevir, sub denumirea comercială Victrelis (Merck) și Telaprevir sub denumirea comercială Incivek (Vertex Pharmaceuticals), au ca mecanism de acțiune inhibarea proteazei NS3/4A prin blocarea situsului activ al enzimei și oprirea clivării de mai departe a poliproteinei virale ceea ce rezultă în stoparea replicării. Aceste două preparate au fost aprobate pentru bolnavii cu genotipul 1 și combinarea lor cu peg-interferon - ribavirină a fost ne-



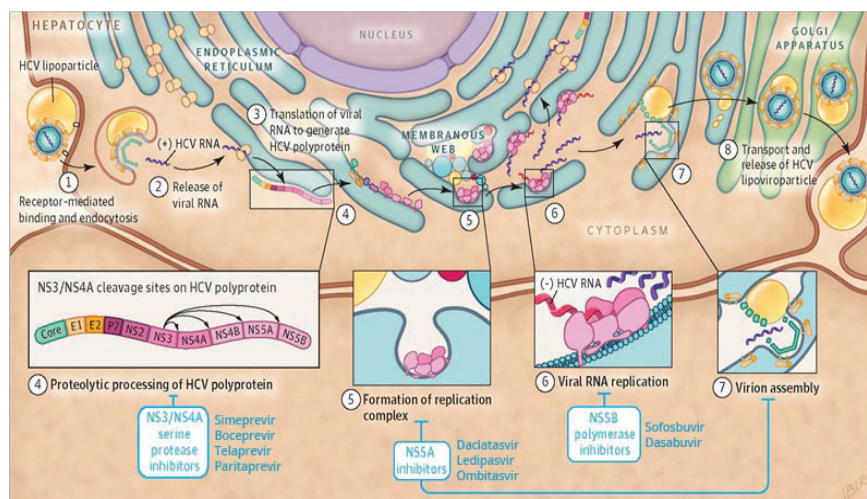


Fig. 2. Locul de acțiune a diferitor antivirale cu acțiune directă în cadrul ciclului viral a VHC. [26]

cesară pentru a nu permite dezvoltarea rezistenței virale [11,12]. Eficacitatea boceprevirului a fost evaluată în cadrul studiilor din faza II (SPRINT 1) și faza III (SPRINT 2) efectuate pe 1617 pacienți cu genotipul 1, netratați anterior. Astfel, valorile RVS în cadrul terapiei triple peg-interferon – ribavirină - boceprevir a fost în jur de 67-68% comparativ cu 38-40% în cadrul terapiei standard peg-interferon - ribavirină [13,16]. Telaprevir a arătat o rată a RVS de până la 75% în cadrul fazei III, în studiul Advance realizat pe 1088 de pacienți netratați anterior [14]. Terapia triplă, pe lângă faptul că a crescut procentul persoanelor cu RVS, a dus și la creșterea incidenței reacțiilor adverse. Tulburările gastro-intestinale cum ar fi greața și diareea, erupții cutanate, pruritul și anemia au fost cu 10% mai mari în cazul terapiei triple decât în cea standard. Au fost înregistrate și cazuri de deces în urma reacțiilor cutanate severe în cadrul terapiei cu telaprevir [15]. De asemenea, unele dezavantaje ale terapiei cu telaprevir/boceprevir sunt bariera scăzută la rezistență, activitatea îndreptată doar împotriva genotipului 1 și necesitatea administrării comprimatelor la fiecare 8 ore, care împreună cu dozele zilnice de ribavirină și injecțiile săptămânale de peg-interferon fac tratamentul mai anevoios.

**Simeprevir** este un al treilea inhibitor al proteazei NS3/4A aprobat în decembrie 2013 de către FDA sub denumirea comercială Olysio (Janssen Therapeutics) [27]. Eficacitatea preparatului a fost evaluată în 5 studii clinice pe 2026 pacienți. În doua dintre aceste studii – QUEST 1 și QUEST 2, evaluate pe pacienți netratați anterior care prezentau genotipul 1, RVS a constituit 80% în cazul utilizării simeprevirului cu peg-interferon și ribavirină [17]. Spre deosebire de inhibitorii proteazei precedenți (boceprevir/telaprevir), acesta se administrează o dată pe zi și prezintă o toleranță mai bună luând în considerație că rata întreruperii tratamentului din cauza reacțiilor adverse a fost mai mică decât în cazul tratamentului cu telaprevir sau boceprevir [18].

**Sofosbuvir.** În 2013 apare și primul preparat din grupul inhibitorilor polimerazei NS5B. ARN polimeraza virală NS5B este o enzimă necesară sintezei ARN-ului viral, iar inhibarea activității sale duce la incapacitatea formării de ARN, iar ca rezultat are loc oprirea replicării și răspândirii virusului [20]. Sofosbuvirul (Sovaldi, Gilead Sciences) a făcut posibilă trecerea la o etapă nouă în tratamentul hepatitei C prin faptul că poate fi utilizat și fără interferoni, doar în combinație cu ribavirină. Aceasta a redus numărul de reacții adverse specifice interferonilor și a simplificat tratamentul prin excluderea injectării acestora. Totuși, pentru atingerea unui RVS în cazul genotipurilor mai agresive, cum ar fi genotipul 1, se recomandă menținerea peg-interferonului în terapie. Astfel, răspuns virusologic susținut obțin 90% din pacienții tratați (pentru genotipul 1) [19]. Spre deosebire de inhibitorii proteazei, sofosbuvir are o barieră mare față de rezistență și este utilizat pentru toate genotipurile, nu doar genotipul 1 [18]. Se administrează o dată în zi, iar durata tratamentului nu depășește 24 săptămâni, spre deosebire de terapia standard sau cea cu inhibitorii proteazei care poate ajunge și la 48 săptămâni în dependență de genotip.

#### Terapia combinată cu antivirale cu acțiune directă

După apariția a mai multor antivirale cu acțiune directă care erau îndreptate asupra diferitor etape a ciclului viral, s-a putut recurge la combinarea acestora și eliminarea completă a interferonului și ribavirinei.

În octombrie, 2014 FDA aprobă preparatul *Harvoni* (Gilead Sciences) care prezintă o combinație dintre preparatul sofosbuvir (deja prezent pe piața farmaceutică) și ledipasvir [21]. Ledipasvirul este un inhibitor al proteinei nestructurale NS5A a VHC, care prezintă un rol esențial atât pentru replicarea ARN-ului, cât și pentru formarea virionului. Harvoni și-a arătat eficiența în 3 studii de faza III pe 1518 pacienți cu HCC cu VHC de genotip 1. RVS a atins valoarea de 98-99%. Prezintă reacții adverse puține



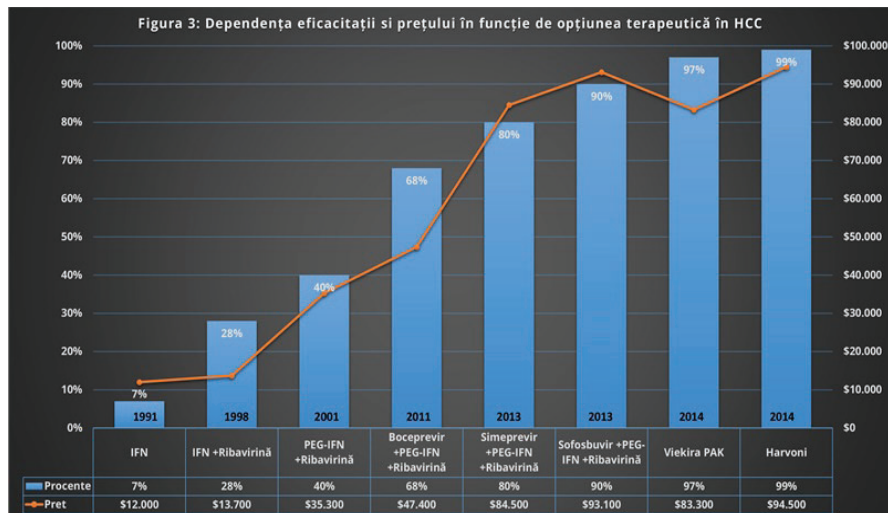


Fig. 3. Dependența eficacității și prețului în funcție de opțiunea terapeutică în HCC.

în comparație cu tratamentele anterioare discutate (mai des cefalee și oboseală), iar rata de întrerupere a tratamentului nu depășește 1% [22]. Preparatul se administrează câte un comprimat în zi fără a fi combinat cu alte medicamente contra VHC, fiind foarte comod pentru utilizare.

În noiembrie, 2014 FDA aprobă combinarea preparatelor *simeprevir* (*Olysio*) și *sofosbuvir* (*Sovaldi*) pentru tratarea HCC. Aprobarea a fost bazată pe studiul „Cosmos” de faza II, care a arătat RVS până la 97% [23].

O a treia combinație aprobată de FDA în decembrie, 2014 este preparatul *Viekira Pak* (AbbVie) [24]. Acest preparat a fost aprobat pentru pacienții cu HCC cu genotipul 1 și conține 4 substanțe active: ombitasvir, paritaprevir, dasabuvir și ritonavir. Ombitasvir – inhibitor al proteinei NS5A, paritaprevir – inhibitor al proteazei NS3/4A și dasabuvir - inhibitor nenucleozidic al polimerazei NS5B reprezintă trei preparate noi cu mecanisme de acțiune diferite îndreptate contra VHC. Ritonavir este un preparat împotriva virusului HIV care a fost aprobat mai înainte de către FDA. Acesta nu are acțiune împotriva VHC și este folosit în componența preparatului *Viekira Pak* cu scopul de a potența acțiunea paritaprevirului. În studii clinice, preparatul a condus la un RVS la 91-100% din pacienți, cu o medie de 97%. Preparatul poate fi administrat cu sau fără ribavirină pe durată de la 12 la 24 săptămâni [25].

### Sinteza

Reieșind din evoluția marcată în tratamentul Hepatitei C, eficacitatea preparatelor a crescut de la 7% în 1991 la 99% în prezent (fig. 3). Un pas major în tratamentul HCC s-a făcut în 2011 odată cu apariția primelor antivirale cu acțiune directă (*boceprevir*, *telaprevir*). Înainte de 2011, terapia standard cu interferoni și ribavirină era anevoioasă, avea multe reacții adverse și nu avea o eficacitate satisfăcătoare. Apariția inhibitorilor proteazei

*boceprevir* și *telaprevir* în 2011 și a *simeprevirului* în 2013, a dat posibilitatea de a le adăuga la terapia standard cu scopul de a mări eficiența cu aproape 30%. Mai apoi, apariția inhibitorului polimerazei *sofosbuvir*, aduce un avantaj mare în terapia HCC deoarece face posibilă eliminarea interferonului din terapie și respectiv a multor reacții adverse specifice acestuia. Tratamentul Hepatitei C devine cu mult mai comod și mai bine tolerat atât prin micșorarea numărului de reacții adverse, cât și prin simplificarea regimului, iar rata vindecării ajunge la 90%. În 2014, odată cu apariția terapiei combinate cu antivirale directe, rata vindecării urcă la un nivel aproape maxim de 99% și face posibilă excluderea și a ribavirinei cu totalitatea reacțiilor adverse specifice acesteia.

Apariția noilor preparate a dus nu doar la creșterea eficacității dar și a prețului pentru tratament (fig. 3). În prezent, prețul monoterapiei cu interferon simplu (*Intron A*) este în jur de 12000\$ pentru o perioadă de 48 săptămâni. Adăugarea ribavirinei urcă prețul la 13700\$. În cazul opțiunii peg-interferon (*PegIntron*) și ribavirină, pentru aceleași 48 săptămâni, prețul terapiei este de 35300\$. Dacă să trecem la analiza prețului terapiei triple, în care se adaugă primele antivirale directe (de ex: *boceprevir*) la terapia standard, atunci aici avem mai multe opțiuni a prețului care depind de durata tratamentului. Reieșind din faptul că 60% persoane sunt eligibili pentru tratamentul de durată mai scurtă și anume 28 săptămâni [28], prețul terapiei este în jur de 47400\$. Observăm o creștere bruscă a costului la trecerea la opțiunea care include *simeprevir* (împreună cu peg-interferon și ribavirină). Astfel, pe o durată de 24 săptămâni, care constituie tratamentul optim, se va achita 84500\$. În continuare, la alegerea tratamentului cu *sofosbuvir* (împreună cu peg-interferon și ribavirină), scade durata optimă a tratamentului până la 12 săptămâni iar prețul urcă la 93100\$. Ultimele preparate *Harvoni* și *Viekira Pak* costă 94500\$ și respectiv 83300\$ pentru tratament de 12 săptămâni.

Observăm cum are loc creșterea prețului proporțional cu creșterea eficacității iar durata tratamentului optim devine tot mai scurtă pentru noile opțiuni terapeutice.

**Situația în Republica Moldova**

Republica Moldova a rămas și până în prezent la opțiunea peg-interferon – ribavirină. Statul anual oferă tratament antiviral la circa 300 de persoane, cauza unui astfel de număr mic fiind costul înalt al preparatelor.

Chiar dacă preparatele sunt oferite la un preț mai mic pentru țara noastră din cauza situației financiare acestea oricum sunt foarte scumpe.

Moldova ar putea trece la o etapă mai înaintată în tratamentul Hepatitei C. În tabelul 1 este redată o analiză din punct de vedere financiar în privința cheltuielilor pe care le-ar putea suporta statul dacă ar trece la terapia tripla (simeprevir cu peg-interferon și ribavirină) și chel-

tuielile actuale, examinate la 100 de persoane. În prezent, tratamentul se realizează cu așa preparate ca Pegasys (peg-interferon) și Copegus (ribavirină) a căror preț pe 48 săptămâni de tratament este în jur de 10400\$ pentru o persoană. Dacă vom adăuga la aceste medicamente Sovriad (simeprevir) atunci durata tratamentului se scurtează în mediu la 24 săptămâni iar prețul va urca până la aproximativ 29200\$. Dacă să calculăm cât vor constitui cheltuielile statului în anul de tratament (care includ medicamentele antivirale, analizele și spitalizarea) atunci observăm că din punct de vedere financiar pare a fi mai avantajoasă terapia actuală (peg-interferon și ribavirină) a cărei preț este de aproximativ 3 ori mai mic decât al terapiei triple. Însă nu trebuie să uităm principalul avantaj al terapiei triple și anume eficacitatea ei care va duce la tratarea a aproximativ 80 persoane din 100. Dacă să considerăm că durata medie de viață a persoanelor netratate

Tabel 1.

**Cheltuielile financiare în cadrul terapiei standard și a celei triple.**

Caracteristicile terapiei la 100 persoane		Opțiunea terapeutică		
		Peg-interferon - ribavirină	Simeprevir - PEG-interferon - ribavirină	
Nr. persoanelor tratate		40	80	
Nr. persoaneor netratate		60	20	
Tratamentul de bază	Durata tratamentului	48 săptămâni	24 săptămâni	
	Prețul medicamentelor antivirale	1 040 000\$	2 920 000\$	
	Durata și costul spitalizării (~15\$/persoană/zi)	30zile 45 000\$	20 zile 30 000\$	
	Analize	Biochimia (~4\$/persoană)	4 ori/an	4 ori/an
		Fibroscan (~50\$/persoană)	o dată 5 000\$	o dată 5 000\$
		Viremia (~56\$/persoană)	6 ori 33 600\$	5 ori 28 000\$
	<b>Cheltuieli totale pe tratamentul de bază</b>		<b>1 125 200\$</b>	<b>2 984 600\$</b>
Tratamentul de susținere*	Prețul medicamentelor de susținere (~250\$/persoană/an)	225 000\$	75 000\$	
	Durata și costul spitalizării (~15\$/persoană/zi)	20 zile/an 270 000\$	20 zile/an 90 000\$	
	Analize (Biochimia ~4\$/persoană)	2 ori/an 7 200\$	2 ori/an 2 400\$	
	Invalidizare (~35\$/persoană/lună)	378 000\$	126 000\$	
	Pierderi pe cap de locuitor (PIB – 2500\$)	2 250 000\$	750 000\$	
	<b>Cheltuieli totale pe tratament de susținere</b>		<b>3 130 200\$</b>	<b>1 043 400\$</b>
Cheltuielile totale susținute de stat		4 255 400\$	4 028 000\$	

\*Tratament de susținere evaluat pe 15 ani de durată a vieții a pacienților netratați.

este în jur de 15 ani atunci vedem că statul ajunge să piardă sume enorme de bani pe acești bolnavi. Cheltuielile vor fi atât pentru tratamentul de susținere (analize, spitalizare și medicamente) și invalidizare cât și sume mari se vor pierde din buget anume din cauza incapacității de muncă a acestor persoane. Rezultă că cele 60 de persoane netratate din cadrul terapiei standard vor aduce cheltuieli de 3 ori mai mari decât cele 20 persoane netratate din cadrul terapiei triple. Astfel, ajungem să obținem o sumă a pierderilor chiar puțin mai mare de 4255400\$ pentru terapia standard decât la cea triplă care constituie 4028000\$. Din acest punct de vedere putem spune că chiar dacă terapia triplă este costisitoare la momentul tratamentului, aceasta poate fi avantajoasă pe viitor atât din punct de vedere financiar cât și a eficacității.

Republica Moldova, fiind o țară în curs de dezvoltare, ar putea beneficia de o opțiune terapeutică și mai avantajoasă. Compania Gilead, care produce preparatele Sovaldi și Harvoni, a semnat în 2014 un acord cu 11 producători farmaceutici indieni prin care le permite să producă și să distribuie preparatele generice care conțin substanțele active (sofosbuvir și ledipasvir) ale celor 2 preparate (patenta căror încă nu a expirat). După acord, de preparatele date vor beneficia 91 de țări în curs de dezvoltare iar prețurile pentru preparatele generice se stabilesc în funcție de situația economică a țării. În Egipt

deja au fost stabilite prețurile pentru sofosbuvir și astfel terapia de 12 săptămâni cu acest preparat va costa în jur de 900\$ [29]. Se așteaptă ca ledipasvirul să fie și mai ieftin iar în rezultat terapia care dă 99% rezultat să ajungă la un cost de 1000\$. Acest preț reprezintă doar 1% din prețul terapiei în SUA și de asemenea este cu mult mai mic decât cel al terapiei standard cu peg-interferon și ribavirină care este la noi în prezent. Republica Moldova ar putea colabora cu compania Gilead pentru a fi inclusă în lista țărilor care beneficiază de această posibilitate și atunci situația în legătură cu această maladie se va îmbunătăți evident.

### **Concluzii**

- Din 1989 de la descoperirea VHC și până în 2015 tratamentul Hepatitei C s-a dezvoltat intens iar rata eficacității preparatelor a crescut de la 7% la 99%.
- Odată cu creșterea eficacității preparatelor a avut loc și o creștere enormă a prețurilor care a devenit o problemă în tratamentul Hepatitei C.
- Republica Moldova a rămas încă la tratamentul standard a cărui eficacitate nu depășește 40% dar este posibil ca țara noastră totuși să treacă la un captitol nou în tratamentul HCC care ar putea fi mai avantajos din punct de vedere atât al eficacității cât și financiar.

### **Bibliografie**

1. Adrian M., Di Bisceglie et al. Recombinant Interferon Alfa Therapy for Chronic Hepatitis C. In: *N Engl J Med*, 1989, N. 321, p. 1506-1510.
2. Karen L. Lindsay, Christian Trepo et al. A Randomized, Double-Blind Trial Comparing Pegylated Interferon Alfa-2b to Interferon Alfa-2b as Initial Treatment for Chronic Hepatitis C. In: *Hepatology*, 2001, Nr.34(2), p. 395-403.
3. Shane Crotty, David Maag et al. The broad-spectrum antiviral ribonucleoside ribavirin is an RNA virus mutagen. In: *Nature America*, 2000, Vol.6, N.12, p. 1375-1379.
4. Bodenheimer HC Jr, Lindsay KL et al. Tolerance and efficacy of oral ribavirin treatment of chronic hepatitis C: a multicenter trial. In: *Hepatology*, 1997, N. 26, p.473-477.
5. Dusheiko G, Main J et al. Ribavirin treatment for patients with chronic hepatitis C: results of a placebo-controlled study. In: *J Hepatol.*, 1996, Nr.25(5), p591-598.
6. Di Bisceglie AM, Conjeevaram HS et al. Ribavirin as therapy for chronic hepatitis C. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. In: *Ann Intern Med.*, 1995, Nr.123(12): p897-903.
7. McHutchison JG, Gordon SC et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. In: *N Engl J Med.*, 1998, Nr.339(21): p1485-1492.
8. Fried MW, Shiffman ML et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. In: *N Engl J Med.*, 2002, Nr.347(13): p975-982.
9. Manns MP, McHutchison JG et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. In: *Lancet.*, 2001, Nr.358(9286): p958-965.
10. Lise L Kjaergard, Kim Krogsgaard et al. Interferon alfa with or without ribavirin for chronic hepatitis C: systematic review of randomised trials. In: *BMJ.* 2001, Nr.323(7322): p1151-1155.
11. Sarrazin C, Kieffer TL et al. Dynamic hepatitis C virus genotypic and phenotypic changes in patients treated with the protease inhibitor telaprevir. In: *Gastroenterology.* 2007, Nr.132(5): p1767-1777.
12. Kieffer TL, Sarrazin C et al. Telaprevir and pegylated interferon-alpha-2a inhibit wild-type and resistant genotype 1 hepatitis C virus replication in patients. In: *Hepatology*, 2007, Nr.46(3): p631-639.
13. Fred Poordad, M.D., Jonathan McCone, Jr et al. Boceprevir for Untreated Chronic HCV Genotype 1 Infection. In: *N Engl J Med* 2011, Nr.364: p1195-1206.

14. Jacobson IM, McHutchison JG et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. In: *N Engl J Med*. 2011, Nr.364(25): p2405-2416.
  15. FDA Drug Safety Communication. Serious skin reactions after combination treatment with the Hepatitis C drugs Incivek (telaprevir), peginterferon alfa, and ribavirin. 19 December 2012. <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm332731.html>
  16. Dr Paul Y Kwo, Eric J Lawitz et al. Efficacy of boceprevir, an NS3 protease inhibitor, in combination with peginterferon alfa-2b and ribavirin in treatment-naïve patients with genotype 1 hepatitis C infection (SPRINT-1): an open-label, randomised, multicentre phase 2 trial. In: *Lancet*, 2010, Nr.376(9742): p 705-716.
  17. Olysio. Rezumatul caracteristicilor produsului: Eficacitatea si siguranta clinica. <http://www.ema.europa.eu>
  18. Anita Kohli, Ashton Shaffer et al. Treatment of Hepatitis CA Systematic Review. In: *JAMA*. 2014, Nr.312(6), p 631-640.
  19. Eric Lawitz, Alessandra Mangia et al. Sofosbuvir for Previously Untreated Chronic Hepatitis C Infection. In: *N Engl J Med* 2013, Nr.368: p 1878-1887.
  20. Sovaldi. Rezumatul caracteristicilor produsului: Mecanism de actiune. <http://www.ema.europa.eu/>
  21. FDA News Release. FDA approves first combination pill to treat hepatitis C. For Immediate Release: October 10, 2014. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm418365.htm>
  22. Harvoni. Rezumatul caracteristicilor produsului. <http://www.ema.europa.eu/>
  23. Lawitz E, Sulkowski MS et al. Simeprevir plus sofosbuvir, with or without ribavirin, to treat chronic infection with hepatitis C virus genotype 1 in non-responders to pegylated interferon and ribavirin and treatment-naïve patients: the COSMOS randomised study. In: *Lancet*, 2014, Nr. 384(9956): p 1756-1765.
  24. FDA News Release. FDA approves Viekira Pak to treat hepatitis C. For Immediate Release: December 19, 2014. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm427530.htm>
  25. Viekira Pak. Full prescribing information. <http://www.ema.europa.eu/>
  26. Anita Kohli, Ashton Shaffer et al. Treatment of Hepatitis C: A Systematic Review. In: *JAMA*, 2014, Nr.312(6), p 631-640.
  27. FDA NEWS RELEASE. FDA approves new treatment for hepatitis C virus. For Immediate Release: Nov. 22, 2013 <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm376449.htm>
  28. J Bronowicki, J McCone et al. Response-Guided Therapy (RGT) with Boceprevir (BOC) + Peginterferon alfa-2b/Ribavirin (P/R) for Treatment-Naïve Patients with Hepatitis C Virus (HCV) Genotype (G) 1 Was Similar to a 48-Wk Fixed-Duration Regimen with BOC + P/R in SPRINT-2. 61st Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD 2010). Abstract LB-15.
  29. Chronic hepatitis C treatment expansion generic manufacturing for developing countries. <http://www.gilead.com>
-

## STRATEGII FARMACOTERAPEUTICE MODERNE ÎN BOALA MIGRENOASA MODERN PHARMACOTHERAPEUTICAL STRATEGIES IN MIGRAINE

Ursu Iuliana, Cerlat Sergiu

Catedra de farmacologie și farmacie clinică, IP USMF "Nicolae Testemițanu", Republica Moldova

**Rezumat.** Tratamentul migrenei rămâne actual până în zilele noastre datorită creșterii numărului de pacienți refractari la tratamentul standard. Maladia netratată se complică prin creșterea frecvenței acceselor migrenoase, apariția schimbărilor neurofiziologice, focarelor patologice. Analiza pacienților cu migrene, fără simptome patologice și nici diagnostice, s-au depistat dereglări intracraniene și zone moarte a substanței albe. Datele unui studiu ne arată corelația acestei asimetrii cu farmacorezistența la tratamentul profilactic antimigrenos. Problema rămâne în mare măsură nesoluționată, mai ales că o parte din acești pacienți sunt receptivi la administrarea triptanilor.

**Cuvinte cheie:** migrenă, tratament modern, farmacoterapie, fitoterapie.

**Abstract.** The treatment of migraine remains current until today, because of increasing number of patients who is refractory to the standard treatment. Untreated disease becomes complicated by increasing accesses migraine occurrence of neurophysiological changes, pathological outbreaks. Analysis of patients with migraine without any pathological symptoms and diagnoses were detected intracranial disorders and dead zones of white matter. The data of one research shows a correlation of this asymmetry with pharmacoresistance at prophylactic treatment of migraine. The issue remains largely unresolved, especially since some of these patients are receptive to administration triptans.

**Keywords:** migraine, modern treatment, pharmacotherapy, phytotherapy.

### Introducere

Migrena este o afecțiune cronică, dizabilitantă, frecvent întâlnită în rândurile populației, care constituie o problemă majoră de sănătate publică cu un impact socio-economic considerabil [3,4]. În raportul OMS (2000), migrena a fost inclusă a 19-a cauză de incapacitate de muncă [4]. În plan clinic, migrena este caracterizată prin atacuri recurente de cefalee severă, pulsatilă, de obicei unilaterală, agravată de mișcare, cu durată de 4-72 ore, acompaniată de disfuncție autonomă (greață, vomă), foto- și/sau fonofobie, precedată sau însoțită la unii pacienți de fenomene neurologice focale tranzitorii (aură). Mai multe studii europene documentează influența negativă a migrenei asupra calității vieții subiectului, iar cercetările medico-economice denotă că în mediu 15% dintre adulți au fost absenți de la serviciu pe motiv de atacuri de migrenă în cursul unui an [1,4].

Rezumând datele de prevalență, în cursul unui an, rezultate din mai mult de 15 cercetări epidemiologice efectuate în diverse țări ale Europei de Vest, proporția estimată a adulților în Europa care au vorbit despre cefalee, este de 51%, celor cu migrenă – 13,7% (femei – 16,6%, bărbați – 7,5%), cu cefalee cronică – 3,5% (femei – 4,8%, bărbați – 1,9%) [4]. În SUA migrena afectează în mediu 15% dintre adulți (femei – 17% și bărbați – 6%) [2].

### Material și metode

S-a utilizat o strategie de căutare detaliată pentru a găsi meta-analize relevante, recenzii sistematice și studii

clinice controlate, dublu-orb, randomizate. Drept material de studiu au servit articole din ultimii ani publicate pe plan interanțional.

Scopul acestui studiu este de a oferi o evaluare actualizată a probelor în tratamentul farmacologic specific al migrenei acute.

### Rezultate și discuții

O cercetare epidemiologică amplă a cefaleelor a fost realizată recent și în Republica Moldova în mediul urban și rural în baza unui chestionar standardizat cu utilizarea noilor criterii de diagnostic ale cefaleelor primare (CITC-II, 2004). Au fost intervievate la domiciliu 2510 persoane. S-au obținut date preliminare vizând cefaleele primare la adulți la ambele sexe: 22% – prevalența migrenei în mediul rural și 24% – prevalența cefaleei tensionale. În mediul urban prevalența migrenei a constituit 18%, iar a cefaleei tensionale – 26%. De asemenea, s-au estimat parametrii comorbidității algice și afective – frecvența diverselor sindroame algice asociate durerilor de cap, cât și a tulburărilor afective, care a constituit peste 55%.

Toate aceste persoane care au menționat prezența durerilor de cap de cele mai multe ori urmau un tratament desinestător, astfel că automedicația poate duce la diferite erori în tactica corectă de tratament antimigrenos. Pacienții tratează simptomele, dar nu și cauza durerii, crescând în așa mod probabilitatea farmacorezistenței. Din studiul efectuat, cele mai frecvente grupe de preparate administrate anterior sunt:



- AINS + combinații - 41,9 %
- Ergotamină - 12,2 %
- Antagoniști serotoninergici - 5,4 %
- Amitriptilina, Diazepam, Fezam - 12,2 %
- Alte (în dependență de maladiile asociate) - 28,4 %

Tratamentul din staționar a cuprins mai multe preparate dintre care putem menționa cele mai frecvent întâlnite ca: Magneziu sulfat, Alprazolam, Dexametazon și Amitriptilina. Aceste preparate au fost prescrise la peste 30 de pacienți din 50. Alte medicamente indicate în proporție sumara de 28% sunt: Cianocobalamina (B<sub>12</sub>) 0,05% 1ml N10, Clonazepam 2 mg N30 tab; Eurovita + Fe drajee N30; Piridoxin clorhidrat (B<sub>6</sub>) 5% 1ml N10; Stilnox 10 mg N20; Triampur N50.

S-au efectuat mai multe cercetări privind farmacoterapia migrenei, în care s-au folosit o serie de strategii pentru estimare și tratament. Aceasta rămâne a fi o problemă până în prezent din cauza ca migrena poate fi prevenită, dar nu tratată definitiv.

Tratamentul migrenei poate include terapia de prevenire care vizează reducerea frecvenței și severității atacurilor de migrenă, precum și terapia acută utilizată pentru cuparea unui atac de migrenă. În asociere cu Societatea Americana de Cefaleea, Academia Americana de Neurologie (AAN) a publicat recent ghid pentru tratamentul preventiv.[5]

Analiza datelor literaturii în domeniul tratamentului migrenei a deosebit câteva nivele de studii în dependență de eficacitatea lor. Astfel de nivelul A - stabilite ca efective; nivelul B - probabil eficiente; nivelul C - posibil efective; nivelul U - dovezi contradictorii sau inadecvate pentru a sprijini sau a respinge utilizarea medicamentelor) pentru migrena acută. Medicamente specifice - triptani (almotriptan, eletriptan, frovatriptan, naratriptan, rizatriptan, sumatriptan [oral, spray nazal, injectabil, pastile transcutanate], zolmitriptan [oral sau spray nazal]) și dihidroergotamină (spray nazal, inhalator) sunt eficiente (nivel A). Ergotamină și alte forme de dihidroergotamină sunt, probabil eficiente (nivel B). Medicamente nespecifice eficiente includ acetaminofen, medicamente anti-inflamatoare nesteroidiene (aspirina, diclofenac, ibuprofen, naproxen și), opioide (butorfanol spray nazal), sumatriptan / naproxen, și combinația de acetaminofen / aspirină / cafeină (Nivel A). Ketoprofen, ketorolac intravenoas și intramuscular, flurbiprofen, magneziu intravenos (în migrena cu aură), și combinația de paracetamol, codeina / acetaminofen și tramadol / acetaminofen sunt probabil eficiente (Nivel B). Antiemetice proclorperazină, droperidol, clorpromazină, și metoclopramida de asemenea sunt categorizate ca preparate probabil eficiente (nivel B). Există dovezi inadecvate pentru butalbital și combinațiile cu butalbital, fenazonă, tramadol intravenos, metadonă, butorfanol sau meperidină injectabil, lidocaină intranasală, și corticosteroizi, incluzând dexametazonă (Nivel C). De asemenea la nivelul C se atribuie și grupul de pre-

parate spray-nazal ketorolac, acetaminofen intravenos, injecție clorpromazină, și granisetron intravenos. Există mai multe tratamente de migrenă acută pentru care dovezile sprijină eficacitatea.

Clinicienii trebuie să ia în considerare eficacitatea medicației, efectele adverse potențiale și potențialele evenimente adverse legate de medicamente atunci când se prescrie medicamente pentru migrena acută. Cu toate că opiaceele, cum ar fi butorfanol, codeina / acetaminofen, și tramadol / acetaminofen, sunt probabil eficiente, ele nu sunt recomandate pentru utilizarea regulată. Terapia modernă a migrenei este actualmente bazată pe triptani, dar la moment sunt destul de multe molecule din această grupă, de aici devine interesantă care este cea mai bună, sau care se dovedește eficientă. Studiile analizate ne-au dat următoarele rezultate de eficacitate comparativ cu grupul placebo:

**Almotriptan** - subiecții care au primit câte 2 mg, 6.25 mg, 12.5 mg, și 25 mg durerea de cap a trecut timp de 2 ore la 30%, 56.3%, 58.5%, și 66.5%, respectiv, comparativ cu 32.5% placebo grup (P < .05 pentru 6.25 mg, 12.5 mg, și 25 mg) [6]

**Eletriptanul** - a demonstrat superioritate față de placebo, în dozele de 20 mg, 40 mg și 80 mg. Subiecții din primul studiu care au primit preparatul durerea de cap s-a ameliorat în decursul a 2 ore la 64%, 67% și respectiv 76%. Toate dozele studiate au fost superioare comparativ cu răspunsul placebo, de 51% (P < .05). Al doilea studiu a arătat alinarea dureri de cap la 47%, 62% și 59% pentru 20 mg, 40 mg și doza de 80 mg, respectiv, comparativ cu 22% pentru placebo (p < .01).[7]

**Frovatriptan** - s-a raportat că doza de 2,5 mg este mai eficientă decât placebo cu 40% față de 23%, p < 0.001. [8]

**Naratriptan** - un studiu a evaluat doza de 2,5 mg comparativ cu placebo în tratamentul migrenei apărute în menstruație. Durerea a dispărut în 4 ore la 58% față de 30% la placebo administrare; p = .004).[9]

**Rizatriptan** - utilizarea dozei de 5 mg și 10 mg, comparativ cu placebo, a ameliorat durerea de cap la 2 ore cu 74%, 59% și 28% în 10 mg, 5 mg, și grupul placebo respectiv (p < .01).[10]

**Sumatriptanul** - eficacitatea a fost de 51,1% și 66,2% dintre subiecți la care a trecut cefaleea în două ore la administrarea a 50 și 100 mg grupe, comparativ cu 19.6% dintre subiecții care s-au tratat cu placebo (p < 0.001).[11]

**Sumatriptan/Naproxen Sodium** - o combinație fixă de 85 mg sumatriptan și naproxen 500 mg, împotriva sumatriptan 85 mg în monoterapie, naproxen sodiu 500 mg în monoterapie, și fata de placebo. Studiul a arătat rezultatele de 34% pentru 85 mg sumatriptan/naproxen sodiu 500 mg în combinație, comparativ cu 25% pentru sumatriptan 100 mg, 15% pentru naproxen 500 mg și 9% pentru placebo. Combinația a fost superior sumatriptan singur (P = 0.009), naproxen, și placebo (P < 0.001).[12]

**Zolmitriptan** – trecerea dureri de cap, timp de 24 de ore cu zolmitriptan de 5 mg a fost superior față de placebo (42,5% față de 16,4%,  $p < 0.0001$ ).[13]

Alte medicamente mai vechi continua sa fie utilizate datorită eficacității clinice dovedite, astfel:

**Dihidroergotamina** – studiul a demonstrat eficacitate dozei de 0,5 mg comparativ cu placebo, rezultatul fiind la două ore de 72% la 33% pentru placebo ( $P = .019$ ). [14]

**Acetaminofen** – a fost mai superioară în ceea ce privește ameliorarea dureri de cap la 2 ore în 50,9% față de 27% placebo;  $p = 0.008$ . [15]

**Clorpromazina** – utilizată în cuparea urgentă a migrenei, administrată intravenos 0,1 mg/kg, a fost eficientă în 46% comparativ cu 7% placebo, la 30 minute, și de 82% comparativ cu 15% în placebo, la 60 minute ( $P < .05$ ). [16]

Ibuprofen – studiu comparativ dintre doza de 200 mg, 400 mg și placebo a arătat un rezultat la două ore de 41,7%, 40,8% și respectiv de 28,1%. [17]

**Tramadol/Acetaminofen** – combinația eradică durere de cap la 2 ore în 22,1% cazuri, net superior față de 9,3% placebo;  $p < 0.001$ . [18]

**Ketorolac** – studiul a arătat o diferență nesemnificativă comparativ cu placebo, rezultatul fiind de 18% față de 10% ( $p=0,17$ ). [19]

**Tratamente aflate în studiu:** Toxina botulinică A -25 U; Candesartan; Zonisamid; Tizanidine; Olazapine; Stereoizi neuroactivi (ganaxolone); Octreotidul; Inhibitori ai sintetazei oxidului nitric (546C88).

În conformitate dovezile evaluate din studiile clinice efectuate, medicamente specifice în tratamentul migrenei în ordine descreșterii eficacității lor, avem următoarele clase: triptanii, derivați de ergotamina, medicamente anti-inflamatorii nesteroidice (AINS), opiaceele și medicamente combinate. O serie de alte medicamente sunt „probabil eficient” sau „posibil eficient” enumerate mai sus.

Această evaluare sistematică a literaturii de specialitate nu oferă instrucțiuni cu privire la medicamentele care ar trebui să fie utilizate în tratamentul migrenei pentru un anumit pacient. Cu toate că un clinician ar dori să prescrie un medicament antimigrenos, care are dovezi puternice în sprijinul eficacității sale, efectele secundare potențiale, specifice fiecărui pacient în parte, contraindicațiile pentru anumite medicamente și interacțiunile medicamentoase posibile, toate trebuie să fie luate în considerare atunci când se alege o medicație

antimigrenosă corectă și modernă. În practica clinică, tratamentul poate fi asociată cu fenomene adverse grave, cum ar fi toleranța și dependența la opiacee și barbiturice sau ulcer peptic și boală renală în cazul AINS, sau agravarea migrenei la utilizare excesivă a medicamentelor. Astfel, clasificarea unui medicament de nivel A, dovadă a eficacității lui, nu înseamnă neapărat că medicamentul ar trebui să fie considerat un preparat de prima linie pentru tratamentul migrenei acute. De exemplu, deși sprayul nazal butorfanol are dovezi puternice pentru superioritatea față de placebo, acest medicament este de obicei evitat din cauza problemelor privind dependența și dezvoltarea cefaleei ca rezultat a utilizării excesive.

Societatea Canadiană de cefalee recomandă 12 medicamente ce au primit o recomandare semnificativă pentru utilizare în terapia migrenei acute (almotriptan, eletriptan, frovatriptan, naratriptan, rizatriptan, sumatriptan, zolmitriptan, ASA, ibuprofen, naproxen, diclofenac de potasiu și acetaminofen). Patru au primit o recomandare slabă pentru utilizare (dihidroergotamină, ergotamină, care conțin codeina combinate cu analgezice și tramadol). Trei dintre acestea nu au fost recomandate pentru utilizarea de rutină (ergotamină și medicamente care conțin codeine și tramadol). Recomandări importante s-au făcut pentru a evita utilizarea de medicamente care conțin butorfanol și butalbital. Metoclopramidă și domperidonă au fost recomandate pentru utilizare atunci când este necesar.

### Concluzii

În conformitate cu această analiză sistematică a literaturii și clasificarea structurată a dovezilor obținute, medicamente specifice și moderne în tratamentul migrenei sunt din următoarele grupe farmacologice, ce sunt considerate „eficace” pentru terapia antimigrenosă: triptani, derivați de ergotamina, AINS, opioide, precum și unele medicamente combinate. O serie de alte medicamente sunt considerate „probabil eficient” sau „posibil eficient”. Această bază de dovezi pentru eficacitatea medicației trebuie luată în considerare împreună cu potențialele efecte secundare ale medicamentelor, potențialele efecte adverse, contraindicații specifice pacientului pentru utilizarea unui anumit medicament, și de interacțiunile medicamentoase atunci când se decide care medicament poate fi prescris pentru tratamentul unui atac de migrenă.

### Bibliografie

1. Bigal ME., Lipton RB, Concepts and mechanisms of migraine chronification. *Headache*, 2008; 48:7-15.
2. Stovner LJ, Hagen K, Jensen R, Katsarava Z, Lipton RB, Scher AI, Steiner TJ & Zwart J-A, The global burden of headache: a documentation of headache prevalence and disability worldwide. *Cephalalgia*, 2007; 27:193-210.
3. Stovner LJ, Zwart J-A, Hagen K, Terwindt GM & Pascual J, Epidemiology of headache in Europe. *European Journal of Neurology*, 2006; 13: 333-345.
4. The International Classification of headache disorders, 2nd edition. *Cephalalgia*, 2004; 24 (Suppl 1):1-160.

5. Holland S, Silberstein SD, Freitag F, Dodick DW, Argoff C, Ashman E. Evidence-based guideline update: NSAIDs and other complementary treatments for episodic migraine prevention in adults: Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Headache Society. *Neurology*. 2012;78:1346-1353.
6. Dahlof C, Tfelt-Hansen P, Massiou H, Fazekas A. Dose finding, placebo-controlled study of oral almotriptan in the acute treatment of migraine. *Neurology*. 2001;57:1811-1817.
7. Eletriptan Steering Committee. Efficacy and safety of eletriptan 20 mg, 40 mg and 80 mg in Japanese migraineurs. *Cephalalgia*. 2002;22:416-423 (Sheftell F, Ryan R, Pitman V).
8. Efficacy, safety, and tolerability of oral eletriptan for treatment of acute migraine: A multicenter, double-blind, placebo-controlled study conducted in the United States. *Headache*. 2003;43:202-213.
9. Rapoport A, Ryan R, Goldstein J, Keywood C. Dose range-finding studies with frovatriptan in the acute treatment of migraine. *Headache*. 2002;42(Suppl. 2): S74-S83.
10. Massiou H, Jamin C, Hinzelin G, Bidaut-Mazel C. Efficacy of oral naratriptan in the treatment of menstrually related migraine. *Eur J Neurol*. 2005; 12:774-781.
11. Ahrens SP, Farmer MV, Williams DL, et al. Efficacy and safety of rizatriptan wafer for the acute treatment of migraine. Rizatriptan Wafer Protocol 049 Study Group. *Cephalalgia*. 1999;19:525-530.
12. Carpay J, Schoenen J, Ahmad F, Kinrade F, Boswell D. Efficacy and tolerability of sumatriptan tablets in a fast-disintegrating, rapid-release formulation for the acute treatment of migraine: Results of a multicenter, randomized, placebo-controlled study. *Clin Ther*. 2004;26:214-223.
13. Brandes JL, Kudrow D, Stark SR, et al. Sumatriptan-naproxen for acute treatment of migraine: A randomized trial. *JAMA*. 2007;297:1443-1454.
14. Spierings EL, Rapoport AM, Dodick DW, Charlesworth B. Acute treatment of migraine with zolmitriptan 5 mg orally disintegrating tablet. *CNS Drugs*. 2004;18:1133-1141.
15. Aurora SK, Rozen TD, Kori SH, Shrewsbury SB. A randomized, double blind, placebo-controlled study of MAP0004 in adult patients with migraine. *Headache*. 2009;49:826-837.
16. Lipton RB, Baggish JS, Stewart WF, Codispoti M. Efficacy and safety of acetaminophen in the treatment of migraine: Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled, population-based study. *Arch Intern Med*. 2000;160:3486-3492.
17. Bigal ME, Bordini CA, Speciali JG. Intravenous chlorpromazine in the emergency department treatment of migraines: A randomized controlled trial. *J Emerg Med*. 2002;23:141-148.
18. Codispoti JR, Prior MJ, Fu M, Harte CM, Nelson EB. Efficacy of nonprescription doses of ibuprofen for treating migraine headache. A randomized controlled trial. *Headache*. 2001;41:665-679.
19. Silberstein SD, Freitag FG, Rozen TD, et al. Tramadol/acetaminophen for the treatment of acute migraine pain: Findings of a randomized, placebo-controlled trial. *Headache*. 2005;45:1317-1327.
20. Pfaffenrath V, Fenzl E, Bregman D, Farkkila M. Intranasal ketorolac tromethamine (SPRIX(R)) containing 6% of lidocaine (ROX-828) for acute treatment of migraine: Safety and efficacy data from a phase II clinical trial. *Cephalalgia*. 2012;32:766-777.
21. Worthington I1, Pringsheim T, Gawe1 MJ, Gladstone J, Cooper P, Dilli E, Aube M, Leroux E, Becker WJ; Canadian Headache Society Acute Migraine Treatment Guideline Development Group. Canadian Headache Society Guideline: acute drug therapy for migraine headache. *Can J Neurol Sci*. 2013 Sep;40(5 Suppl 3):S1-S80.
22. Becker WJ. Acute Migraine Treatment. *Continuum (Minneapolis)*. 2015 Aug;21(4 Headache):953-72. doi: 10.1212/CON.000000000000192.
23. Marmura MJ1, Silberstein SD, Schwedt TJ. The acute treatment of migraine in adults: the American Headache Society evidence assessment of migraine pharmacotherapies. *Headache*. 2015 Jan;55(1):3-20. doi: 10.1111/head.12499.

## TERAPIA MODERNĂ DE SUBSTITUȚIE ENZIMATICĂ ÎN PANCREATITA CRONICĂ

### ENZYME REPLACEMENT MODERN THERAPY IN CHRONIC PANCREATITIS

Rău Anastasia, Cerlat Sergiu

Catedra de farmacologie și farmacie clinică, IP USMF "Nicolae Testemițanu", Republica Moldova

**Rezumat.** Pancreatita cronică devine cu anii o patologie tot mai actuală datorită schimbării semnificative a rației alimentare a omului modern comparativ cu mecanisme standarde și vechi a funcției pancreatice, ceea ce și duce ulterior la incapacitatea pancreasului de a satisface noile cerințe cu epuizarea lui ulterioară atât în plan endocrin cât și în cel exocrin. Studiul efectuat subliniază patologia exocrină și metodele contemporane de tratament utilizate. Din păcate, tratamentul efectuat de populație este unul incorect ce în mare parte duce ulterior la complicații grave.

**Cuvinte cheie:** enzimoterapie, pancreatină, pancreatită cronică.

**Abstract.** Chronic pancreatitis becomes for the years a more current pathology because of the significant change of food ration of modern man versus standards and old mechanisms of pancreatic function, which and subsequently result in the inability of the pancreas to satisfy the new requirements, with exhaustion of further both type of secretion, endocrine and exocrine. The performed study highlights the exocrine pathology and contemporary methods of treatment. Unfortunately the treatment is performed incorrectly by population which mostly led to serious complications later.

**Keywords:** enzymatic therapy, pancreatin, chronic pancreatitis

#### Introducere

Insuficiența pancreatică exocrină (IPE) este o afecțiune gravă care apare în mai multe boli, inclusiv PC, fibroza chistică, cancer pancreatic și ca urmare a chirurgiei pancreatice. Lipsa sau absența enzimelor pancreatice conduce la o absorbție inadecvată de grăsimi, proteine și carbohidrați, cauzând steatoree și creatoree ceea ce duce la disconfort abdominal, pierderea în greutate și deficit nutrițional. Pentru a evita morbiditatea și mortalitatea legată de malnutriție, este esențial începerea terapiei de substituție enzimatică a pancreasului imediat ce IPE este diagnosticată. Prevenirea factorilor ca: inactivarea acidă precoce a enzimelor ingerate, subdozarea și necorespunderea pacientului, pot preveni normalizarea absorbției nutrienților, în special a digestiei grăsimilor.

Conform datelor OMS, pe parcursul ultimilor 20 de ani, mortalitatea prin pancreatită cronică (PC) este în creștere continuă. Patologia pancreasului deține unul dintre locurile primordiale printre maladiile tractului digestiv. Pancreatita cronică este o afecțiune inflamatoare-distructivă a pancreasului de diferită geneză, cu evoluție cronică progresivă, în faze, caracterizată prin schimbări morfologice ireversibile ale țesutului pancreatic, cu dereglări de diferit grad ale funcțiilor pancreatice, exocrină și endocrină, cu durere abdominală specifică și/sau cu semne de insuficiență pancreatică. [1]

Incidența bolii se apreciază cu greu, deoarece distribuția geografică este neuniformă și depinde de factorii de risc major: alcoolismul și malnutriția. Pe studii necroptice variază între 0,01 și 5,4 % (în medie 0,3-0,4%), iar pe baza celor epidemiologice de la 3,5-4,0 până la 27,4/100 000 de locuitori (în țările vestice morbiditatea

prin PC este legată de consumul de alcool, iar în țările tropicale – în legătură cu malnutriția). Boala evoluează la o vârstă medie (35-50 ani) și este mai des întâlnită la bărbați decât la femei. [2]

La categoria de pacienți diagnosticați cu PC, din cauza insuficienței secreției exocrine a pancreasului, apare necesitatea enzimoterapiei de substituție. La ora actuală, există o diversitate mare de preparate cu conținut enzimatic ce pot fi administrate cu scopul substituirii funcției exocrine a glandei pancreatice. Acestea pot fi clasificate în dependență de: activitatea fermenților (UI), forma farmaceutică (comprimate gastrorezistente, capsule cu conținut de pelete enterosolubile). Pentru asigurarea unui efect terapeutic maximal este necesară alegerea corectă a formei farmaceutice a preparatului și a dozei optime. Deoarece pentru satisfacerea completă a funcției exocrine cantitatea de enzime active ajunse în organism trebuie să fie suficiente pentru degradarea alimentelor consumate.

#### Materiale și metode

Căutarea și sistematizarea mai multor studii randomizate și reviuiri ale literaturii științifice în domeniul tratamentului pancreatitei cronice.

#### Rezultate obținute și discuții

Scopul de bază în terapia de substituție enzimatică – asigurarea cantității suficiente de enzime active pancreatice în compartimentul proximal al duodenului pentru preîntâmpinarea sau înlăturarea insuficienței exocrine a pancreasului. Ca și orice tratament corect, se începe cu unul conservator care include dieta cu conținut redus de



grăsimi, analgezice non narcotice, renunțarea la alcool și fumat.

Tratamentul medicamentos modern are ca scop determinant digerarea grăsimilor, ele fiind ca un indiciu al eficacității medicației. Pentru un tratament adecvat trebuie să cunoaștem cantitatea fiziologică de enzime pancreatice secretate la un om sănătos. Secreția pancreatică de enzime crește rapid ca răspuns la masă de până la 6 ori peste nivelurile interdigestive și atinge valori maxime în timp de 20-60 min postprandial. Debitul enzimatic ulterior scade la 3 până la 4 ori mai mare comparativ cu nivelul de bază, care se menține timp de 3-4 ore, înainte de a reveni la nivelul interdigestiv. Acest model postprandial înseamnă că o putere maximă de 3000-6000 UI / min, lipază și o putere medie de 2000-4000 UI / min lipază apar după ingestia unei mese mixte normale la subiecții sănătoși. Terapia de substituție enzimatică trebuie să fie în măsură să imite acest model în situații de insuficiență pancreatică exocrină.

Utilizarea enzimelor pancreatice până în prezent rămâne metoda de bază în tratamentul malabsorbției. Indicația de bază pentru utilizarea terapiei de substituție enzimatică este eliminarea cu masele fecale a mai mult de 15 g de lipide în 24 ore, prezența diareii și steatoreei persistente la bolnavii cu manifestări dispeptice, persistarea maldigestiei.

Preparatele moderne cu conținut de pancreatină sunt proiectate ca microsfere rezistente la aciditatea gastrică, pH sensibil. Folosind astfel de preparate, majoritatea pacienților vor reduce steatoreea lor la <15 g grăsimi pe zi în timpul utilizării a 25,000-40,000 UI de lipază pe masă, dar în anumite cazuri pot fi necesare doze mai mari, în funcție de dimensiunea mesei și severitatea bolii. Eficacitatea terapiei de substituție enzimatică este influențată de denaturarea lipazei de acidul gastric, moment impropriu enzimelor, coexistența maladiilor ale mucoasei intestinale, tranzitul intestinal rapid și efectele diabetului zaharat.

Doza preparatelor enzimatică se alege ținând cont de gradul de exprimare a insuficienței exocrine a pancreasului și de forma nozologică a bolii. În tratarea pacienților cu PC doza de lipază în preparatele enzimatică trebuie să nu fie mai joasă decât 6000 UI, în caz de necesitate ea trebuie majorată până la 25000-30000 UI în zi. În PC cu steatoree accentuată, inițial doza nictemerală de fermenți pentru bolnavii adulți constituie în medie de la 30000 UI la 150000 UI. În același timp, în insuficiență exocrină pancreatică totală doza de preparat enzimatic poate fi mărită până la necesitatea zilnică a bolnavului, care într-o anumită măsură depinde și de masa pacientului. [3].

Studiul efectuat de Pongprasobchai S. recomandă doza de lipază la o masă de 40 000 UI. Pacienții care nu răspund la terapia de substituție este necesar să verifice complianța la tratament, creșterea dozei de lipază la 90.000 de unități / masă sau co-terapia cu inhibitor al pompei de protoni. La pacientul cu intervenții chirur-

gicale gastro-intestinale anterioare, pot încerca amestecarea enzimelor cu alimentele, deschiderea capsulelor și administrarea granulelor de enzime cu mesele. În cele din urmă, se caută sindromul intestinului subțire, suprainfecție bacteriană sau alte cauze de malabsorbție.

Se recomandă capsule gastrorezistente, care conțin minimicrosfere sau minicomprimate de pancreatină, cu  $d < 2$  mm, acoperite cu membrană enterosolubilă. Aceasta permite de a nu utiliza co-terapia cu preparate hipoa-cide. Timpul cel mai optim de administrare a enzimelor este dovedit a fi împreună cu alimentele. Industria farmaceutică contemporană permite utilizarea enzimelor în forme farmaceutice ce satisfac cerințele impuse.

Doza de pancreatină se determină cel mai corect individual, inițial – 10000-25000 UI lipază, per os, în timpul mesei x 3 ori/zi; la necesitate, doza se mărește. Pentru menținerea activității fermenților pancreatici cea mai admisibilă valoare a pH trebuie să fie mai mare de 6 (la pH mai mic de 4 lipaza își pierde activitatea). În legătură cu aceasta, administrarea concomitentă a inhibitorilor pompei de protoni sau a antagoniștilor H<sub>2</sub>-receptorilor poate mări acțiunea fermenților pancreatici, de asemenea, poate reduce durerea. Enzimele pancreatice în formă tabletată sunt indicate în tratamentul sindromului dolo[r]. [1]

**Tabelul 1. Dozări de enzime pancreatice la copii cu insuficiență pancreatică exocrină. [4]**

Grupul de vârstă	Doza	Ajustarea dozei
Sugari	2000-4000 PhEurU lipază/120 ml de amestec lactat sau la fiecare alimentare	măriți cu 2000-2500 U de lipază la fiecare alimentare, dacă crește volumul ingerat sau dacă revin simptomele malabsorbției
Copii < 4 ani	1000-2000 PhEurU lipază/kg/priză alimentară	Gustări: jumătate din doza pentru o masă normală
Copii > 4 ani	500-2000 PhEurU lipază/kg/priză alimentară	Gustări: jumătate din doza pentru o masă normală

Pancreatita cronică la copii se caracterizează prin: maldigestie cu meteorism abdominal, diaree cu steatoree, retard ponderal. Tratamentul medicamentos este complex, în funcție de gravitatea maladiei. Nemijlocit pentru suplinirea funcției exocrine se aplică enzimoterapia de substituție: Dozarea preparatului este în funcție de vârsta copilului, caracterul alimentației și gradul de steatoree.

În urma studiului pieței farmaceutice autohtone, am evaluat existența pe piață a preparatelor medicamentoase enzimatică (denumiri comerciale), formele farmaceutice, dozele de enzime. Rezultatele sânt prezentate în Tabelul 2.

Tratamentul de succes este determinat clinic de creșterea în greutate și consistența masele fecale.



Tabelul 2. Preparate medicamentoase enzimatiche existente pe piața farmaceutică în Republica Moldova, 2016

Compoziția Poliferment	Diametrul peletelor	Lipază UI	Amilază UI	Protează UI
Pangrol 10000 (f.m. capsule cu minicomprimate enterosolubile)	2 mm	10000	9000	500
Pangrol 25000 (f.m. capsule cu minicomprimate enterosolubile)	2 mm	25000	22500	1250
Kreon 10000 (f.m. capsule cu minimicrosfere enterosolubile)	< 2 mm	10000	8000	600
Kreon 25000 (f.m. capsule cu minimicrosfere enterosolubile)	< 2 mm	25000	18000	1000
Panzynorm 10000 (f.m. capsule cu pelete gastrorezistente)	< 2 mm	10000	7200	400
Panzynorm 20000 (f.m. comprimate filmate gastrorezistente)		20000	12000	900
Pancreatin BPh 10000 (capsule cu pelete enterosolubile)	< 2 mm	10000	9000	1000
Pancreatin BPh 25000 (capsule cu pelete enterosolubile)	< 2 mm	25000		
Mezym forte 10000		10000	7500	375
Mezym forte		3500	4200	250
Agyzime (comprimate gastrorezistente)		6000	4500	300
Pancreatin Zdorovye		25		

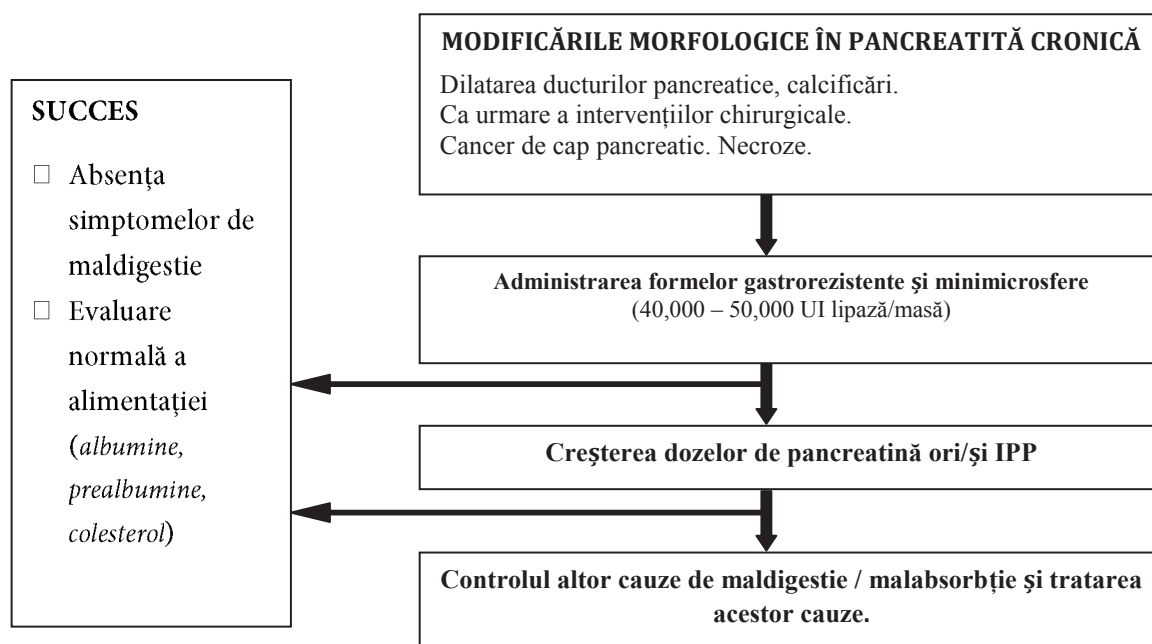


Fig. 1. Algoritm de tratament în pancreatita cronică.

### Concluzii

Datele literaturii confirmă faptul utilizării dozelor mai înalte de pancreatină pentru un tratament adecvat și eficient. Din păcate, în R. Moldova datorită situației economice precare populația nu își permite un tratament

calitativ, deși dispunem de medicamente ce satisfac întru totul necesitățile unei terapii moderne, din care cauză și procură pancreatină de 25 UI care nu are clinic nici o eficacitate. A fost determinată necesitatea efectuării unei terapii de substituție enzimatică cât mai corectă pentru a

elimina simptomele produse de insuficiența exocrină în pancreatita cronică. S-a demonstrat că pentru asigurarea unei amestecări rapide și omogene a fermenților cu chimul alimentar, preîntâmpinarea inactivării în stomac și

trecerea adecvată din stomac în duoden diametrul formei medicamentoase nu trebuie să depășească 2mm. Iar pentru a crește eficiența preparatele trebuie utilizate împreună cu alimentele.

---

### Bibliografie:

1. Protocolul clinic național "Pancreatita cronică la adult"
2. Gonciar V., Cazacu V., Dumbravă V.-T. În: Farmaco- și fitoterapia în gastroenterologie. Chișinău : Centrul Editorial-Poligrafic Medicina ; 2006
3. Л. Б. Лазебник, Ю. В. Васильев. Стандарты «Диагностика и лекарственная терапия хронического панкреатита» Московское соглашение, 4 марта 2009 года. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2009; 3 : 137-149
4. Protocolul clinic national "Pancreatita cronică la copil" PCN-195
5. Hammer HF. Pancreatic exocrine insufficiency: diagnostic evaluation and replacement therapy with pancreatic enzymes. Dig Dis. 2010;28(2):339-43. doi: 10.1159/000319411. Epub 2010 Sep 1.
6. Domínguez-Muñoz JE. Pancreatic exocrine insufficiency: diagnosis and treatment. J Gastroenterol Hepatol. 2011 Mar;26 Suppl 2:12-6. doi: 10.1111/j.1440-1746.2010.06600.x.
7. Sikkens EC1, Cahen DL, Kuipers EJ, Bruno MJ. Pancreatic enzyme replacement therapy in chronic pancreatitis. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2010 Jun;24(3):337-47. doi: 10.1016/j.bpg.2010.03.006.
8. Lerch MM1, Bachmann KA, Izbicki JR. [New guidelines on chronic pancreatitis : interdisciplinary treatment strategies]. Chirurg. 2013 Feb;84(2):99-105. doi: 10.1007/s00104-012-2373-z.
9. Mayerle J1, Hoffmeister A, Werner J, Witt H, Lerch MM, Mössner J. Chronic pancreatitis--definition, etiology, investigation and treatment. Dtsch Arztebl Int. 2013 May;110(22):387-93. doi: 10.3238/arztebl.2013.0387. Epub 2013 May 31.
10. Pongprasobchai S. Maldigestion from pancreatic exocrine insufficiency. J Gastroenterol Hepatol. 2013 Dec;28 Suppl 4:99-102. doi: 10.1111/jgh.12406
- 11.. Spînu A. Patologia pancreasului. În : A.Spînu, editor. Chirurgie. Chișinău : Firma editorial-poligrafică "Tipografia Centrală" ; 2000.
12. Instrucțiunile pentru administrare a preparatelor medicamentoase
- 13.Constantin Matcovschi, Vasile Procopișin, Boris Parii, Ghid farmacoterapeutic, Chișinău 2004
14. [www.rlsnet.ru](http://www.rlsnet.ru)
15. <https://ru.wikipedia.org/>

## BALSAMUL CURATIV – PROFILACTIC ”FĂT FRUMOS” ÎN PROFILAXIA CANCERULUI

### CURATIVE AND PREVENTIVE BALM ”FAT FRUMOS” IN CANCER PREVENTION

Carauș Vladimir

ÎM «Farmaco» SA, Chișinău, Republica Moldova

**Rezumat.** În articol este descrisă compoziția și proprietățile balsamului biologic natural «FĂT FRUMOS». Compoziția balsamului: rădăcini din lemn dulce, rizomi de obligeană, părți aeriene de sunătoare, părți aeriene de sovâr, frunze de izmă bună, părți aeriene de coada-șoarecelui, muguri de pin, vin tratat roșu de desert. Balsamul are efecte tonice, adaptogene, anxiolitice, promovează excreția radionucleidelor de  $^{137}\text{Cs}$ , normalizează coagularea sângelui, caracteristicile structurilor intracelulare a ficatului și circulației cerebrale a sângelui. Este indicat în profilaxia și tratamentul complex a bolilor cronice în urma radiațiilor, prevenirea bolilor profesionale asociate cu radiații nucleare, tratamentul și prevenirea sindromului astenic-vegetativ.

**Cuvinte cheie:** cancer, radiație ionizantă, plante medicinale, balsam curativ profilactic, radioprotector.

**Abstract.** This paper describes the composition and some biological properties of the natural balm „FAT FRUMOS”. The composition of „FAT-FRUMOS” balm is rendered by following components: underground part of oregano, St John s wort and milfoil, Sweet calamus rhizomes, peppermint leaves, pine buds and red dessert wine. The balm has a toning up action on central nervous system, improves the function of liver and especially, eliminates of radionucleoid  $^{137}\text{Cs}$  from organism. The balm normalizes the blood coagulation and circulation, prevents the hepatic and encephalic intercellular structures damage. The balm is recommended in prophylactic-curative cure, as radioprotectant remedy.

**Keywords:** natural balm, cancer, ionizing radiation, herbs, curative balm prophylactic radioprotectant.

#### Introducere

Printe fenomenele medico biologice ale umanității, în ultimele decenii o pondere majoră revine maladiilor neinfecțioase, inclusiv cancerul, aceasta determinând în mare măsură cauzele majorării într-o în continua ascensiune, a morbidității și mortalității pe glob. Conform datelor ONU și OMS circa 60% din cauzele mortalității pe glob prezintă maladiile neinfecțioase, iar conform pronosticului către anul 2020, cifra acestora va ajunge la 73 %. În fiecare an maladiile neinfecțioase, inclusiv cancerul, cauzează moartea a circa 19 mln. oameni pe mapamond. Totodată, între fenomenele demografice, ce țin de îmbătrânirea populației și majorarea maladiilor oncologice există o corelație directă prin creșterea cotei morbidității și mortalității prin tumori maligne în structura generală [10].

Cancerogeneza drept urmare a poluării radioactive a fost demonstrată la diferite grupuri sociale, radiația ionizantă declanșând practic toate formele de tumori maligne [2, 11]. Nici un alt agent care afectează viața sistemelor vii nu este mai agresiv decât radiațiile ionizante.

În ultimii ani, se acordă o atenție deosebită studiului diversificării gamei de produse radioprotectoare, cât și studierii mecanismului lor de acțiune. În calitate de remedii radioprotectoare care contribuie la intensificarea proceselor de eliminare a radionuclizilor și corecția alterărilor nefavorabile, cauzate de radiații pot fi cu succes utilizate unele din plantele medicinale [1; 7-8]. În opinia noastră, din șirul de compoziții de plante medicinale formulate în diverse suplimente alimentare, băuturi, balsamurile prezintă un interes aparte, în prepararea căroră se poate evita folosirea conservanților toxici. Prin

compoziția selectată adecvat și proprietățile curative și profilactice bine studiate, balsamurile sunt excepțional de utile în condițiile ecologice nefaste și, în special, la acțiunea radiației ionizante. Consumul permanent al acestor remedii naturale inofensive, poate să extindă considerabil abilitățile protectoare ale organismului, să preîntâmpine leziunile provocate de radiație, precum și afecțiunile oncologice.

În contextul problemei nominalizate, prin realizarea unor cercetări farmacologice și medico-biologice ample ne-am propus drept **scop**, elaborarea compoziției, tehnologiei de fabricare și a metodelor de analiză a unui balsam cu proprietăți curativ-profilactice polivalente, inclusiv cele radioprotectoare.

#### Rezultate și discuții

Suplimentul alimentar biologic activ cu proprietăți curativo-profilactice polivalente – balsamul “Făt-Frumos” întrunește un șir de compoziții formulate în baza racematelor alcoolice de plante medicinale [3-7; 9]. Balsamul conține părți aeriene de sovâr, sunătoare și coada șoricelului, rizomi de obligeană, frunze de mentă, muguri de pin, rădăcină de lemn dulce, precum și vin tratat roșu de desert, alcool etilic, alcool citric, zahăr și caramel. Compoziția chimică, indicațiile și contraindicațiile pentru administrarea plantelor medicinale din compoziția balsamului „Făt-Frumos” sunt bine studiate și cunoscute [12,13].

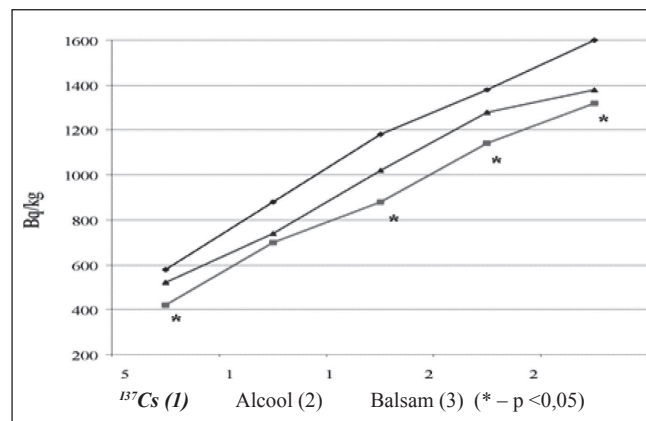
Selectarea reușită a ingredientelor conferă balsamului caracteristicile sale, mai mult ca atât le asigură efectele sinergice anume în această compoziție și în acest raport cantitativ, adică activitatea biologică a ansamblului de in-

grediente depășește suma efectelor acțiunii fiecăruia dintre ele, ceea ce asigură proprietăți farmacologice calitativ noi. Datorită combinației reușite dintre ingredientele balsamului se obține un gust organoleptic specific, totodată efectul curativ la combinarea acestor ingrediente sporește semnificativ.

Strategiile metodologice și cele experimentale de cercetare aplicate în cadrul unor ample investigații realizate pe loturi reprezentative de șobolani, șoareci și cobai (peste 700 de animale experimentale) au permis a prestabilii efectele medico-biologice, inclusiv cele radioprotectoare (sursă de agent radioactiv –  $^{137}\text{Cs}$ ) ale balsamului curativ profilactic „Făt-Frumos”.

La administrarea balsamului „Făt-Frumos” nu se determină efecte toxice asupra sistemului nervos central, sângelui și hematopoiezei, tractului gastrointestinal, ficatului, plămânilor și altor organe. La o concentrație activă de zece ori mai mare și la incubare îndelungată, balsamul „Făt-Frumos” nu induce efecte toxice asupra proceselor de regenerare și metabolismului secțiunilor creierului. În plus, acțiunea directă și îndelungată a balsamului cu conținut de etanol nu exercită efecte nocive sau negative asupra secțiunilor hipocampusului cu alterări funcționale cauzate de iradiere perinatală.

Tratarea animalelor cu izotopul de cesiu –  $^{137}\text{Cs}$  timp de 15 zile rezidă cu tulburarea funcțiilor organismului: se reduce timpul de coagulare a sângelui și crește activitatea enzimei marker al proceselor citolitice în ficat – alaninaminotransferaza, precum și cu alterări electromicroscopice: edem perivascular în țesutul cerebral, vacuolizarea citoplasmei hepatocitelor. Suplinirea cu balsamul „Făt-Frumos” a hranei animalelor tratate cu  $^{137}\text{Cs}$  conduce la o accelerare nesemnificativă a eliminării radionuclidului, similară nivelului înregistrat la animalele suplinate cu alcool pe fondul tratării  $^{137}\text{Cs}$  (Vezi figura), dar produce o ameliorare a indicilor funcțiilor afectate în urma tratării cu izotop (revenirea la nivel de normă a timpului de coagulare a sângelui și a activității alaninaminotransferazei) (Vezi tabelul). Confirmat histologic



**Figură.** Dinamica activității gama specifice (Bq/kg) a animalelor tratate cu  $^{137}\text{Cs}$  în loturile de animale hrana cărora a fost suplimentată cu balsamul „Făt-Frumos” și fără acest supliment.

și electromicroscopic prin acțiunea balsamului dispar complet alterările structurilor subcelulare hepatice, precum și se reduc cele distructiv-distrofice în ultrastructura altor organe afectate de izotopul de cesiu –  $^{137}\text{Cs}$ .

Totodată, **balsamul „Făt-Frumos”** înlătură definitiv modificările negative în activitatea nervoasă superioară a animalelor, provocată de stres, exercită efect tonifiant, reducând cu 10% durata somnului survenit în urma administrării barbituricelor și absența modificărilor concludente ale indicatorilor tensiunii arteriale, electrocardiografici, respirației și reacțiilor de răspuns la acțiunea hipoxiei de barocameră.

Astfel, balsamul „Făt-Frumos” ce conține un cupaj de plante medicinale selectate în raporturi optime este un produs original natural lipsit de efecte toxice, cu proprietăți medico-biologice bine definite care contribuie la eliminarea radionuclizilor, atenuarea consecințelor negative ale stresului, redresarea atât a funcției organelor, cât și a ultrastructurii celulare. Produsul poate fi utilizat în diverse cure curativ-profilactice, inclusiv în profilaxia cancerului, în calitate de remediu radioprotector.

**Tabel.** Unii indici biochimici ai sângelui la șobolanii albi experimentali tratați cu  $^{137}\text{Cs}$  și la acțiunea balsamului „Făt-Frumos”

Condițiile de testare	Indicii biochimici			
	Timpul de coagulare a sângelui		Activitatea alaninaminotransferazei	
	Până la administrare	După 15 zile de administrare	Până la administrare	După 15 zile de administrare
<b>Martor</b>	99,0±6,3	103,3±5,2	1,53±0,09	1,56±0,03
<b>Balsam</b>	106,7±6,2	95,0±5,2	1,47±0,12	1,47±0,22
<b>Alcool</b>	101,7±6,2	112,3±8,4	1,37±0,13	1,60±0,12
$^{137}\text{Cs}$	108,3±6,2	42,7±3,7*	1,33±0,07	1,93±0,13*
$^{137}\text{Cs}$ și balsam „Făt-Frumos”	107,3±12,0	95,3±2,2	1,33±0,14	1,47±0,03
$^{137}\text{Cs}$ și alcool etilic	101,7±6,7	55,0±5,3*	1,60±0,15	1,83±0,12*

Notă: \*P<0, 05 comparativ cu lotul martor.

**Bibliografie:**

1. Baliga M. S., Rao S. Rai M.P., D'souza P. Radio protective effects of the Ayurvedic medicinal plant *Ocimum sanctum Linn.* (Holy Basil): A memoir. *J Cancer Res Ther.* 2016, vol.12, no. 1, p.20-27.
  2. Brooks A. L., Hoel D. G., Preston R.J. The role of dose rate in radiation cancer risk: evaluating the effect of dose rate at the molecular, cellular and tissue levels using key events in critical pathways following exposure to low LET radiation. *Int J Radiat Biol.* 2016, vol.7, p.1-22.
  3. Brevet de invenție MD nr.1702. Compoziție de ingrediente pentru obținerea balsamului curativo-proflactic. / Carauș V., Haraber P. Publ. BOPI 7/2001.
  4. Brevet de invenție MD nr. 2103. Compoziție de balsam. / Carauș V., Publ. BOPI 2/2003.
  5. Brevet de invenție MD nr. 2383. Compoziție de balsam. / Carauș V., Taran N., Publ. BOPI 2/2004.
  6. Brevet de invenție MD nr. 2384. Compoziție de balsam. / Carauș V., Taran N., Mereuță I., Publ. BOPI 2/2004.
  7. Carauș V. Unele aspecte a procesului tehnologic de pregătire a balsamului Făt-Frumos". Tehnica și tehnologiile medicale în R. Moldova. Conferința a II-a științifico-practică a Asociației Tehnică și tehnologii tehnico-medicale din RM (ATTM), Chișinău, 2004, p. 234.
  8. Carauș V. Unele aspecte ale utilizării fitopreparatelor în scopuri curativ-proflactice. Mat. Conf. a X –a "Bioetică și Medicină", Chișinău, 2005, p. 236.
  9. Certificat de înregistrare a mărcii nr. 24744. „Făt Frumos”, eliberat de AGEPI la 25.10.2013.
  10. Mereuță I., Sofroni D., Carauș V., Morar A. Profilaxia cancerului: Balsamurile curativ-proflactice. Chișinău: S.n., 2015. 112 p.
  11. Виленчик М. М. Радиобиологические эффекты и окружающая среда. М.: Энергоатомиздат, 1991. 159 с.
  12. Ковалева Н. Г. Лечение растениями. М.: Медицина, 1971. 351 с.
  13. Ладынина Е. А., Морозова Р. С. Фитотерапия. Ленинград: Медицина, 1987. 208 с.
-



## Ghid pentru autori

### 1. Tipurile de manuscrise

Revista Farmaceutică a Moldovei publică manuscrise recenzate din orice domeniu al farmaciei. Volumul lucrărilor nu trebuie să depășească 10 pagini. Numărul figurilor nu trebuie să fie mai mare de 9 și numărul referințelor nu mai mare de 50.

Manuscrisele vor fi recenzate de referenți anonimi. Autorii pot să sugereze numele recenzentului, dar alegerea va rămâne prerogativa redacției.

### 2. Criterii pentru publicare

Articolele originale trebuie să conțină cercetări noi (originale), rezultatele cărora contribuie la acumularea de noi cunoștințe în domeniul publicat și cu condiția că rezultatele prezentate nu au mai fost publicate înainte sau nu sunt depuse, în paralel, la o altă revistă, în vederea publicării.

### 3. Prezentarea manuscrisului

Manuscrisele trebuie să fie prezentate doar în formă electronică, în limba română sau engleză.

Manuscrisele vor fi depuse pe numele redactorului șef Vladimir Safta, dr. hab., prof., catedra Farmacia Socială "Vasile Procopișin", Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, pe adresa:

str. N. Testemițanu 22  
MD-2025, Chișinău, Republica Moldova  
Telefon: (+37322)727822, 205492  
e-mail: vnsafta@gmail.com

Manuscrisele vor fi însoțite de o scrisoare de la numele autorului, responsabil pentru corespondență. Scrisoarea va conține afirmația, că toți autorii sunt de acord cu conținutul și că materialele date nu s-au publicat anterior.

### 4. Formatul Fișierelor

Se acceptă următoarele formate de text pentru manuscrisul principal: Microsoft Word (97, 2003, 2007, 2010), “.doc”, “.docx” și următoarele formate pentru imagini: “.jpeg”, “.tiff”.

### 5. Structura manuscrisului

Caracterele folosite vor corespunde următoarelor cerințe: Times New Roman 12 la 1,5 intervale și cu marginile 2 cm pe toate laturile. Manuscrisul trebuie să conțină următoarele compartimente:

**TITLUL (ROMÂNĂ)**

**TITLUL (ENGLEZĂ)**

**Numele și prenumele complete ale autorilor**

Instituția reprezentată

**Rezumat**

**Cuvinte cheie**

**Introducere**

**Materiale și metode**

**Rezultate și discuții**

**Concluzii**

**Referințe**

### Rezumatul

– trebuie să ofere un sumar concis al scopului, obiectivelor, rezultatelor semnificative și concluziilor studiului, în limitele la 350 de cuvinte.

### Cuvinte cheie

Enumerați 5-7 cuvinte cheie, care sunt reprezentative pentru conținutul articolului.

*Rezumatul și cuvintele cheie vor fi prezentate obligatoriu și în limba engleză.*

### Introducerea

– trebuie să ofere informații care să definească actualitatea problemei abordate și să explice de ce aceasta este importantă.

### Materiale și metode

În secțiunea „Materiale și metode” trebuie să fie descrise procedurile aplicate.

### Rezultate și discuții

Autorii trebuie să prezinte rezultate exacte, clar formulate și explicate.

Se va descrie impactul, relevanța și semnificația rezultatelor obținute. La necesitate se vor formula potențiale direcții viitoare de cercetare.

### Concluzii

Această secțiune trebuie să concludă laconic întregul studiu. În concluzii nu se vor oferi informații noi și nu se vor repeta cele prezentate în secțiunea „Rezultate”.

### Referințele

– vor fi scrise pe foi aparte la 1,5 intervale și vor fi numerotate în ordinea referinței în text. Stilul și punctuația referințelor vor corespunde reglementărilor (standardelor) naționale de perfectare a referințelor.

### Tabelele

Enumerarea tabelelor va fi consecutivă, cu cifre arabe, în ordinea primei lor citări în text, scris cu caractere grase (**bold**), alinierea – pe stânga, deasupra tabelului.

**Tabel 1.** Denumirea tabelului

Legende și note explicative vor fi făcute sub Tabel.

### Figurile

Figurile vor fi prezentate atât în manuscris, cât și pe fișiere separate. În manuscris, figurile vor fi numerotate consecutiv, cu cifre arabe, în ordinea citării lor în text. Numerotarea va fi scrisă abreviat (**Fig. 1**), cu caractere grase (**bold**), alinierea – pe stânga, sub figură.

**Fig.1** Denumirea figurii

**Foia de titlu** va conține denumirea deplină a articolului, prenumele și numele autorilor, titlul/gradul științific, instituția de unde vine lucrarea și prenumele, numele, adresa, numărul de telefon, adresa electronică a autorului cu care se va corespoda.

## Guide for authors

### 1. Type of Manuscripts

The Pharmaceutical Journal of Moldova publishes the review articles in any field related to pharmacy. Manuscripts should not exceed 10 pages. The total number of figures should exceed 9 and the number of references should not exceed 50.

Manuscripts will be reviewed by an anonymous independent referee. Authors may suggest name of expert reviewer, but selection remains the prerogative of the Editors. Manuscripts will be processed on the understanding that they have not been previously published in any language anywhere.

### 2. Criteria for publication

Original articles should contain new (original) results, which bring new knowledge in the field. The submitted manuscripts should contain data unpublished before and not submitted in parallel for publication to another journal.

### 3. Manuscript submission

Manuscripts must be submitted only in electronic form in Romanian or English. The manuscripts should be sent to Editor-in-Chief Vladimir Safta, Pharm. D, PhD, department of Social Pharmacy "Vasile Procopisin", State Medical and Pharmaceutical University „Nicolae Testemițanu”, address:

str. N. Testemițanu 22

MD-2025, Chișinău, Republica Moldova

Telefon: (+37322)727822, 205492

e-mail: vnsafta@gmail.com

Manuscripts must be accompanied by a covering letter from the corresponding author. The letter should contain a statement that the manuscript has been seen and approved by all authors and the material is previously unpublished.

### 4. Files format

The following file formats for manuscript text are accepted: Microsoft Word (97, 2003, 2007, 2010), "doc", "docx". Pictures should be submitted in one of the following formats: ". jpeg", ". tiff".

### 5. Organisation of manuscript

The used font: 12 pt Times New Roman, 1,5 line spacing, with 2 cm margins all around.

The manuscript should comprise the following sections:

**TITLE (ROMANIAN)**

**TITLE (ENGLISH)**

**Name and surname of authors**

Represented institution

**Abstract**

**Keywords**

**Introduction**

**Materials and methods**

**Results and discussions**

**Conclusions**

**References**

### Abstract

The abstract should provide a concise summary of the purpose, objectives, significant results and conclusions of the study. The summary text should not exceed 350 words.

### Keywords

List 5-7 keywords that are representative for the contents of the article.

### Introduction

– should provide information that would define the actuality of the addressed problem and explain why it is important.

### Materials and methods

"Materials and methods" section must present all applied procedures.

### Results and discussions

Authors must present results in a clear and accurate manner and describe the impact, relevance and significance of the obtained results for the field. If necessary, it could be draw potential future research directions.

### Conclusions

This section should conclude laconically entire study.

### References

– should be typed with a 1,5 space on a separate page and numbered consecutively in the order in which they are cited in the text. The style and punctuation of the references should conform to the national standards of writing references.

### Tables

Tables numbering will be done using consecutive Arabic numerals in the order of their first citation in the text; it should be written in **bold**, align to left and place above the table.

**Table 1.** Table name

Legends and notes will be place under the table.

### Figures

Figures will be included in the main manuscript, and also submitted as separate files. The manuscript figures should be numbered consecutively with Arabic numerals in the order of their citation in the text. Figure numbering will be written abbreviated (**Fig. 1**), using bold fonts, left alignment, and placed under the figure.

**Fig.1.** Figures name

**Title Page** should include the full title of the article, the full name and surname of each author (including qualifications), the affiliation of each author, for office purposes the title page should include the name and full mailing address, telephone number, fax number and email address of the corresponding author.

