

**MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII  
UNIVERSITATEA DE STAT „DIMITRIE CANTEMIR”**

Cu titlu de manuscris

C.Z.U 573.6 : 57.087

**CARAUȘ VLADIMIR**

**TEHNOLOGII DE OBȚINERE A PRODUSELOR CURATIVO-  
PROFILACTICE DIN MATERII PRIME DE ORIGINE  
VEGETALĂ AUTOHTONE**

**167.01. – BIOTEHNOLOGIE, BIONANOTEHNOLOGIE**

Teză de doctor în științe biologice

Autor:

Carauș Vladimir

Conducător științific:

Rudic Valeriu, doctor habilitat în  
științe biologice, profesor universitar,  
academician, specialitatea 167.01. –  
Biotehnologie, bionanotehnologie

CHIȘINĂU 2020

© Carauş Vladimir, 2020

## CUPRINS

ADNOTARE .....	5
LISTA FIGURILOR .....	8
LISTA TABELELOR .....	10
LISTA ABREVIERILOR .....	12
INTRODUCERE .....	13
1. PREPARATE CURATIVO-PROFILACTICE NATURALE .....	20
1.1 Produse naturale în medicină. Istorie și perspective .....	21
1.2. Fitopreparate curativo-profilactice în baza moleculelor unice și a amestecurilor .....	25
1.3. Elaborarea tehnologiilor de producere a noilor produse curativo profilactice naturale .....	29
1.4. Balsamurile curativo-profilactice .....	37
1.5. Concluzii la capitolul 1 .....	46
2. OBIECTELE DE STUDIU ȘI METODELE APLICATE ÎN CERCETARE .....	47
2.1. Obiectele de studiu .....	47
2.2. Metodele de cercetare .....	56
2.3. Concluzii la capitolul 2 .....	65
3. PROCEDEE DE OBȚINERE A EXTRACTELOR CU PROPRIETĂȚI ANTIOXIDANTE DIN MATERII PRIME VEGETALE .....	66
3.1. Procedee de extragere a componentelor antioxidante din biomasa vegetală .....	69
3.2. Procedee de extragere a componentelor antioxidante din biomasa de spirulină .....	83
3.3. Concluzii la capitolul 3 .....	94
4. ELABORAREA TEHNOLOGIILOR DE FABRICARE A PRODUSELOR CURATIVO-PROFILACTICE NOI .....	95
4.1 Elaborarea rețetelor balsamurilor curativo-profilactice noi .....	95
4.2. Elaborarea tehnologiei de fabricație a noilor balsamuri curativo-profilactice .....	99
4.3. Concluzii la capitolul 4 .....	116

5. EFECTELE BIOLOGICE ALE PRODUSELOR CURATIVO-PROFLACTICE NOI .....	117
5.1. Toxicitatea produselor curativo-profilactice noi .....	117
5.2. Efectele biologice ale balsamurilor curativo-profilactice noi în condiții standard și la acțiunea radiației ionizante .....	122
5.3. Efectele biologice ale balsamurilor în cancerul organelor reproductiv și glandei mamare .....	130
5.4. Concluzii la capitolul 5 .....	134
CONCLUZII GENERALE .....	135
BIBLIOGRAFIE .....	137
Anexe .....	160
Anexa 1. Brevete de invenție .....	161
Anexa 2. Acte de implementare .....	167
Anexa 3. Diplome la Saloane de Invenții și Expoziții Internaționale .....	173
Anexa 4. Certificat de înregistrare a balsamului Spirupotent de către MS al RM	178
Anexa 5. Certificat de înregistrare a mărcii, Moldova .....	179
Anexa 6. Certificat de înregistrare a mărcii, România .....	181
DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII .....	183
CV-ul AUTORULUI .....	184



## ADNOTARE

**Carauș Vladimir. "Tehnologii de obținere a produselor curativo-profilactice din materii prime de origine vegetală autohtone", teză de doctor în științe biologice, Chișinău, 2020**

Teza constă din introducere, 5 capitole, concluzii generale, bibliografie din 215 titluri, 6 anexe, 136 pagini de text de bază, 29 de figuri, 28 de tabele, rezultatele obținute sunt reflectate în 13 publicații.

**Cuvinte cheie:** produse curativo-profilactice, balsamuri, extracte hidro – etanolice, macerate, activitate antioxidantă, activitate biologică, radioprotector, afrodisiac.

**Scopul:** elaborarea de noi tehnologii de obținere a produselor cu proprietăți curativo-profilactice – balsamuri - în baza materiei prime vegetale autohtone și evidențierea efectelor lor biologice.

**Obiectivele:** Elaborarea procedeele eficiente de extragere a componentelor active din biomasa vegetală și cianobacteriană prin tehnologii prietenoase mediului; Elaborarea formulelor produselor curativo-profilactice noi pe bază de extracte din plante și biomasa cianobacteriană; Elaborarea tehnologiilor de fabricare a produselor curativo-profilactice noi; Evidențierea unor efecte biologice ale noilor produse curative-profilactice.

**Noutatea și originalitatea rezultatelor științifice:** A fost demonstrată eficiența utilizării valorilor activității antioxidante în calitate de criteriu de evaluare a performanțelor curativo-profilactice a produselor în bază de materii prime vegetale. A fost demonstrat efectul antioxidant acumulativ/sinergic al formulelor noi curativo-profilactice, obținute în baza extractelor vegetale și din spirulină și efectele biologice pronunțate ale produselor noi. Au fost elaborate 6 formule noi și tehnologiile de obținere a produselor curativo-profilactice conform acestor formule. Noutatea și originalitatea rezultatelor obținute este susținută de 6 brevete de invenție pentru produse curativo-profilactice noi, precum și de patru distincții la saloane internaționale de invenție oferite pentru aceste inovații.

**Rezultatul obținut** care contribuie la soluționarea problemei importante de obținere a produselor de origine naturală cu proprietăți curativo – profilactice, constă în fundamentarea științifică a utilizării în calitate de criteriu de control al eficienței produselor noi a capacității antioxidante a acestora, aplicarea căruia a condus la elaborarea rețetelor și tehnologiilor de producere a 6 balsamuri noi cu efecte biologice determinate, destinate utilizării lor în tratamentul și profilaxia diferitor maladii și stări patologice.

**Semnificația teoretică:** Au fost acumulate date noi care contribuie la completarea cunoștințelor despre activitatea antioxidantă a diverselor extracte din biomasa vegetală și despre efectele sinergice în preparatelor naturale policomponente, obținute din mai multe surse vegetale. A fost fundamentată teoretic utilitatea aplicării criteriului activității antioxidante în procesul de elaborare a produselor curativo – profilactice în bază de materii vegetale.

**Valoarea aplicativă:** Au fost elaborate formulele și tehnologiile de producere industrială 6 produse curativo-profilactice noi în bază de extracte vegetale și de spirulină cu efecte biologice pronunțate, lipsite de toxicitate și efecte adverse.

**Implementarea rezultatelor:** Tehnologiile de producere a balsamurilor noi au fost implementate la întreprinderea MAURT în baza unui contract de licență, unde au fost produse partide experimentale ale noilor balsamuri. Rezultatele obținute de asemenea, au fost implementate în laboratorul Alimentație și digestie sanocreatologică a Institutului de Fiziologie și Sanocreatologie ca elemente ale alimentației în elaborarea noilor sisteme alimentare..

## ANNOTATION

**Carauș Vladimir. "Technologies for obtaining curative and preventive products from raw materials of indigenous vegetal origin", PhD thesis in biological sciences, Chisinau, 2020**

This thesis consists of an introduction, 5 chapters, general conclusions and recommendations, literature reference of 215 titles, 6 appendices, 136 basic text pages, 29 figures, 28 tables. The results are presented in 13 publications.

**Keywords:** curative-preventive product, balm, hydro-ethanolic extract, macerate, antioxidant activity, biological activity, radio protective effect, aphrodisiac.

**Purpose:** development of new technologies for obtaining products with curative-preventive properties - balms - based on the raw materials of indigenous vegetal origin and highlighting their biological effects.

**Objectives:** To develop efficient procedures for extracting the active components from plant and cyanobacterial biomass using environmentally friendly technologies; Development of formulas for new curative and preventive products based on plant extracts and cyanobacterial biomass; Development of manufacturing technologies for new curative and preventive products; Revealing biological effects of new curative and preventive products.

**Know-how and originality of the scientific results:** The efficiency of using the values of the antioxidant activity as a criterion for evaluating the curative-preventive performances of the products based on plant raw materials has been demonstrated. The cumulative/synergistic antioxidant effect of the new curative-preventive formulas, obtained from the plant extracts and spirulina and the pronounced biological effects of the new products have been shown. 6 new formulas and technologies for obtaining curative and preventive products were developed. The know-how and originality of the obtained results is supported by 6 patents for new curative and preventive products, as well as four awards at international inventions salons offered for these innovations.

**Obtained result** that contributes to solving the important problem of obtaining products with curative - preventive properties, consists in the scientific basis of the use as a criterion of control of the efficiency of new products of their antioxidant capacity, which application has led to the development of formulas and technologies for the production of 6 new balms with determined biological effects, intended for their use in the treatment and prevention of various diseases and pathological conditions.

**Theoretical significance:** New data have been accumulated that contribute to supplementing the knowledge about the antioxidant activity of the various extracts from plant biomass and about the synergistic effects in the multicomponent natural medicines, obtained from several plant sources. The utility of applying the criterion of antioxidant activity in the process of development of curative - preventive products based on plant materials was theoretically substantiated.

**Applicative value:** The formulas and technologies of industrial production were developed for 6 new curative and preventive products based on plant extracts and spirulina with pronounced biological effects, without toxicity and adverse effects.

**Implementation of the results:** Technologies for the production of new balms have been implemented at the company MAURT where experimental parties of the new balms were produced. The results obtained were also implemented in the laboratory Food and sanocreatological digestion of the Institute of Physiology and Sanocreatology as elements of the nutrition in the development of the new food systems.

## АДНОТАЦИЯ

### **Карауш Владимир. «Технологии получения лечебно-профилактических продуктов из сырья местного растительного происхождения», диссертация кандидата биологических наук, Кишинев, 2020**

Диссертация состоит из введения, 5 глав, общих выводов, списка литературы состоящего из 215 названий, 6 приложений, 136 страниц основного текста, 29 рисунков, 28 таблиц. Полученные результаты отражены в 13 публикациях.

**Ключевые слова:** бальзамы, водно - этаноловые экстракты, мацераты, антиоксидантная активность, биологическая активность, радиозащитное средство, афродизиак.

**Цель:** разработка новых технологий получения продуктов с лечебно-профилактическими свойствами - бальзамов - на основе местного растительного сырья и выявление их биологических эффектов.

**Задачи:** разработать эффективные экологически чистые способы экстракции активных компонентов из растительной и цианобактериальной биомассы; разработка рецептур новых лечебно-профилактических средств на основе растительных и цианобактериальных экстрактов; разработка технологий производства новых лечебно-профилактических препаратов; выявление биологических эффектов новых лечебно-профилактических средств.

**Новизна и оригинальность научных результатов:** Показана эффективность использования показаний антиоксидантной активности в качестве критерия оценки лечебно-профилактических свойств продуктов на основе растительного сырья. Продемонстрирован совокупный / синергетический антиоксидантный эффект новых лечебно-профилактических формул, полученных из растительных экстрактов и спирулины, и выраженный биологический эффект новых продуктов. Разработано 6 новых формул и технологий получения соответствующих лечебно-профилактических средств. Новизна и оригинальность полученных результатов подтверждаются 6 патентами на новые лечебно-профилактические средства, а также четырьмя наградами в международных салонах изобретений и инноваций.

**Полученный результат,** способствующий решению важной проблемы получения продуктов природного происхождения с лечебно-профилактическими свойствами, заключается в научном обосновании использования в качестве критерия контроля эффективности новых продуктов их антиоксидантной активности, применение, которого привело к разработке рецептур и технологий для производства 6 новых бальзамов, обладающих биологической активностью, предназначенных для использования в лечении и профилактике различных заболеваний и патологических состояний.

**Теоретическая значимость:** накоплены новые данные, которые способствуют пополнению знаний об антиоксидантной активности различных экстрактов из растительной биомассы и о синергетических эффектах в многокомпонентных природных препаратах, полученных из нескольких растительных источников. Обоснована целесообразность применения критерия антиоксидантной активности в процессе разработки лечебно-профилактических средств на основе растительного сырья.

**Прикладное значение:** Разработаны формулы и технологии промышленного производства 6 новых лечебно-профилактических препаратов на основе растительных экстрактов и спирулины с выраженным биологическим действием, без токсичности и побочных эффектов.

**Внедрение результатов:** На предприятии МАУРТ внедрены технологии по производству новых бальзамов, где были изготовлены экспериментальные партии. Полученные результаты были также внедрены в лаборатории Санокреатологическое питание и пищеварение Института физиологии и санокреатологии, в составе новых систем питания.

## LISTA FIGURILOR

1.	Figura 3.1. Activitatea antioxidantă (exprimată în $\mu\text{g}$ Trolox în ml de extract) în extractele hidro - etanolice din biomasa componentelor de bază ale produselor noi	70
2.	Figura 3.2. Capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric (exprimată în % de inhibiție) a extractelor hidro - etanolice din biomasa componentelor de bază ale produselor noi	72
3.	Figura 3.3. Activitatea antioxidantă (exprimată în $\mu\text{g}$ Trolox în ml de extract) în extractele hidro - etanolice din biomasa componentelor suplimentare ale produselor noi	72
4.	Figura 3.4. Capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric (exprimată în % de inhibiție) a extractelor hidro - etanolice din biomasa componentelor suplimentare ale produselor noi	73
5.	Figura 3.5. Activitatea antioxidantă (exprimată în $\mu\text{g}$ Trolox în ml de extract) a extractelor hidro - etanolice (50%) din biomasa componentelor de bază ale produselor noi în dependență de timp	74
6.	Figura 3.6. Capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric (exprimată în % de inhibiție) a extractelor hidro - etanolice (50%) din biomasa componentelor de bază ale produselor noi în dependență de timp	75
7.	Figura 3.7. Activitatea antioxidantă (exprimată în $\mu\text{g}$ Trolox în ml de extract) ale extractelor hidro - etanolice (50%) din biomasa componentelor suplimentare ale produselor noi în dependență de timp	76
8.	Figura 3.8. Capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric (exprimată în % de inhibiție) a extractelor hidro - etanolice (50%) din biomasa componentelor suplimentare ale produselor noi în dependență de timp	77
9.	Figura 3.9. Activitatea antioxidantă (exprimată în $\mu\text{g}$ Trolox în ml de extract) în extractele hidro - etanolice (50%), macerate și remacerate din biomasa componentelor de bază ale produselor noi	77
10.	Figura 3.10. Capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric (exprimată în % de inhibiție) a extractelor hidro - etanolice (50%), macerate și remacerate din biomasa componentelor de bază ale produselor noi	78
11.	Figura 3.11. Activitatea antioxidantă (exprimată în $\mu\text{g}$ TROLOX în ml de extract) ale extractelor hidro - etanolice (50%), maceratelor și remaceratelor din biomasa componentelor suplimentare ale produselor noi	79
12.	Figura 3.12. Capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric (% de inhibiție) a extractelor hidro - etanolice (50%), maceratelor și remaceratelor din biomasa componentelor suplimentare ale produselor noi	80

13. Figura 3.13. Activitatea antioxidantă a maceratelor triple individuale și a maceratului triplu din amestecul de componente de bază ale balsamurilor noi .....	81
14. Figura 3.14. Procedeu de obținere rapidă a extractelor din materie primă vegetală ...	82
15. Figura 3.15. Procedeu de obținere a maceratului din materie primă vegetală .....	83
16. Figura 3.16. Activitatea antioxidantă, exprimată în mg acid ascorbic echivalent/g substanță uscată, a extractelor hidro-etanolice din biomasa de <i>Spirulina platensis</i> în dependență de concentrația etanolului și timpul de extragere .....	84
17. Figura 3.17. Activitatea antiradicalică, exprimată în % de inhibiție a radicalului DPPH', a extractelor hidro-etanolice din biomasa de <i>Spirulina platensis</i> în dependență de concentrația etanolului și timpul de extragere .....	85
18. Figura 3.18. Conținutul de fenoli, exprimată în mg acid galic echivalent / g substanță uscată, în extractele hidro-etanolice din biomasa de <i>Spirulina platensis</i> în dependență de concentrația etanolului și timpul de extragere .....	86
19. Figura 3.19 Activitatea extractelor din spirulină în condiții de variere a concentrației soluției hidro-etanolice și a timpului de extragere .....	92
20. Figura.3.20. Procedeu de obținere a extractului activ din biomasa de spirulină .....	93
21. Figura 4.1. Procesul tehnologic de producere industrială a balsamului Spirupotent cu efect afrodisiac .....	101
22. Figura 4.2. Procesul tehnologic de producere industrială a balsamului B_1368 .....	104
23. Figura 4.3. Procesul tehnologic de producere industrială a balsamului B_1369 .....	106
24. Figura 4.4. Procesul tehnologic de producere industrială a balsamului B_1370 .....	108
25. Figura 4.5. Procesul tehnologic de producere industrială a balsamului B_1377 .....	110
26. Figura 4.6. Procesul tehnologic de producere industrială a balsamului B_1378 .....	112
27. Figura 4.7. Activitatea antioxidantă a produselor curativo-profilactice finite comparativ cu activitatea extractului macerat din amestecurile vegetale conform rețetelor de fabricație .....	114
28. Figura 4.8. Activitatea antioxidantă a produselor curativo-profilactice noi la producere și peste trei ani de păstrare în condiții recomandate .....	115
29. Figura 5.1. Dinamica activității gama specifice (Bq/kg) a animalelor tratate cu <sup>137</sup> Cs în loturile de animale hrana cărora se suplimenta cu balsam Spirupotent sau soluție hidro - etanolică de 42% și fără suplimente, Bq/kg .....	124

## LISTA TABELELOR

1.	Tabelul 3.1. Modificarea activității antioxidante în extractele hidro - etanolicе din <i>Spirulina platensis</i> la păstrare în condiții de frigider .....	87
2.	Tabelul 3.2. Modificarea activității antiradicalice în extractele hidro - etanolicе din <i>Spirulina platensis</i> la păstrare în condiții de frigider Tabelul 5.1. Toxicitatea acută a balsamului Spirupotent la șobolani .....	88
3.	Tabelul 3.3. Modificarea conținutului de fenoli în extractele hidro - etanolicе din <i>Spirulina platensis</i> la păstrare în condiții de frigider .....	89
4.	Tabelul 3.4. Planul și rezultatele optimizărilor procedurii de extragere a principiilor bioactive din biomasa de spirulină .....	91
5.	Tabelul 4.1. Activitatea antioxidantă a maceratelor triple din componentele balsamului Spirupotent .....	96
6.	Tabelul 4.2. Activitatea antioxidantă a maceratelor triple din componentele balsamurilor .....	97
7.	Tabelul 4.3. Componenta noilor balsamuri curativo –profilactice .....	98
8.	Tabelul 4.4. Capacitatea de reducere a radicalilor ABTS <sup>+</sup> și NO <sup>•</sup> a componentelor balsamului Spirupotent la diferite etape ale fluxului tehnologic .....	102
9.	Tabelul 4.5. Activitatea antioxidantă a balsamului B_1368 la diferite etape ale fluxului tehnologic .....	105
10.	Tabelul 4.6. Activitatea antioxidantă a balsamului B_1369 la diferite etape ale fluxului tehnologic .....	107
11.	Tabelul 4.7. Activitatea antioxidantă a balsamului B_1370 la diferite etape ale fluxului tehnologic .....	109
12.	Tabelul 4.8. Activitatea antioxidantă a balsamului B_1377 la diferite etape ale fluxului tehnologic .....	111
13.	Tabelul 4.9. Activitatea antioxidantă a balsamului B_1378 pe durata fluxului tehnologic .....	113
14.	Tabelul 5.1. Toxicitatea acută a balsamului Spirupotent la șobolani .....	117
15.	Tabelul 5.2. Toxicitatea acută a balsamului Spirupotent la șoareci .....	118
16.	Tabelul 5.3. Toxicitatea acută a balsamului B_1377 la șobolani .....	119
17.	Tabelul 5.4. Toxicitatea acută a balsamului B_1377 la șoareci .....	120
18.	Tabelul 5.5. Efectul balsamului Spirupotent asupra indicatorilor hematologici .....	123

19.	Tabelul 5.6. Influența balsamului Spirupotent asupra frecvenței respirației la șobolani iradiați .....	125
20.	Tabelul 5.7. Influența balsamului Spirupotent asupra numărului de eritrocite în sângele șobolanilor albi (milioane / $\mu$ l) .....	125
21.	Tabelul 5.8. Influența balsamului Spirupotent asupra numărului de leucocite în sângele șobolanilor (mii/ $\mu$ l) .....	126
22.	Tabelul 5.9. Influența balsamului asupra timpului de coagulare a sângelui la șobolani (secunde) .....	126
23.	Tabelul 5.10. Influența balsamului asupra unor indicatorilor biochimici ai sângelui la șobolani .....	128
24.	Tabelul 5.11. Evoluția sindroamelor la pacientele cu CGM și CORF sub influența balsamului B_1377 .....	130
25.	Tabelul 5.12. Evoluția Parametrilor hematologici la pacientele cu CGM și CORF sub influența balsamului B_1377 .....	131
26.	Tabelul 5.13. Evoluția parametrilor biochimici la pacientele cu CGM și CORF sub influența balsamului B_1377 .....	132
27.	Tabelul 5.14. Evoluția parametrilor imunologici la pacientele cu CGM și CORF sub influența balsamului B_1377 .....	133

## LISTA ABREVIERILOR

ABTS	2,2 azinobis 3-etilbenzotiazolină-6- acidului sulfonic
ALT	alaninaminotransferaza
AST	aspartataminotransferaza
CD	cluster de diferențiere
CGM	Cancerul glandei mamare
CORF	Cancerul organelor reproductive feminine
DL <sub>100</sub>	doza letală
DL <sub>50</sub>	doza semiletală
DPPH	1,1 difenil-2-picril hidrazil
FDA	Administrația Americană a Alimentelor și Medicamentelor (Food and Drug Administration)
OMS	Organizația Mondială a Sănătății
SRN	specii reactive ale azotului
SRO	specii reactive ale oxigenului
TEAC	echivalentul de TROLOX al activității antioxidante ( <i>trolox equivalent antioxidant activity</i> )
TNF	factorul de necroză al timorilor



## INTRODUCERE

Asistența medicală curativă și de prevenție de calitate în societate este condiția unei dezvoltări economice fructuoase prin îmbunătățirea stării de sănătate a participanților la relațiile economice [156]. În acest context, oferirea remediilor curativo-profilactice acceptate de populație prezintă un avantaj enorm, de aceea în ultimii ani, se acordă o atenție deosebită diversificării gamei de produse de acest tip, cât și studierii mecanismelor de acțiune ale acestora. În calitate de astfel de produse care contribuie la corecția alterărilor nefavorabile în organismul uman, cauzate de diverși agenți pot fi cu succes utilizate diferite preparate obținute din unele plante medicinale, microalge și cianobacterii

Remediile din plante medicinale, microalge și cianobacterii datorită originii naturale și efectelor adverse reduse, ori chiar lipsei acestora, se bucură de o popularitate tot mai largă. Preparatele în bază de materie vegetală sunt printre cele mai populare remedii de prevenție, dar și de tratament în cazul unui număr enorm de maladii cum sunt cele cardiovasculare [2], renale [107, 109], neurologice [51, 88, 140], hepatice [167], ginecologice [70], în cazul cancerului [72, 109, 162], sindromului metabolic [109, 128, 129, 163]. De asemenea, produsele vegetale sunt utilizate în calitate de protectori celulari la administrarea radioterapiilor și chimioterapiilor [77, 108].

Spre deosebire de produsele farmaceutice sintetice, produse pe bază de compuși unici, care își manifestă activitatea biologică independent, multe plante medicinale își exercită efectele farmacologice benefice prin mecanisme sinergice sau aditive ale mai multor compuși activi care acționează pe diferite ținte asociate cu un anumit mecanism patologic [129]. De exemplu în cazul preparatelor policomponente din plante cu efecte asupra celulelor canceroase a fost stabilit, că componentele active afectează diferite faze ale căilor de transducție a semnalului, inclusiv expresia genelor, evoluția ciclului celular, proliferarea, metabolismul și apoptoza celulară [90, 129, 154]. Astfel, atât extractele complexe dintr-un singur tip de material vegetal, cât și extractele poliherbale au capacitatea de acționa pe ținte multiple, oferind beneficii preventive și curative suplimentare.

Printre produsele curativo – profilactice din materii prime vegetale balsamurile sunt unele dintre cele mai cunoscute și eficiente forme. Forma de extract hidro - etanolic permite combinarea într-un singur produs a compușilor bioactivi din 10 - 40 surse vegetale, ceea ce poate asigura un spectru mai larg de acțiune și o eficiență pronunțată. În același timp tehnologiile de producere a balsamurilor sunt destul de complicate, pornind în primul rând de la necesitatea

combinării unui număr mare de componente, care trebuie să se completeze reciproc în așa fel ca să asigure nu numai eficiență terapeutică, ci și proprietăți organoleptice acceptabile. Sortimentul de balsamuri curativo – profilactice este limitat, atât la nivel național, cât și la nivel mondial, fiind bine cunoscute la nivel mondial doar câteva produse de acest tip – balsamul de Riga, balsamul Bittner, iar la nivel național – balsamul protejat de brevetul de invenție MD 2103 și produs sub marca comercială ”Făt- Frumos” [176].

Elaborarea de noi formule și tehnologii pentru obținerea balsamurilor în baza materialului vegetal și ficologic cu proprietăți curativo-profilactice rămâne în continuare un domeniu actual al cercetării științifice.

**Scopul lucrării:** elaborarea de noi tehnologii de obținere a produselor cu proprietăți curativo-profilactice – balsamuri - în baza materiei prime vegetale autohtone și evidențierea efectelor lor biologice.

**Obiectivele:**

- Elaborarea procedeeleor eficiente de extragere a componentelor active din biomasa vegetală și cianobacteriană prin tehnologii prietenoase mediului;
- Elaborarea formulelor produselor curativo-profilactice noi pe bază de extracte din plante și biomasa cianobacteriană;
- Elaborarea tehnologiilor de fabricare a produselor curativo-profilactice noi;
- Evidențierea unor efecte biologice ale noilor produse curative-profilactice.

**Ipoteza de cercetare**

Balsamurile curativo – profilactice noi pot fi elaborate pe bază de materie vegetală autohtonă, aplicând drept criteriu de monitorizare capacitatea antioxidantă a extractelor utilizate; tehnologiile noi de fabricare a balsamurilor, bazate pe procedee eficiente de extragere prietenoase mediului asigură nu numai păstrarea activității antioxidante ale componentelor individuale, dar și manifestarea efectelor sinergice ale acestora în cazul elaborării rețetelor echilibrate ale produselor noi.

**Sinteza metodologiei de cercetare**

Pentru realizarea prezentului studiu a fost utilizat un set de metode, care pot fi grupate în trei categorii: metode de obținere a extractelor din biomasa vegetală și cea de spirulină; metode de determinare a activității antioxidante; metode de testare a toxicității și a efectelor biologice.

Pornind de la natura produselor elaborate – balsamuri cu tăria de cel puțin 40%, pentru extrageri au fost utilizate soluțiile hidro – etanolice, cu concentrația etanolului pornind de la 40%. Soluția hidro - etanolică este un solvent optimal, deoarece permite obținerea extractelor

complexe, în care sunt prezente atât componente hidrosolubile, cât și liposolubile, astfel asigurându-se o activitate biologică mai înaltă.

În calitate de test universal de apreciere a capacității antioxidante în toate tipurile de extracte și produse intermediare și finite a fost ales testul de reducere a radicalului cation ABTS<sup>+</sup>, deoarece acesta s-a recomandat pozitiv în testarea extractelor hidrice, etanolice și hidro – etanolice policomponente complexe. În cazul balsamului Spirupotent a fost de asemenea aplicat și testul de reducere a radicalului NO, care este semnificativ în cazul disfuncțiilor sexuale, spre tratarea și profilaxia cărora este orientat acest produs nou. Cantitatea de fenoli în extractele din spirulină a fost determinată pornind de la faptul demonstrat, că activitatea antioxidantă a acestor extracte este, în mare măsură, determinată anume de fenoli.

Testele de toxicitate pentru noile produse au fost efectuate în conformitate cu standardele naționale în acest domeniu, iar efectele biologice au fost studiate în conformitate cu legislația R. Moldova și principiile Declarației de la Helsinki.

**Publicații:** 13 publicații în total la tema tezei: 5 articole, dintre care 2 în reviste categoria B, 1 – categoria C, 2 în culegeri recenzate; 2 teze la conferințe internaționale – 2, 6 brevete de invenție.

**Cuvinte cheie:** produse curativo-profilactice, balsamuri, extracte hidro – etanolice, macerate, activitate antioxidantă, activitate biologică, radioprotector, afrodisiac.

### **Sumarul capitolelor tezei**

**Capitolul 1.** *”Preparate curativo-profilactice naturale”* prezintă o analiză critică a situației în domeniul elaborării și utilizării preparatelor medicinale pe bază de plante și cianobacterii. Este făcută o incursiune în istoria fitopreparatelor și evidențiate diferite etape și situații de dominanță a ideii și implementării fitoterapiei. De asemenea, sunt schițate posibilele direcții de dezvoltare a acestui domeniu important din prisma dezvoltării conceptului contemporan de fitoterapie rațională și biologie integrativă.

În acest capitol sunt analizate prioritățile și deficiențele utilizării preparatelor medicamentoase mono- și policomponente. Sunt aduse argumente în favoarea preparatelor poliherbale, în care cu o probabilitate foarte înaltă pot fi prezente efectele sinergismului substanțelor active. De asemenea, sunt evidențiate mecanismele prin intermediul cărora preparatele policomponente naturale își realizează potențialul terapeutic foarte înalt.

O parte importantă a acestui capitol este consacrată tehnologiilor de obținere a preparatelor terapeutice și de prevenție pe bază de plante, dar și etapelor, care urmează a fi parcurse în procesul de elaborare a unui nou produs curativo-profilactic. Este arătată importanța

fiecărei etape de lucru în obținerea unui rezultat final calitativ – adică o tehnologie performantă de producere a unui preparat natural cu o eficiență înaltă.

Ultima parte a acestui capitol include o caracteristică amplă a balsamurilor curativo-profilactice elaborate și produse în Republica Moldova și peste hotare; și care au servit drept puncte de pornire pentru cercetarea realizată în cadrul acestui proiect doctoral.

**Capitolul 2.** ”*Obiectele de studiu și metodele aplicate în cercetare*”. În calitate obiecte de studiu sunt descrise materiile prime vegetale și cea cianobacteriană, care au fost utilizate pentru elaborarea noilor balsamuri curativo-profilactice: rădăcina de lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra L.*), rizomii de obligeană (*Acorus calamus L.*), partea aeriană de sunătoare (*Hypericum perforatum L.*), partea aeriană de sovârv (*Origanum vulgare L.*), frunze de izmă bună (*Mentha piperita L.*), partea aeriană de coada-șoricelului (*Achillea millefolium L.*), muguri de pin (*Pinus sylvestris L.*), partea aeriană de imortele (*Helichrysum italicum Roth*), partea aeriană de mentă decorativă (*Monarda citriodora Cerv.ex Lag*), partea aeriană de salvie (*Salvia officinalis L.*), semințe de amarant (*Amaranthus caudatus L.*), partea aeriană de cânepă (*Cannabis sativa L.*), partea aeriană și rizom de țelină (*Apium graveolens L.*), rădăcină și partea aeriană de pătrunjel (*Petroselinum crispum*), semințe de struguri (*Vitis vinifera L.*), coji și septuri de nucă (*Juglans regia L.*), flori de salcâm (*Robinia pseudoacacia L.*), biomasă de *Spirulina platensis*, produse de Asociația de culturi eterooleaginoase și plante medicinale AROMED, Republica Moldova, laboratorul Ficobiotehnologie al Institutului de Microbiologie și Biotehnologie și la întreprinderea FICOTEHFARM SRL, Republica Moldova.

Sunt descrise detaliat metodele aplicate în cadrul acestei lucrări. Aceste metode se referă la obținerea extractelor și maceratelor din biomasa vegetală și cea de spirulină, la determinarea activității antioxidante a extractelor individuale și amestecurilor și la aprecierea efectelor biologice exercitate de balsamurile curativo-profilactice noi.

Extractele din biomasa vegetală și cea de spirulină au fost obținute prin procedura de extragere simplă cu soluție hidro-etanolică cu durată variabilă de contact a biomasei cu solventul, în condiții de agitare continuă, sau prin macerare și remacerare (macerare fracționată).

Au fost aplicate 5 teste de determinare a activității antioxidante a extractelor, maceratelor și produselor noi, care permit evidențierea capacității materiilor prime de a realiza protecția antioxidantă prin diferite mecanisme de acțiune.

Studiul toxicității componentelor preparatelor curativo-profilactice și variantelor de balsamuri s-a realizat conform recomandărilor internaționale ICH M3(R2), și a inclus analiza parametrilor fiziologici, hematologici, biochimici și morfologici ai animalelor de laborator.

Efectele biologice ale balsamurilor elaborate au fost studiate în conformitate cu legislația R. Moldova și luând în considerare principiile legislației internaționale și a Declarației de la Helsinki.

Pentru aprecierea semnificației deosebirilor dintre loturile experimentale a fost aplicat testul T Student, iar  $P < 0,05$  este considerat drept semnificativ.

**Capitolul 3.** ”*Procedee de obținere a extractelor cu proprietăți antioxidante din materii prime vegetale*” include rezultatele obținute pe parcursul elaborării procedeele de obținere a extractelor din componentele vegetale, care au fost selectate pentru includere în componența balsamurilor curativo - profilactice. Deoarece în această lucrare se pune accent pe proprietățile antioxidante ale noilor produse curativo-profilactice, parametrii în baza cărora au fost selectate variantele de extragere din materialele vegetale au fost: activitatea antioxidantă a extractelor exprimată prin reducerea radicalului cation ABTS și capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric. Pentru aprecierea activității extractelor din biomasa de spirulină au fost monitorizați următorii parametri: capacitatea de reducere a reagentului fosfo-molibdenic, capacitatea de reducere a radicalului DPPH și cantitatea fenolilor. În calitate de variabile au fost luate: concentrația soluției hidro – etanolice utilizate și timpul de extragere. Au fost selectate variantele de extragere care asigură valori înalte ale tuturor parametrilor de control. În cazul extractelor vegetale eficiența extracției hidro – etanolice a fost comparată cu eficiența macerării simple și triple. De asemenea, a fost cercetată activitatea maceratelor triple individuale și a celor efectuate din mix de plante în vederea evidențierii unui posibil efect sinergic.

În baza rezultatelor obținute au fost elaborate două procedee de extragere a componentelor antioxidante din biomasa vegetală și un procedeu de extragere a componentelor antioxidante din biomasa de spirulină.

**Capitolul 4.** ”*Elaborarea tehnologiilor de fabricare a produselor curativo-profilactice noi*” reflectă rezultatele cercetărilor care s-au soldat cu elaborarea rețetelor și a tehnologiilor de producere a 6 balsamuri curativo – profilactice noi cu proprietăți organoleptice îmbunătățite și cu activitate biologică înaltă. Pe durata fluxului tehnologic a fost monitorizată activitatea antioxidantă a noilor produse, astfel, ca să se asigure exprimarea maximală a potențialului curativ al acestora. La elaborarea schemelor tehnologice de producere a celor 6 balsamuri noi a fost monitorizată capacitatea de reducere a radicalului cation ABTS<sup>+</sup> la diferite etape ale fluxului tehnologic, iar în cazul balsamului Spirupotent suplimentar, a fost evaluată și capacitatea de reducere a radicalului NO.

Tehnologiile de obținere a noilor balsamuri includ toate etapele de producere, începând cu prelucrarea materiei prime vegetale și terminând cu depozitarea produsului finit. Produsele

finite în cadrul acestor tehnologii - balsamurile noi - reprezintă lichide transparente de culoare roșie-brună, cu miros specific și gust amar-dulciu. La depozitare produsele pot forma sedimente, fapt ce nu influențează calitatea produsului. Balsamurile sunt îmbuteliate în recipiente din sticlă sau masă plastică întunecată, închise etanș cu capace din polietilenă, a câte 100 ml, 200 ml, 250 ml și 500 ml. Se păstrează la temperatura sub 25°C în ambalaj original, astfel ca conținutul să fie protejat de lumină și umiditate.

La elaborarea tehnologiilor de producere a noilor produse curativo – profilactice s-a ținut cont de activitatea specifică a ingredientelor, astfel, ca produsul finit să fie caracterizat prin activitate biologică maximală. În capitol sunt descrise tehnologiile de producere a celor 6 balsamuri noi și rezultatele testelor în punctele critice ale procesului tehnologic, care demonstrează corectitudinea aplicării diferitor elemente ale fluxului de producere. Atingerea scopului final al acestor tehnologii – obținerea produselor cu proprietăți organoleptice valoroase și cu activitatea biologică înaltă - este demonstrată prin valorile înalte ale activității antioxidante a balsamurilor și menținerea nivelului de activitate atât pe durata fluxului tehnologic, cât și pe durata a trei ani de păstrare în condiții recomandate.

**Capitolul 5.** *”Efectele biologice ale produselor curativo-profilactice noi”* include rezultatele testelor de toxicitate cronică și acută, testelor medico-biologice și clinice ale noilor produse curativo-profilactice.

Rezultatele prezentate demonstrează lipsa toxicității și eficiența noilor balsamuri elaborate în cadrul acestei teze de doctorat. Astfel, au fost stabilite dozele semiletale de balsamuri curativo-profilactice sunt mai înalte decât dozele semiliteale ale soluției hidro-etanolice de 42%, ceea ce corespunde tăriei noilor produse. Mai mult ca atât, este demonstrat, că componentele balsamului atenuează efectele toxice ale soluției hidro-etanolice de concentrație echivalentă (42%). Testele de toxicitate cronică de asemenea, au arătat lipsa efectelor toxice ale noilor balsamuri asupra parametrilor fiziologici la șobolani și șoareci.

Au fost studiate efectele radioprotectoare ale noilor produse la iradierea animalelor de laborator cu izotopi radioactivi de cesiu  $^{137}\text{Cs}$ . A fost demonstrat, că balsamul Spirupotent contribuie la o accelerare moderată a eliminării cesiului radioactiv din organismul animalelor. De asemenea la animalele iradiate cărora li s-a administrat balsam se remarcă o îmbunătățire a indicatorilor funcțiilor afectate în urma tratării cu izotop (revenea la nivel de normă timpul de coagulare a sângelui și activitatea alaninaminotransferazei). De asemenea, la acestea are loc ameliorarea stării celulelor parenchimotoase hepatice, cât și a neuronilor cerebrali pe fondul normalizării circulației sangvine.

A fost de asemenea demonstrată capacitatea balsamului Spirupotent de a mări nivelul de testosteron la bărbații cu semne clinice de disfuncții sexuale, de a ameliora calitatea somnului și capacitatea de concentrare, în cazul când balsamul este luat pe durata a 60 de zile.

În cadrul testelor clinice efectuate pe loturi de paciente cu cancer al glandei mamare și al organelor reproductive feminine a fost demonstrat, că balsamul curativo-profilactic administrat timp de 30 de zile duce la micșorarea semnificativă a numărului de paciente cu sindrom astenovegetativ, dispeptic, dolo și hemoragic; produce modificări pozitive ale parametrilor hematologici, imunologici și biochimici, exprimate în creșterea numărul de T helpere, creșterea valorii indicelui imunoregulator, scăderea nivelului factorului de necroză al tumorilor (TNF), îmbunătățirea formulei leucocitare, scăderea nivelului de ALT, AST, GTP, bilirubină, uree și creatinină.

Astfel, noile balsamuri curativo-profilactice se caracterizează prin lipsa toxicității și eficiență biologică înaltă, pot fi administrate în dozele recomandate ca remediu profilactic și terapeutic.

## 1. PREPARATE CURATIVO-PROFILACTICE NATURALE

Produsele naturale joacă în prezent un rol esențial în prevenirea și tratarea a numeroase afecțiuni, inclusiv grave, contribuind astfel la menținerea și fortificarea sănătății. Cu toate că fitopreparatele au fost întotdeauna medicamentele la alegere, de-a lungul anilor ele au rezistat concurenței dure cu medicamentele sintetice, care se consideră mai sigure și mai eficiente, iar viitorul preparatelor de origine naturală este unul prosper în primul rând datorită diversității enorme a compușilor de origine vegetală cu efecte biologice, care încă în mare parte rămâne neexploatăată [149]. Dezvoltarea științei și tehnologiei a făcut posibilă elaborarea medicamentelor de înaltă calitate pe bază de plante, iar acceptarea lor ca o alternativă naturală pentru medicamentele sintetice este foarte mare. În perspectivă globală vânzările de medicamente din plante sunt în continuă creștere. Conform datelor Organizației Mondiale a Sănătății, aproximativ 80% din populația mondială utilizează produse pe bază de plante medicinale, iar 11% din cele 252 de medicamente din lista medicamentelor de bază sunt de fapt preparate obținute din plante [39, 40].

Istoria îndelungată a aplicării cu succes în medicina tradițională a combinațiilor de medicamente pe bază de plante sugerează superioritatea farmacologică a fitopreparatelor complexe comparativ cu moleculele unice izolate. Acest fapt poate fi explicat prin efectele sinergice, care se manifestă în fitopreparatele policomponente. În acest sens, datorită prezenței concomitente a mai multor substanțe bioactive în extractele din produse naturale, este posibil să apară efecte care asigură o manifestare superioară a complexelor, comparativ cu elementele individuale, dar superioară comparativ cu efectul simplei cumulări a acțiunii elementelor individuale a preparatelor. Aceste efecte sunt determinate în primul rând de faptul, că elementele constitutive ale unui fitoprodus complex acționează asupra diferitor ținte, precum și de interacțiunea dintre elemente, care sporește biodisponibilitatea unuia sau mai multor substanțe din complex [36].

Formularea unui nou fitopreparat este un proces care are faze strict definite: de la analiza literaturii științifice în domeniu, definirea rețetelor, elaborarea tehnologiei de producere, controlul calității produsului finit, până la pregătirea documentelor tehnologice și de înregistrare a produsului. Fiecare dintre etapele acestui proces aduce o plusvaloare produsului finit, iar studiul bibliografic profund determină selectarea corectă și argumentată a componentelor preparatelor naturale elaborate, schițarea schemei tehnologice de obținere, verigile căreia urmează a fi verificate experimental. De asemenea, la această etapă se stabilește grupul-țintă al populației, pentru care este elaborat produsul respectiv.



### 1.1. Produse naturale în medicină. Istorie și perspective

Produsele naturale de origine vegetală denumite în mod obișnuit „metaboliți secundari” (sau produsele finale ale expresiei genice) sunt o sursă esențială inepuizabilă, de substanțe cu efecte curative și profilactice performante. Deoarece mai mult de 95% din biodiversitatea lumii nu a fost încă studiată în mod detaliat, diversitatea chimică a materialelor vegetale încă nestudiate este o mare provocare atât pentru cercetare, cât și pentru industria farmaceutică [36].

Componentele biochimice ale produselor naturale utilizate de mii de ani de către om, actuale și în prezent, au apărut ca rezultat al evoluției speciilor care le produc în condiții de mediu ostile. Deci din start acești compuși au fost programați să posede activitate biologică.

Cele mai vechi înregistrări despre utilizarea plantelor medicinale datează din 2400 î.C. și sunt făcute pe plăcile de argilă descoperite în Mesopotamia. Cu anul 1534 B.C este datat papyrusul Ebers, apărut în al 9-lea an al domniei lui Amenhotep 1, iar cu anul 1578 este datată ”Materia Medica” chineză, document scris de Li Shizhen. Aceste documente sunt niște colecții de rețete și sfaturi pentru aplicarea plantelor în tratarea diferitor afecțiuni ale omului. Mai mult de 2 milenii remediile din plante au fost unicele remedii în tratamentul maladiilor umane [38].

Odată cu dezvoltarea vertiginoasă a chimiei în secolul al XIX-lea, plantele au fost studiate din punct de vedere a componentelor lor biochimice, care își manifestă activitatea biologică observată pe durata dezvoltării civilizației umane. Astfel, din punct de vedere istoric, mai întâi farmaciștii, apoi companiile farmaceutice au folosit diferite tipuri de extracte din plante pentru a produce formule terapeutice. La mijlocul secolului XX, formulările medicamentoase pe bază de produse naturale cu diferit grad de purificare au devenit foarte răspândite, iar apoi au fost detronate de medicamentele în baza unei singure molecule [36]. Această schimbare a situației se datorează descoperirii unor substanțe foarte eficiente, cum sunt de exemplu, antibioticele extrase din surse naturale, primul fiind penicilina.

La sfârșitul anilor 80 ai secolului trecut accentele se schimbă din nou – de la căutarea în natură a diferitor substanțe cu eficiență înaltă se trece la realizarea sintezei chimice [35]. Cu toate acestea, la nivel mondial dintre cele 1.135 de noi medicamente aprobate din 1981 până în 2010, 50% erau în bază de produse naturale.

Un exemplu tipic în acest sens este medicamentul pentru tratarea cancerului de sân utilizat pe scară largă, *paclitaxel* (Taxol), izolat de scoarța de *Taxus brevifolia*. Acest medicament a fost dezvoltat pe durata anilor ce au urmat, iar în prezent paclitaxel este unicul remediu anticancer care este comercializat în trei nanoplatforme diferite pentru administrare parenterală: nanoparticule polimerice (Abraxane®), lipozomi (Lipusu®) și micelii polimerice (Genexol®, Nanoxel® și Paclical®) [18].

Alt exemplu este cel al *mevastatinei*, descoperită ca produs secundar al micromicetei *Penicillium citrinum*. Studiul acestei molecule a condus la elaborarea de statine sintetice, un exemplu elocvent fiind *atorvastatina*, care este cel mai vândut medicament din istoria industriei farmaceutice [125].

Investițiile în domeniul cercetării și dezvoltării farmaceutice la nivel mondial, au crescut de la 10 la 30 miliarde USD anual pe durata a 20 de ani. O bună parte din acești bani merg pentru dezvoltarea produselor medicamentoase naturale. În perioada dintre 1998 și 2007 în SUA au fost lansate 34 de medicamente noi pe bază de produse naturale. În aceeași perioadă de timp 36 compuși derivați de plante au fost incluși în studiile clinice oncologice. La nivel mondial, din 877 medicamente noi dezvoltate între 1981 și 2002, 6% au fost produse naturale și 27% au fost derivate din produsele naturale [36]. De exemplu, în zona cancerului, în intervalul de timp cuprins între anii 1940 și până la sfârșitul lui 2014, din cele 175 de molecule mici aprobate, 131 sau 75%, sunt altele decât „S” (sintetice), iar 85 dintre ele (sau 49%,) fiind de fapt fie produse naturale, fie derivate directe din acestea. Și în alte domenii influența preparatelor naturale versus cele sintetice este destul de mare. În special menționăm domeniul elaborării și implementării preparatelor antiinfecțioase, antibacteriene și antivirale [104].

Piața actuală a produselor farmaceutice naturale se extinde pe măsură ce crește cererea de medicamente tradiționale, care sunt disponibile la costuri relativ mici. Producția farmaceutică pe bază de produse botanice poate fi vândută sub formă de suplimente dietetice, medicamente sau medicamente botanice [120] și poate păstra în cele din urmă statutul farmaceuticelor înregistrate în prezent prin oficii de reglementare, cum ar fi Administrația Americană a Alimentelor și Medicamentelor (Food and Drug Administration – FDA), dacă trec cu succes etapa de studii clinice și demonstrează eficacitate și siguranță.

Ultimele decenii se caracterizează prin scăderea semnificativă a numărului de medicamente înregistrate. De exemplu în SUA în anul 1990 au fost aprobate 45 de noi medicamente, pe când în anul 2010 – doar 21 [78]. Mai mult ca atât, în ultimul deceniu, multe companii farmaceutice și-au abandonat programele de descoperire a medicamentelor naturale. Cauzele acestui declin sunt mai multe. Printre ele menționăm următoarele: compușii naturali sunt disponibili doar în cantități extrem de mici, există numeroase dificultăți în colectarea materialului; sinteza biologică a produselor naturale de interes are loc în organismul plantei prin implicarea unor căi biosintetice extinse și se este necesar un timp îndelungat pentru a le obține, ceea ce duce la un randament destul de mic; dificultățile ce apar în procesele de izolare și purificare; toxicitatea unora dintre compușii activi; considerente ecologice și legale cum ar fi de

exemplu, starea periclitată sau în curs de dispariție a speciilor de interes; investițiile insuficiente în domeniu [84, 146].

Marile companii farmaceutice au diferite atitudini față de dezvoltarea de noi produse naturale. De exemplu, companiile Bristol Myers, Squibb, Merck, Johnson și Johnson, Pfizer, GlaxoSmithKline au încetat treptat sau nu și-au mai menținut programele de screening în scopul descoperirii de noi molecule bioactive naturale, în timp ce altele, precum Novartis și-au continuat programele de identificare a noilor produse de origine naturală, inclusiv din plante și microalge. Totuși, majoritatea programelor de descoperire a produselor farmaceutice naturale se limitează la cercetarea din centrele științifice, instituțiile de cercetare și universități [36].

Produsele fitofarmaceutice reprezintă o pondere semnificativă pe piața farmaceutică mondială. Valoarea lor a ajuns în SUA la 60 de miliarde de dolari, iar rata anuală a acestora la nivel mondial crește cu 5-15%.

Aplicarea preparatelor fitofarmaceutice este mai des întâlnită în tulburările psihosomatice, metabolice și unele probleme minore de sănătate. Pentru unii oameni, medicamentele sintetice produc efecte secundare dăunătoare și sunt scumpe de achiziționat în comparație cu produsele naturiste tradiționale. Mai mult, încrederea față de preparatele naturale din plante crește datorită istoriei lungi de aplicare a lor în diferite domenii ale medicinei. Un alt argument pentru utilizarea remediilor naturale este activitatea biologică înaltă a lor. În același timp fitoterapeuticele de fapt nu se contrapun medicamentelor alopatiche, deoarece în prezent mai mult de 50% din medicamentele aplicate în tratamente și comercializate pe piață provin mai mult sau mai puțin din surse naturale [35,36].

Plantele medicinale sau fitoterapeuticele sunt esențiale pentru mai mult de 70% din populația lumii, care nu are acces la medicina occidentală. Prin urmare, Organizația Mondială a Sănătății recomandă foarte mult medicina tradițională, fapt confirmat în „declarația de la Beijing” din 2008. Medicina tradițională este în special adecvată condițiilor locale și reprezintă beneficii majore pentru sănătatea populației în țările în curs de dezvoltare, dar și în cele dezvoltate. În unele țări precum China, India, Germania în instituțiile medicale se predă fitoterapia și se practică pe larg medicina pe bază de plante [36].

Tratamentele cu medicamente în baza unei singure molecule impun costuri exagerate, greu de suportat chiar și pentru țările cu industrie dezvoltată, multe dintre aceste costuri fiind generate nu atât de maladiile de bază, cât de efectele adverse ale medicamentelor occidentale. Produsele naturale găsite în plantele medicinale pot atenua eficient efectele secundare ale bolilor grave, de exemplu, plantele pot atenua efectele chimioterapiei sau radioterapiei în maladiile oncologice [54, 142, 171]. Uleiurile esențiale reprezintă, de asemenea, alternative pentru

antibioticele sintetice datorită faptului că nu generează rezistență din partea agenților patogeni și sunt alternative la tratamente scumpe, cu risc, beneficii și costuri neadekvate. De exemplu, recent în Brazilia a fost dezvoltat un nou preparat fitofarmaceutic antiinflamator bazat pe un extract din frunzele *Cordia verbenacea* - Acheflan – cu o capacitate înaltă de a vindeca rănilor profunde în baza mecanismului antibacterian și angiogenic [94, 112].

În prezent există multe fitopreparate eficiente aprobate de FDA din SUA, disponibile pe piața mondială. De exemplu preparatul Veregen, pe bază de catechine, este destinat tratamentului verucilor genitale și perianali externi [132]. Crofelemer (Fulyzaq) este un preparat medicamentos botanic pe bază de proantocianidină oligomerică, extras din latexul tulpinii arborelui *Croton lechleri*. Crofelemer are o absorbție sistemică minimă după administrarea orală; acționează local în interiorul tractului gastrointestinal prin inhibarea canalelor principale de ioni de clor în membrana luminală a enterocitelor. Crofelemer este primul agent care a fost aprobat de FDA din SUA special pentru ameliorarea simptomatică a diareei neinfecțioase la pacienții adulți cu HIV / SIDA aflați în terapie antiretrovirală [49].

Preparatul botanic Sativex, un spray oromucosal care conține tetrahidrocannabinol și cannabidiol în raport aproximativ 1: 1, este singura formulă disponibilă pe piață care conține canabinoizi, utilizată ca terapie suplimentară pentru tratamentul spasticității la pacienții cu scleroză multiplă care nu răspund la terapii antispastice convenționale [56].

Sunt multe preparate în bază de extracte din plante disponibile pentru tratamentul afecțiunilor de prostată, afecțiunilor neurologice, dermatitelor ș. a. Includerea medicamentelor tradiționale în dezvoltarea paradigmelor de tratament din secolul XXI poate facilita accesibilitatea economică, comoditatea și acceptabilitatea tratamentelor pentru diferite pături sociale din diferite țări cu nivel economic de dezvoltare variat [36].

Cercetarea științifică în domeniul identificării noilor produse naturale avansează chiar dacă nivelul de investiții în domeniu este destul de modest. Direcția de evoluție cea mai probabilă în domeniul preparatelor medicamentoase naturale este de la preparate cu o singură moleculă la extracte bioactive îmbogățite bine definite. Pe măsură ce tehnologiile de obținere a preparatelor naturale avansează, evoluează și metodele de analiză, care devin mai precise și mai sensibile și permit determinarea unor cantități limitate de produs individual.

Lucrul cu preparatele naturale complexe cere adesea o abordare principial nouă, comparativ cu tehnicile analitice tradiționale, care sunt foarte bune în identificarea și cuantificarea moleculelor unice, dar nu fac față în cazul studiului amestecurilor complexe. Acest lucru poate fi depășit de domenii emergente, cum ar fi metabolomica, care se ocupă de

amestecuri și folosește capacitatea statisticii multivariante pentru a identifica potențiali biomarkeri, de exemplu, o clasă unică de produse naturale [124].

O altă abordare strategică eficientă în lucrul cu preparatele policomponente este crearea bibliotecilor de organisme, care vor fi esențiale pentru dezvoltarea de medicamente ce au mai multe componente active și cu efecte multiple pentru sănătate [105]. De asemenea, se cer modificări esențiale în studiul farmacocineticii preparatelor naturale policomponente. Și aici din nou se va ține cont de modificările lichidelor circulante și mediului intern al organismului, care administrează un anumit fitopreparat medicamentos. O asemenea abordare sistemică biologică permite evaluarea completă a eficacității unor astfel de terapii, ceea ce stă la baza medicinei bazate pe dovezi.

Fitoterapia bazată pe dovezi și cercetarea care se concentrează pe studiul amestecurilor de substanțe naturale oferă o perspectivă nouă și inovativă în domeniul tratării și prevenției maladiilor omului contemporan.

## **1.2. Fitopreparate curativo-profilactice în baza moleculelor unice și a amestecurilor**

Produsele naturale din plante au stat la baza multor medicamente, comercializate actualmente pe piața farmaceutică mondială. Descoperirea majorității moleculelor active din componența biomasei vegetale a fost făcută din întâmplare. Cu toate acestea, datorită experienței milenare de aplicare a fitoterapiilor, dar și datorită progreselor științelor analitice, s-au acumulat multiple cunoștințe despre efectele benefice asupra sănătății a anumitor plante, dar și despre componența lor biochimică. În prezent se pune accent pe cercetări, privind utilizarea tradițională a plantelor medicinale și izolarea ulterioară a constituenților bioactivi ai acestora. Îmbunătățirea performanțelor medicamentelor naturiste existente și elaborarea preparatelor noi în bază de plante poate fi realizată prin asocierea tehnicilor analitice moderne cu studiile preclinice și clinice ale medicamentelor tradiționale.

Raționalitatea utilizării, eficacitatea și siguranța medicamentelor tradiționale pe bază de plante poate fi validată prin studii clinice cu administrarea preparatului tradițional formulat sau a extractelor standardizate din sursa vegetală respectivă. Din punct de vedere farmacologic, în multe cazuri, eficacitatea clinică a unei anumite plante date nu poate fi explicată prin prezența unui singur compus activ. În esență, utilizarea preparatelor tradiționale, cum sunt ceaiurile, decocturile, tincturile, balsamurile, este asociată cu aportul de amestecuri complicate de componente naturale care pot acționa în mod diferit asupra mai multor ținte [53, 90, 154, 165].

Mecanismele care stau la baza acțiunii terapeutice sinergice ale preparatelor pe bază de plante sunt următoarele:

- diferiți agenți pot acționa asupra aceleiași ținte, sau asupra țintelor diferite pe diverse căi și, prin urmare, cooperează într-un mod agonist, sinergic;
- diferite substanțe reglează activitatea enzimelor și transportorilor care sunt implicați în metabolismul hepatic și intestinal pentru a îmbunătăți biodisponibilitatea medicamentelor, administrate pe cale orală;
- diferite substanțe facilitează depășirea mecanismelor de rezistență la medicamentele ale celulelor microbiene și canceroase;
- diferite substanțe elimină efectele adverse și îmbunătățesc potența farmacologică a agenților prin funcționalizare sau prin interacțiuni medicament-medicament.

În același timp, sinergia între componentele preparatelor naturale poate fi și negativă, adică cu efecte negative asupra organismului. De aceea, explorarea mecanismelor sinergice ale ingredientelor din plante va facilita nu numai descoperirea noilor fitopreparate sau combinații de medicamente, dar va ajuta și la evitarea eventualei sinergii negative. Fiecare combinație nouă de preparate naturale necesită cercetări clinice suplimentare pentru verificarea mecanismelor sinergice posibile [165].

Interacțiunile sinergice au o importanță vitală în fitomedicină, deoarece explică dificultățile în izolarea unui singur ingredient activ, precum și eficacitatea dozelor aparent foarte mici de constituenți activi într-un produs pe bază de plante. Acest concept, potrivit căruia un extract întreg sau parțial purificat dintr-o plantă oferă avantaje față de un singur ingredient izolat, stă la baza filozofiei medicamentului pe bază de plante. În ultimul timp s-a adunat un număr mare de dovezi, care susțin apariția sinergiei în fitopreparate. Interacțiunile sinergice sunt documentate pentru constituenții dintr-un extract total dintr-o singură plantă, precum și pentru constituenții obținuți din diferite plante medicinale, adunați într-o formulare comună. Există dovezi elocvente ale sinergiei între componentele extractelor de *Ginkgo biloba*, *Piper methysticum* (*Kava-Kava*), *Glycyrrhiza glabra*, *Hypericum perforatum*, *Valeriana officinalis*, *Cannabis sativa*, *Salix alba* și altele [158].

Dezvoltarea de preparate policomponente și poliherbale este determinată și de argumente economice. În perspectiva procesului de descoperire a noilor medicamente, orientarea industriei farmaceutice este spre preparate din plante valoroase din perspectiva sănătății globale. Piața mondială farmaceutică este în creștere și a atins 165 miliarde de dolari în 2016. Această creștere este determinată de mărirea veniturilor populației și de menținerea costurilor scăzute pentru

medicamente, de implementarea programelor guvernamentale de sporire a accesului la medicamente în țările în curs de dezvoltare [36]. O asemenea politică duce mai puțin spre dezvoltarea de medicamente bazate pe o singură moleculă și mai mult spre medicamente în bază de extracte din plante cu compoziție definită. Astfel de produse naturale sunt denumite fitofarmaceutice (în țările Uniunii Europene) sau botanice (în SUA) [61]. Statutul acestor produse variază de la o țară la alta și pot fi înregistrate fie sub formă de suplimente alimentare, fie sub formă de medicamente în sine, dacă sunt efectuate studii clinice și este aprobată înregistrarea acestora.

Formularea extractelor naturale din plante este crucială într-o perspectivă farmaceutică pentru tratamentul sau prevenirea diferitor maladii, dar și din punct de vedere al industriei alimentare în vederea obținerii unor beneficii de sănătate cum ar fi introducerea alimentelor funcționale și nutraceutice [133].

De rând cu plantele, microalgele și cianobacteriile sunt și ele surse naturale foarte interesante și valoroase de compuși bioactivi de înaltă valoare, precum vitamine, aminoacizi esențiali, acizi grași polinesaturați, minerale, carotenoizi, enzime, fibre ș.a. Datorită potențialului lor, microalgele au devenit unele dintre cele mai promițătoare și inovative surse de produse funcționale noi. Mai mult, microalgele și cianobacteriile pot fi utilizate ca ingrediente funcționale pentru a spori valoarea nutritivă a alimentelor și, astfel, pentru a afecta favorabil sănătatea umană prin îmbunătățirea stării de bine și a calității vieții, dar și prin reducerea riscurilor de îmbolnăvire, în calitate de produse de prevenție [95].

În organele plantelor substanțele cu activitate biologică se găsesc în formă de conjugate cu molecule de glucide (numite glicozide). În acest fel, plantele depozitează metaboliți secundari cheie, care sunt adesea implicați în realizarea mecanismelor de apărare a plantei de diferiți factori nocivi. Printre aceștia pot fi compușii de apărare foarte activi, cum ar fi, de exemplu, glucozinolații și glicozidele cianogenetice. Frecvent, glicozidele nu sunt active direct pe ținte terapeutice, însă pot deveni eficiente din punct de vedere biologic la metabolizarea lor în corpul omului. Astfel de glicozide în componența preparatelor naturale devin active doar ca rezultat al unui proces enzimatic de activare a preparatului [36].

Un alt exemplu sunt antronele cu efect laxativ din diferite plante, de exemplu din Aloe, în care acestea se află sub formă de C-glicozide. Acestea ajung intacte în intestin, unde sunt hidrolizate realizându-și astfel efectul terapeutic. Extractele vegetale pot conține astfel componente bioactive sub formă de pro-medicamente și, în unele cazuri, acești compuși pot oferi derivați optimizați pentru atingerea țintelor terapeutice, ceea ce explică de ce un număr important

de produse naturale vegetale trebuie să fie modificate chimic pentru a obține o eficacitate optimă și efecte toxicologice reduse [104].

Utilizarea îndelungată și cu succes a combinațiilor de medicamente pe bază de plante din medicina tradițională conduce spre ideea superiorității farmacologice și terapeutice a multor produse naturale în comparație cu moleculele unice izolate. În acest sens, datorită prezenței mai multor componente bioactive în extractele din masa vegetală ori din microlage și cianobacterii, este posibil să apară anumite efecte sinergice. Această afirmație este susținută de efectele farmacologice superioare ale amestecurilor de compuși din botanice comparativ cu efectele substanțelor unice. Astfel de efecte, precum și efectele generate de acțiunea unei singure molecule active asupra mai multor ținte sunt totuși greu de dovedit experimental, și aici se impune o metodologie principial nouă, despre care am vorbit anterior [53].

Verificarea unui efect sinergic dat poate fi obținută prin compararea efectelor farmacologice ale mono-substanțelor versus combinația de substanțe, prin analizarea curbelor izobole pe baza datelor din mai multe combinații de doze. Analiza unor astfel de curbe permite discriminarea dintre efectele simple aditive, interacțiunile antagonice sau sinergismul real cu efecte potențate sau supra-aditive [165]. Multe dintre aceste tipuri de studii, precum și efectele multitarget ale combinațiilor de molecule, au prezentat dovezi în favoarea superiorității terapeutice a extractelor de plante asupra constituenților monomoleculari. În funcție de componența preparatelor, sinergismele pot fi produse prin interacțiuni diferențiale (de exemplu, alosterice) între liganzii diferitor componente. Diferite preparate pot acționa sinergic pur și simplu prin inhibarea parțială a diferitelor noduri (reacții) dintr-o rețea biologică anumită care asigură expresia genelor concrete [53].

Polifarmacologia (acțiunea unei substanțe asupra mai multor ținte) și sinergismele au dus la apariția unei noi paradigme în procesul de descoperire a preparatelor naturale noi. Această paradigmă se bazează pe abordări biologice ale sistemelor emergente, în special pe abordările „omice” [23, 151]. De exemplu, metabolomica a fost aplicată la studiul răspunsurilor biologice umane la ingestia de ceai de mușețel. Acest studiu a evidențiat markerii legați de ingestia ierburilor și a demonstrat potențialul unei astfel de abordări [155]. De asemenea au fost dezvoltate abordări ample, care combină fitoprofilul preparatelor și metabolotipizarea organismelor supuse acțiunii acestor preparate [161].

În ansamblu, astfel de abordări holistice ar putea oferi dovezi ale eficacității medicinei personalizate, care este intrinsec legată de utilizarea medicamentelor tradiționale. Astfel de studii ar putea duce în cele din urmă la o fitoterapie bazată pe dovezi, care să ofere un mijloc de diferențiere a efectelor de placebo de eficacitatea farmacologică reală a preparatelor naturale.



Cu toate că extractele și amestecurile multicomponente au o eficiență terapeutică și de prevenție mai mare decât constituenții individuali, există și anumite riscuri de utilizare a lor. Unul dintre ele este probabilitatea mai mare de a duce la interacțiuni cu alte medicamente [114]. De exemplu, s-a demonstrat, că fitopreparatele care conțin *Hypericum perforatum* (sunătoarea) provoacă mai multe interacțiuni medicamentoase prin inducerea enzimei CYP3A4 care metabolozează citocromul P450, având efecte antagoniste în cazul unor preparate antineoplazice, imunomodulatoare și antivirale. Extractele din *Camellia sinensis* interacționează negativ cu unele sedative, extractul din ginseng *Panax ginseng* interacționează antagonist cu agenții diuretici și anticoagulanți, extractele din *Ginkgo biloba* interacționează negativ cu anesteticele și analgezicele [114].

Astfel, cu toate că în cele mai multe preparate poliherbale este demonstrat sinergismul componentelor lor active, aplicarea sigură a remediilor fitofarmaceutice policomponente necesită o abordare sistemică, bazată pe cercetări serioase în domeniul eficienței și siguranței produselor de origine vegetală de acest tip.

### **1.3. Elaborarea tehnologiilor de producere a noilor produse curativo - profilactice naturale**

Alimentația sănătoasă este una din componentele de bază care asigură menținerea și fortificarea sănătății omului [208, 210, 212]. De rând cu nutrienții de bază, organismul uman are nevoie de o serie de compuși, care intensifică procesele antioxidante, contribuind la detoxifierea organismului, vitamine și alți metaboliți activi, care se găsesc în cantități importante în produsele vegetale [209, 211]. Substanțele cu activitate biologică înaltă din plante pot influența procesele de transport activ a substanțelor în intestinul subțire [213] și calitatea microbiotei intestinale [204]. Astfel, utilizarea produselor din plante medicinale este o cale eficientă de fortificare a stării de bine a omului.

Utilizarea plantelor medicinale este veche ca și existența omenirii. Conform datelor Organizației Mondiale a Sănătății (OMS), aproximativ 80% din populația mondială utilizează produse pe bază de plante medicinale. Fitoterapia se bazează pe utilizarea medicamentelor pe bază de plante și a extractelor vegetale de diferit în scopul prevenirii și tratamentului diferitor maladii, inclusiv maladiilor grave în calitate de suplimente la medicația de bază.

Conceptul modern în aplicarea preparatelor în bază de plante, microalge și cianobacterii, microorganisme și țesuturi animale poartă denumirea de **fitoterapie rațională** fundamentată pe utilizarea produselor realizate din extracte standardizate din materii naturale sigure. Conceptul de fitoterapie rațională a fost lansat în Germania la sfârșitul secolului trecut și curând a fost acceptat

pe scară largă în alte țări europene. Conceptul a fost creat din necesitatea îmbunătățirii domeniului fitoterapiei, pentru ca preparatele din plante să fie mai eficiente, mai sigure, iar utilizarea lor să se facă pe baza rezultatelor studiilor clinice. Medicamentele pe bază de plante, care sunt utilizate în fitoterapia rațională, sunt preparate din extracte de plante standardizate, pentru care este cunoscută natura chimică a principiilor active, și care prezintă efect terapeutic dependent de doză, efectele adverse și contraindicațiile lor sunt cunoscute, iar calitatea lor farmaceutică este bine definită și standardizată [39].

Calitatea fiecărui produs final este garantată prin utilizarea de materii prime de calitate standard, aplicarea tehnologiilor de producere performante, implementarea sistemului de control al calității produselor naturale obținute din plante (tincturi, extracte și uleiuri esențiale, băuturi), care funcționează în conformitate cu cerințele Farmacopeilor (naționale, europene) și a altor acte de reglementare relevante.

Elaborarea unui nou produs curativo-profilactic natural este un proces care are etape strict definite. Aceste etape pot fi aranjate în următoarea ordine:

- Analiza pieței de desfacere și a studiul bibliografic;
- Formularea rețetei produsului curativo-profilactic;
- Testarea în laborator a materiei prime utilizate pentru fabricarea produsului curativo-profilactic;
- Elaborarea elementelor lanțului tehnologic de fabricație a produsului curativo-profilactic pe bază de plante și alte surse naturale:
  - Elaborarea procedeeleor de extragere a componentelor active;
  - Elaborarea procedeeleor de obținere a amestecului de ingrediente active în cazul rețetelor poliherbale;
  - Stabilirea ordinii adăugării componentelor în rețeta produsului curativo-profilactic natural;
  - Identificarea punctelor critice în procesul tehnologic în scopul asigurării eficienței și siguranței produsului în baza aplicării controlului intermediar al calității;
- Transferul tehnologic al elaborărilor realizate în producere și producerea industrială a preparatului curativo-profilactic;
- Definirea formei de ambalare a acestuia;
- Elaborarea parametrilor de Control final al calității fitopreparatului;

- Elaborarea documentației tehnice și a dosarului de înregistrare a produsului curativo-profilactic;
- Asigurarea protecției proprietății intelectuale a elaborărilor;
- Introducerea produsului curativo-profilactic final în producerea industrială.

**Analiza pieții de desfacere** poate fi efectuată atât în baza statisticilor existente, care se referă la acceptarea de către populație a fitopreparatelor, valoarea comercială a produselor vândute într-o anumită zonă, precum și în baza sondajelor sociologice organizate în baza unei metodologii calitative.

**Studiul bibliografic** se face cu scopul de a identifica nivelul de cunoaștere despre anumite specii de plante, care prezintă interes pentru elaborarea preparatului curativo-profilactic nou. Plantele care pot fi utilizate în astfel de preparate trebuie să fie recunoscute în general ca sigure, în baza unei clasificări recunoscute de autoritățile de reglementare, precum este de exemplu Administrația Americană a Alimentelor și Medicamentelor (FDA) în SUA și Agenția Europeană a Medicamentelor (EMA) sau European Food and Safety Authority (EFSA) în spațiul european [106].

Preparatele pe bază de plante sunt o sursă extrem de importantă pentru descoperirea multor medicamente. Morfina, care a fost primul produs pur natural izolat, a fost introdusă în farmacoterapie în 1826, fiind produsă de compania Merck. Prima substanță pură semisintetică - aspirina, pe bază de acid salicilic, a fost izolată din scoarța salciei *Salix alba* și a fost produsă în 1899 de compania Bayer. Aceasta a fost urmată de izolarea compușilor activi din diferite plante: digitoxina, codeina, pilocarpina, chinina și multe altele, dintre care unele sunt încă utilizate până în prezent. În terapie au fost introduse multe remedii pe bază de plante, apărute după teste științifice extinse asupra plantelor medicinale binecunoscute din cele mai vechi timpuri. De exemplu preparatul fitoterapic Silymarin, extras din semințele de *Silibum marianum*, este utilizat ca hepatoprotector; preparatul Paclitaxel, obținut din scoarța de *Taxus brevifolia*, se aplică în tratamentul cancerului pulmonar, ovarian și mamar; preparatul Artemisinin din planta *Artemisia annua* se folosește pentru a combate formele de malarie cu rezistență multiplă [18, 72, 149, 159]. În ultimii ani, multe preparate din plante, utilizate de medicina tradițională a diferitor popoare și-au găsit locul pe piața farmaceutică în calitate de medicamente oficiale. De exemplu derivatul atropinei Tiotropium obținut din *Atropa belladonna* se aplică pentru tratarea bronșitei obstructive și cronice; Galantamina, un alcaloid obținut din *Galanthus nivalis*, este utilizat pentru ameliorarea simptomelor bolii Alzheimer; Apomorfina - un compus semisintetic pe bază de morfină din *Papaver somniferum* este utilizat pentru ameliorarea stării pacienților cu maladia

Parkinson [59, 66, 117]. Putem spune cu siguranță că un număr mare de plante medicinale, care în trecut, au fost folosite cu succes în diferite terapii, după un studiu științific al componentelor lor biochimice au devenit materii prime importante pentru producerea de medicamente pe bază de plante [12, 39].

**Formularea rețetelor** de produse poliherbale se efectuează în baza cunoștințelor despre efectele, interacțiunea, eficacitatea și dozele curative recomandate pentru fiecare dintre ingredientele utilizate [12, 39, 197].

Rețetele remediilor pe bază de plante și conținutul de substanțe active, care vor fi declarate în preparat, depinde de tipul de produs care va fi înregistrat – medicament, supliment alimentar, balsam ori altele. Pe lângă rețeta componentelor de bază, la această etapă sunt selectate și materiale auxiliare. Desigur, rețeta este supusă unor mici corecții în timpul procesului de producție.

Etapile următoare ale elaborării rețetei unui nou preparat pe bază de plante necesită implicarea laboratorului de cercetare științifică și de calitate, care realizează analiza substanțelor active din materiile prime ale plantelor selectate și controlul calității prescrise de Farmacopee sau alt document relevant. După aceea, se realizează formularea preparatului (de exemplu ceaiuri sau picături de plante, tincturi, comprimate, balsamuri etc.).

Pe lângă materiile prime principale, sunt selectate materiile prime secundare, care vor facilita sinergic exercitarea funcțiilor terapeutice de către componentele de bază ale produsului de origine vegetală. În cazul unguentelor, comprimatelor, gelurilor, supozitoarelor, se mai selectează suplimentar și excipiente auxiliare. În felul acesta se definitivează rețeta finală a produsului pe bază de plante. De asemenea, la această etapă sunt stabilite și testele necesare pentru identificarea și cuantificarea componentelor active, care vor fi declarate pentru fiecare produs fitoterapic în parte.

Următoarea etapă în elaborarea unui preparat de origine vegetală nou constă în **selectarea unei tehnici adecvate de extragere a componentelor active** din biomasa plantelor, microalgele ori cianobacteriilor. Preparatele medicinale din plante sunt obținute din materia primă vegetală prin aplicarea procedurilor de distilare, extracție, macerare, filtrare ș.a.

Printre *tehnicele de extragere* a componentelor bioactive din biomasa plantelor se remarcă *extracția cu fluid supercritic*, care este una din cele mai preferate proceduri pentru extragerea substanței bioactive din plantele medicinale și aromatice [29]. Extracția cu fluid supercritic este un proces de separare în care substanțele sunt dizolvate într-un fluid, care este capabil să-și modifice puterea de dizolvare în condiții specifice, ce depășesc temperatura și presiunea critică a acestora. CO<sub>2</sub> a devenit fluidul supercritic ideal în industria farmaceutică, datorită

caracteristicilor sale unice: temperatura critică, care este de 31,06°C; presiunea critică, care este de 73,83 bar; și densitatea critică, care este 0,46 g / cm<sup>3</sup>.

O altă tehnică de extracție aplicată pe larg în industria farmaceutică este *extracția asistată de microunde (EAM)*. Tehnologia EAM include extracția compușilor cu valoare ridicată din surse naturale, inclusiv a fitonutrienților, ingredientelor nutraceutice și funcționale cu activitate farmaceutică din biomasă [5]. EAM este aplicabilă pentru extragerea diferitor clase de substanțe cu activitate biologică înaltă, cum ar fi carotenoizii, acizii grași esențiali, fitosterolii, polifenolii ș.a. din diferite surse – plante microalge și cianobacterii. În comparație cu metodele convenționale de extracție în solvenți, această metodă permite obținerea unui produs îmbunătățit cu o puritate brută înaltă. Utilizarea solvenților toxici este redusă la minim, se atinge o stabilitate a marcherilor specifici în extracte. Costurile implicate în această metodă sunt minimale, gradul de recuperare a substanțelor active este foarte înalt, iar viteza de extragere este foarte rapidă.

*Macerarea* este o tehnică extractivă care se realizează la temperatura camerei. Ea constă în scufundarea masei vegetale într-un lichid (apă, ulei, alcool etc.) în interiorul unui recipient etanș, pentru o perioadă de timp variabilă. Înainte de inițierea procedurii de macerare masa vegetală este spălată, separată de material străin, cum ar fi solul, pietricelele, buruienile și materialele care nu sunt adecvate pentru extracție, apoi umezită cu solventul utilizat în macerare. Materialul vegetal poate fi utilizat în stare proaspătă sau uscată în dependență de produsul dorit. Pentru a mări suprafața de contact dintre materialul vegetal de extras și lichidul de extragere (solventul), materia vegetală trebuie mărunțită. Particulele obținute nu trebuie să fie prea mari, altfel solventul nu va putea pătrunde în celulele din profunzime. De asemenea, nu trebuie reduse la pulbere; asta ar avea ca rezultat pierderea ingredientelor active volatile (uleiuri esențiale) conținute în materia vegetală și complicarea procedurii de separare a extractului la finalul procesului de macerare. Solventul trebuie ales pe baza naturii chimice a compușilor conținuți în materia vegetală. La alegerea solventului se ține cont de gradul de solubilitate a compușilor de interes, dar și de natura produsului dorit. În general, alcoolul etilic este cel mai des utilizat în acest sens, deoarece este capabil să extragă o parte mare din ingrediente active conținute în biomasa plantelor, inclusiv molecule care sunt hidrofile, dar și lipofile [68, 123, 135].

*Percolarea* se aplică pentru prepararea tincturilor și extractelor fluide. Percolatorul este un vas conic cu o deschidere superioară în care este plasat un capac găurit circular, care permite trecerea lichidului și supune materialele plasate în vas acțiunii unei ușoare presiuni. Partea inferioară are un orificiu de scurgere reglabil, care permite trecerea fluidului la o viteză convenabilă. Materialul vegetal este umezit prealabil cu o cantitate adecvată de solvent timp de 4

ore, după care se trece în percolator. Se toarnă solvent astfel ca să acopere materialul vegetal complet și se lasă pentru 24 ore. După acest timp, se adăugă solvent în volum de 3/4 din volumul total necesar pentru produsul final. Masa umedă este presată pentru a extrage lichidul rezidual maxim reținut, iar percolatorul este completat cu volumul de solvent suficient pentru a obține proporția adecvată. Lichidul se scurge, apoi se filtrează [135].

*Extragerea hidro - etanolică* este una dintre cele mai des aplicate tehnici de extragere a principiilor active din biomasa vegetală [4, 9, 60]. Această metodă este nontoxică, permite obținerea substanțelor hidro- și etanol solubile din masa vegetală, extractele nu necesită etape suplimentare de purificare, și sunt compatibile cu alte componente vegetale, în special în cazul băuturilor curativo-profilactice cu conținut de etanol.

**Controlul calității.** Calitatea fiecărui produs final este asigurată de calitatea standard a materiilor prime, precum și de procesele tehnologice eficiente aplicate. Ediția a 9-a a Farmacopeii Europene Ph Eur 9 cuprinde 270 de monografii ale medicamentelor din plante și preparate din plante medicinale, care reglementează strict calitatea și parametrii de control a mării majorității a materiilor prime, care sunt utilizate pentru producerea preparatelor curativo-profilactice.

Calitatea materialului vegetal poate fi influențată de mai mulți factori. Indiferent dacă plantele medicinale sunt cultivate sau colectate din sălbăticiie, factorii biogenetici sunt principalii, care determină calitatea materialului. La aceștia se referă apartenența de specie, soi sau chimiotip. Următorii factori după importanța influenței asupra calității materiilor prime sunt factorii de mediu – calitatea aerului, clima, tipul de teren, măsurile agrotehnice aplicate în timpul producției pe scară largă (însămânțare adecvată, irigare, fertilizare, control al dăunătorilor). Este important și modul în care se realizează colectarea și transportarea materiei vegetale, depozitarea corespunzătoare, uscarea și măcinarea. Controlul calității materiilor prime pe bază de plante este strict definit. În primul rând, este abordată identificarea materiilor prime vegetale. Persoanele responsabile și experte în laboratoarele pentru controlul farmaceutic sau în alte instituții relevante, realizează identificarea și clasificarea materiilor prime. Printre parametrii de care se ține cont în cadrul controlului calității materiilor prime sunt următorii:

1. Definiția: denumirea materiei prime pe bază de plante și conținutul de substanțe active;
2. Caracteristicile: aspect, gust, miros, solubilitate;
3. Identificare: examen macroscopic și microscopic, cromatografie în strat subțire;
4. Testele fizico-chimice: conținut de apă, pierderi la uscare, cenușă totală, materie străină, materie insolubilă, materie extractibilă, indice de umflare, contaminare microbiană ș.a;

5. Analizele: uleiuri esențiale, taninuri, substanțe active declarate (pentru determinări se aplică metode contemporane validate, așa ca cromatografia cu gaze și lichide, spectrometria în domeniul vizibil și ultraviolet ș.a.).

Extractele sunt cele mai utilizate preparate din plante. Extractele pot fi lichide, semi-solide sau de consistență solidă. Cei mai des folosiți solvenți sunt etanolul, apa și amestecurile de apă și etanol. Alegerea solventului depinde de natura ingredientelor care trebuie să treacă în extract. În declarația produsului, raportul dintre componentele amestecului de solvent utilizat pentru extracție trebuie să fie întotdeauna indicat. Calitatea extractului obținut depinde de materialul vegetal, de solvent, de raportul masă vegetală / solvent și de tehnologia de extragere aplicată.

Pentru a asigura un efect terapeutic stabil și repetabil, compoziția chimică a extractelor policomponente pe bază de plante trebuie să fie *standardizată*. Procedurile de standardizare sunt binecunoscute și se bazează pe cuantificarea principiului sau principiilor active (când acestea sunt cunoscute), detectarea markerilor (substanțelor) chimici pentru evaluarea originii botanice corecte a materialului vegetal, și o estimare cuprinzătoare a variabilității biologice a extractelor [148]. În plus, în funcție de natura materialului vegetal utilizat, se face o validare a metodelor analitice, care urmează a fi aplicate pentru a se asigura absența compușilor toxici sau alergenicici [120]. Aceste proceduri asigură calitatea produselor vegetale în ceea ce privește compoziția și siguranța pentru consumul uman.

Spre deosebire de un compus pur modul de acțiune farmacologică a unui amestec multicomponent este mult mai complicat de a fi verificat. Pe lângă efectele directe ale componentelor, în cazul preparatelor policomponente se ține cont de prezența substanțelor, care devin active ca rezultat al metabolizării ulterioare în organism (așa numitele pro-medicamente). Biodisponibilitatea diferită și posibilitatea manifestării efectelor sinergice complică și mai mult studiul farmacocinetic. De aceea, la etapa de standardizare este important de a evidenția componentele active stabile și ușor de urmărit, iar evidențierea efectelor despre care am menționat trece în etapa de studii clinice serioase, care sunt absolut necesare în cazul preparatelor naturale policomponente.

Ca și în cazul materiei prime există anumiți parametri ai controlului calității extractelor:

1. Definiția: extract lichid produs din... și conținut de substanțe active;
2. Producerea: se indică metoda de extracție și solvenții utilizați;
3. Caracteristicile: aspect, gust, miros;
4. Identificarea: cromatografie în strat subțire ori altă metodă;

5. Testele fizico-chimice: prezența și cantitatea de solvent, pierderi la uscare, contaminare microbiană;

6. Analizele: substanțe active declarate (pentru determinări se aplică metode contemporane validate, așa ca cromatografia cu gaze și lichide, spectrometria în domeniul vizibil și ultraviolet ș.a.).

Una dintre preocupările notabile, în special în ceea ce privește extractele din plante este identificarea unei potențiale prezențe a pesticidelor și a metalelor grele, conform cerințelor regulamentare. De obicei, limitele admisibile și metodele de determinare a compușilor menționați sunt indicate în specificația produsului finit și sunt în concordanță cu documentele regulatorii ale țării sau țărilor în care produsul se înregistrează [168].

Plantele medicinale și produsele pe bază de plante medicinale sunt foarte sensibile la influențele externe - temperaturile ridicate, umiditatea și lumina directă. Extractele din masa vegetală, microalgală și cianobacteriană sunt predispuse la reacții de oxidare, degradare, hidroliză și evaporare, astfel încât în timpul pregătirii remediilor din plante trebuie să se acorde o atenție deosebită unei serii de factori care pot afecta calitatea produsului final. Pentru a determina stabilitatea unui produs, pentru a defini condițiile de depozitare și durabilitatea, se efectuează teste de stabilitate, care includ investigarea efectelor factorilor de mediu asupra modificării calității produsului final. Testele de stabilitate sunt efectuate la diferite etape de dezvoltare și producere a preparatului polihierbal. În perioada de investigare, se efectuează primul test de stres, pentru a selecta cei mai optimi excipienți compatibili și cea mai bună formulare. Toate materiile prime utilizate, excipienții, ingredientele active și produsele de extracție sunt supuse testelor de stabilitate pentru selecta modul și forma de ambalare corespunzătoare. Stabilitatea este definită ca perioada în care produsul rămâne în limitele de calitate stabilite din specificația prescrisă [39].

**Redactarea documentației tehnice** este o parte integrată în procesul de elaborare a tehnologiilor noi de producere a preparatelor pe bază de plante. În cazul unui preparat polihierbal se elaborează specificațiile materiilor prime, materiilor intermediare și materialelor auxiliare. Pentru a defini doza recomandată de preparat, se determină intervalul de conținut al substanței active. Acest lucru se realizează prin validarea întregului proces tehnologic de producere.

Perfectarea finală a dosarului de înregistrare se realizează în dependență de grupul de remedii naturiste dorit pentru înregistrare (medicamente din plante, medicamente din plante tradiționale sau suplimente alimentare). Dacă se planifică înregistrarea unui nou produs ca supliment alimentar, atunci doza recomandată de produs trebuie să fie sub 65% din doza terapeutică pentru produsele active respective, înregistrate ca medicamente.



**Protecția proprietății intelectuale** face parte din procesul de elaborare a noilor tehnologii de producere a preparatelor poliherbale pe bază de plante și microalge. Este important de menționat că componența unui produs natural „nou” nu poate fi patentată în sine, iar în calitate de elemente inovative pot apărea doar procesele de extracție, purificare și utilizarea a substanțelor cu activitate biologică din componența biomasei vegetale. Cu alte cuvinte, un birou de brevete va acorda un brevet, pe o structură chimică care în prealabil a existat în natură numai prin existența unui proces inovativ de extracție sau de producere industrială.

Următoarea etapă constă în **verificarea tehnologiei de producere a preparatului natural**. Este deosebit de important, ca în procesul de transfer tehnologic să fie verificate toate verigile lanțului tehnologic, astfel ca să se asigure trasabilitatea rezultatelor obținute în condiții de laborator și în condiții de producere industrială. Aceasta din urmă este confirmată de proprietățile biologice ale produsului finit obținut în condiții industriale.

Preparatele naturale obținute în baza biomasei vegetale constituie un tezaur real pentru domeniul sănătății, oferind soluții atât în prevenția, cât și în tratamentul maladiilor, iar elaborarea fitopreparatelor noi este un proces laborios cu o perspectivă enormă din punct de vedere științific și tehnologic.

#### **1.4. Balsamurile curativo-profilactice**

Una dintre cele mai vechi forme de preparate curativo profilactice pe bază de material vegetal sunt balsamurile. Oamenii preparau diverse balsamuri din cele mai vechi timpuri, unele rețete supraviețuind până în zilele noastre. În ciuda faptului că balsamurile sunt preparate pe bază de alcool, ele sunt considerate medicamente terapeutice și de prevenție, dacă sunt luate în doze recomandate, datorită proprietăților inedite ale componentelor vegetale pe care le conțin. Din punct de vedere istoric mai întâi au apărut tincturile, iar după acestea - balsamurile, care diferă de tincturi prin faptul că au o compoziție mai diversă și o consistență mai densă.

În zilele noastre, interesul pentru balsamuri nu numai că nu s-a estompat, ci chiar s-a intensificat. Mulți oameni de știință studiază rețete antice și dezvoltă noi altele îmbunătățite. Un exemplu în acest sens balsamul Bittner cu renume mondial, apărut în secolul al XIX-lea. Acesta conține 27 ingrediente care au un efect de refacere și vindecare asupra organismului. Astfel, balsamul Bittner are acțiune diuretică, antispastică, anti-inflamatoare, antiseptică, tonică, acțiune anestezică și coleretică. Preparatul crește rezistența nespecifică a organismului, normalizează metabolismul și are un ușor efect sedativ. Acțiunea balsamului Bittner se datorează efectelor componentelor vegetale constituente cu proprietăți terapeutice și de prevenție.

Balsamurile sunt băuturi care conțin un număr mare de preparate naturale obținute din plante. Compoziția balsamului standard include 20-60 de componente diferite. Un balsam bun, de înaltă calitate are un miros plăcut, un gust amăruș și o culoare maro. Conținutul de alcool din balsamuri variază între 30-60%. Balsamurile se administrează în forma lor pură, adăugate la ceai, cafea, sau dizolvate cu apă, suc [197].

Tradițional balsamurile se preparau în modul următor. Materiile prime vegetale zdrobite erau amestecate și introduse într-un recipient special de sticlă. Deasupra lor se turna alcool etilic. Recipientul era închis etanș cu un capac și așezat într-un loc rece și întunecat. După 20-60 de zile (în funcție de rețetă), lichidul era scurs. După aceea, balsamul era filtrat se adăugau siropurile necesare, se mai menținea câteva zile într-un loc întunecat, se filtrează din nou și se turna în vase de sticlă.

Balsamurile conțin un număr mare de substanțe utile organismului uman (tanine, acizi organici, carbohidrați, grăsimi, proteine, minerale). De aceea balsamurile elimină starea de oboseală, încordarea nervoasă, armonizează activitatea organismului în timpul perioadelor de stres psihic și fizic puternic. În unele cazuri, se recomandă administrarea de balsamuri pentru a crește pofta de mâncare [205].

Balsamurile au efect de fortificare a sistemului nervos, inimii și vaselor sangvine, protejează organismul de dezvoltarea urolitiazii, îmbunătățesc procesele metabolice și ameliorează funcțiile tractului digestiv. Unele tipuri de balsam ajută la eliminarea oboselii cronice, iritabilității, tulburărilor de somn.

Ca remediu de prevenție, balsamurile sunt administrate cu scopul de a preveni gastrita, amigdalita, infecțiile virale respiratorii acute; ulcerul duodenal și stomacal; tulburările digestive; artritele și mialgiile.

În prezent de o mare popularitate se bucură tincturile și balsamurile preparate pe bază de materie primă vegetală, care se caracterizează prin proprietăți tonifiante și curativo-profilactice. De exemplu este cunoscută compoziția pentru obținerea balsamului curativo-profilactic "Dert-Dertman", care conține sunătoare, sovârf, rădăcină de aur, coajă de stejar, fructe de măceș, flori de tei, semințe de anason, garofițe, scorțișoară, vanilină, miere, soluție hidro - alcoolică [207]. Acest balsam conform prescripției, are efecte detoxifiante, adaptogene, antiinflamatorii și de reglare a proceselor fiziologice.

Un alt balsam curativo-profilactic "Ceaclun" conține în calitate de ingrediente extricate din rizom de obligeană, sovârf, sunătoare, coajă de stejar, frunze de izmă bună, talpa-gâștei, coada șoricelului, fructe de măceș, rizom de sclipeți, fructe de mărar, frunze de frag, rădăcină de omag, stigmată de porumb, frunze și muguri de mesteacăn, iarbă, frunze de urzică, iască, troscot,

flori de calomfir, flori de siminoc, flori de soc, frunze de pătlagină, adaosuri de fructe, ulei de anason sau molură, culoare, vanilină, acid citric, zahăr, soluție hidro - alcoolică [206].

Balsamul ”Taina mudreța” ajută la îmbunătățirea proceselor metabolice de bază și este constituit pe bază de sunătoare, *Rhodiola rosea*, oregano, scoarță de stejar, fructe de măceș, flori de tei, fructe de anason, fructe de mărar, partea aeriană și rizomi de *Echinacea purpurea*, fructe de păducel, miere și soluție hidroetanolică. Raportul de ingrediente este conceput atât pentru formulări concentrate, cât și pentru o formulare profilactică mai diluată. Balsamul activează imunitatea celulară, inhibă dezvoltarea tumorilor, reduce manifestările alergice [214].

O compoziție cunoscută de ingrediente pentru balsamul „Daghestan” conține rădăcină de valeriană, sunătoare, ghimbir, coriandru, melisa, mentă, nucșoară, piper negru, mărar, vanilină, zahăr, ulei de lămâie, culoare și soluție hidro - alcoolică. Pentru a crește proprietățile organoleptice ale produsului finit, acesta include, suplimentar, cuișoare, scorțișoară, ardei iute, licorice, tarhon, galbenele, cimbru, cicoare, gutui, păducel, piersică, nuci, ulei de portocală [205].

Balsamul ”Gorno-Altisk” include extracte din obligeană, muguri de mesteacăn, trifoi dulce, oregano, sunătoare, mentă, nucă de pin, pelin, radiola, galbenele, suc din mere, sirop de zahăr, ulei, miere, frunze de ardei gras, frunze de galbenele, flori de galbenele, frunze de șofran, rădăcină de brusture, piper de apă, rădăcină de bujor, muguri de plop, suc de cătină, ulei de portocale, anilină, soluție hidroetanolică [214].

Un set mai accesibil de materiale vegetale include compoziția ingredientelor pentru balsamul ”Kiev”, și anume extract din petale de trandafir, isop medicinal, oregano, trifoi dulce, balsam de lămâie, calendula, cimbru, pelin amar, platan, hamei, flori de mușețel, fructe de cardamom, mentă creată, eleutrococ, melasă, zahăr, culoare și soluție hidro - etanolică. Acțiunea benefică a acestui balsam vizează îmbunătățirea activității tractului gastro - intestinal, iar includerea infuziei de *Eleutherococcus* îi dă un efect tonic [214].

Balsamul ”Agidel”, care conține rizom de obligeană, oregano, muguri de mesteacăn, trifoi dulce, sunătoare, flori de porumb, gălbenele, scoarță de stejar, scoarță de cătină, coriandru, floare de tei, mentă, frunze și flori de coada șoricelului, coacăze, pelin amar, muguri de pin, afine, conuri de arin, scoarță de scorțișoară, mere proaspete, căpșuni proaspete, culoare, acid citric și soluție hidroetanolică asigură creșterea imunității, reglarea metabolismului și îmbunătățirea activității sistemului cardiovascular [214].

La începutul secolului, în Moldova, pornind de la rețetele analizate mai sus a fost elaborat un balsam autohton, înregistrat cu marca ”Monomah”, care a inclus următoarele componente: rizom de obligeană, sovârf, sunătoare, frunze de izmă bună, coada-șoricelului, adaosuri de fructe, colorant, vanilină, acid citric, zahăr, soluție hidro - alcoolică, conține suplimentar muguri de pin,

rădăcină de lemn dulce, iar ca adaosuri de fructe se utilizează suc alcoolic de aronie neagră, suc alcoolic de scorușe de munte și suc alcoolic de măr. Balsamul curativo-profilactic "Monomah" previne sau înlătură definitiv modificările negative în activitatea nervoasă superioară provocate de stres, are efect tonifiant, contribuie la eliminarea radionuclidului  $^{137}\text{Cs}$  din organism, redresează structura subcelulară a ficatului, encefalului, redresează circulația sangvină, reduce dereglarea permeabilității membranelor celulare, mai cu seamă în celulele epiteliale ale vilozităților intestinului subțire, precum și ale membranelor bazale ale capilarelor organelor interne la iradierea cu  $^{137}\text{Cs}$ . Utilizarea balsamului curativo-profilactic contribuie la dezvoltarea proceselor compensatoare, de adaptare și regenerative destinate menținerii homeostazei intracelulare și normalizării stării morfofuncționale a organismelor la iradierea cu  $^{137}\text{Cs}$ . [181].

Unul dintre cele mai cunoscute balsamuri autohtone este balsamul care a fost înregistrat cu marca comercială "Făt-Frumos" ce conține macerat din materia primă vegetală: rizomi de obligeană, frunze de izmă bună, rădăcină de lemn dulce, muguri de pin, părți aeriene de sovârf, sunătoare și coada-șoricelului, precum și suc de mere alcoolizat, caramel, acid citric, zahăr și soluție hidro - alcoolică, caracterizată prin aceea că conține suc de struguri alcoolizat [176].

Încă un balsam autohton elaborat în baza materiilor prime locale vegetale este definit de următoarea componență: rizomi de obligeană, partea aeriană de sovârf, partea aeriană de sunătoare, partea aeriană de coada - șoricelului, rădăcină de lemn dulce, rizomi și rădăcini de leuzea safloroformă, suc de struguri alcoolizat, caramelă, acid citric, zahăr și soluție hidro - alcoolică [189].

Acest balsam este caracterizat prin proprietăți tonifiante pronunțate. Rizomii și rădăcinile de leuzea safloroformă, care intră în componența compoziției de balsam, conțin acizi organici, rășini, uleiuri eterice, substanțe tanante și coloranți, alcaloizi, vitamine, acid ascorbic, caroten, inulină și alți compuși. Leuzea safloroformă exercită un efect excitant asupra sistemului nervos central ce se manifestă prin sporirea activității motorii, excitabilității reflexive și prin îmbunătățirea nivelului reacțiilor de comportament. Leuzea mai are și proprietăți tonifiante. Componentele galenice ale leuzeei prelungesc simțitor perioada activă a organismului, diminuează influența factorilor nocivi în cazul unor sarcini fizice istovitoare. Sucul de struguri, în deosebi de soiuri roșii, în cantitatea ce depășește conținutul lui în compozițiile deja cunoscute, îmbogățește compoziția cu: glucoză, fructoză și alte zaharuri ușor asimilabile; diferiți acizi organici (malic, tartric, silicic, citric, succinic, galic, formic, oxalic, salicilic, pectic); substanțe minerale și tanante; microelemente (potasiu, calciu, magneziu, fier, mangan, cobalt); vitamine (C, B1, B2, provitamina A (caroten)); bioflavonoide; fermenți (invertază, protează, pectinază ș.a.) și cu fitoncide. Componența echilibrată a acestui balsam favorizează principalele procese

metabolice în organism, reglează și restabilește activitatea tractului gastrointestinal și a sistemului nervos [189].

Un alt balsam autohton cu indici organoleptici și valoare biologică înaltă, cu calități curative și tonifiante îmbogățite este formulat în baza următoarelor ingrediente vegetale: rizomi de obligeană, partea aeriană de sovârf, partea aeriană de sunătoare, rădăcină de lemn dulce, rizomi și rădăcini de leuzee safloroformă, fructe de măceș, stigmate de porumb, precum și ingredientele: suc de struguri alcoolizat, caramel, acid citric, zahăr și soluție hidro – alcoolică [188].

Stigmatetele de porumb, care intră în componența compoziției de balsam conțin ulei de porumb și alți compuși biologic activi care sporesc secreția biliară și facilitează trecerea ei în intestine, scade tonusul vezicii biliare și asigură o ridicare stabilă ulterioară a tonusului. Fructele de măceș, care intră în compoziția balsamului conțin zahăr, pectine, tanină, acizi organici (malic, citric, oleic, linolic etc.), flavonoizi (cvercitrină, izocvercitrină, kempferol, rubicantină, lycopină etc.), uleiuri vâscoase, acid ascorbic, vitamine (B1, B2, P, PP, K), caroten (provitamina A), tocoferol (vitamina E), săruri de fier, mangan, fosfor, magneziu, calciu.

Preparatele din fructe de măceș manifestă efecte antiscorbutic, antisclerotic, ameliorează procesele de oxidoreducere în organism, deoarece acidul ascorbic și acidul dehidroascorbic, care se formează la oxidarea lui, participă la dezaminarea oxidativă a aminoacizilor aromatici, activează un lanț de sisteme de enzimatice, stabilizează conținutul adrenalinei și a altor catecolamine, stimulează rezistența organismului la influențele negative ale mediului ambiant, contra infecțiilor etc. astfel, cele două componente noi asigură achiziționarea unor proprietăți noi de către compoziția de balsam, fiind deosebit de importante pentru persoanele cu probleme biliare și cele cu deficit de vitamina C.

O serie întreagă de balsamuri autohtone au fost elaborate, având ca caracter distinctiv utilizarea vinului roșu de desert. Primul balsam din această serie are în componența sa următoarele ingrediente: partea aeriană de sovârf, sunătoare și coada-șoricelului, rizomi de obligeană, frunze de izmă bună, rădăcină de lemn dulce, muguri de pin, precum și ingredientele: vin roșu de desert cu tăria de 16% vol., zahăr, caramel, acid citric, vanilină și soluție hidro - alcoolică [183]. Balsamul conține vin roșu de desert cu tăria de 16% 40 vol., care are un gust specific și proprietăți radioprotectoare, la fel el acționează benefic asupra sistemului cardiovascular și gastroduodenal.

Următorul balsam din această serie conține macerat hidro - alcoolic din materia primă vegetală: partea aeriană de sovârf, sunătoare și coada-șoricelului, rizomi de obligeană, rădăcină de lemn dulce, rizomi și rădăcină de leuzee safloroformă, precum și ingredientele: vin roșu de desert cu tăria de 16% vol., caramel, acid citric, zahăr și soluție hidro – alcoolică [184]. Acesta

spre deosebire de anteriorul include maceratul de rizomi și rădăcină de leuzee safloroformă, beneficiile căruia au fost deja expuse. Datorită combinației reușite dintre ingredientele balsamului se obține un gust specific, totodată efectul curativo-profilactic la combinarea în deosebi a acestor ingrediente sporește semnificativ. Produsul se caracterizează printr-un buchet complex, cu aromă de plante și vin, cu un gust dulciu, specific. Balsamul poate fi adăugat în apă potabilă, ceai, cafea, diverse băuturi sau consumat ca atare, fără a fi diluat [184].

Din aceeași serie de produse curativo-profilactice face parte și balsamul, caracterizat prin aceea, că conține macerat hidro - alcoolic din materia primă vegetală: partea aeriană de sovârf și sunătoare, rizomi de obligeană, rădăcină de lemn dulce, rizomi și rădăcină de leuzee safloroformă, fructe de măceș, stigmatate de porumb, precum și ingredientele: vin roșu de desert cu tăria de 16% vol., caramel, acid citric, zahăr și soluție hidro - alcoolică [185]. Elementele distinctive ale acestei formule sunt maceratul din fructe de măceș și cel din stigmatate de porumb. Efectele benefice ale acestor două componente de asemenea, au fost expuse mai sus. În cadrul acestui balsam, acestea se asociază cu efectele benefice pe care le exercită vinul roșu din componența produsului dat. Ca și în cazul produsului precedent, balsamul se caracterizează printr-un buchet complex, cu aromă de plante și vin, gust dulciu, specific. Balsamul poate fi administrat ca atare, ori poate fi dizolvat în apă potabilă, ceai, cafea, sucuri ș.a.

Un alt balsam autohton cu conținut de vin roșu dulce se caracterizează prin compoziție simplificată, dar și prin diferite cantități ale maceratelor care fac parte din rețeta produsului curativo-profilactic. Astfel, balsamul conține macerat hidro - alcoolic din materia primă vegetală: partea aeriană de sovârf, sunătoare și coada-șoricelului, rizomi de obligeană, frunze de izmă bună, rădăcină de lemn dulce, muguri de pin, precum și ingredientele: vin roșu de desert cu tăria de 16% vol., zahăr, caramel, acid citric și soluție hidro - alcoolică [186]. Selectarea reușită a ingredientelor balsamului conferă produsului finit proprietăți organoleptice și curativo-profilactice importante. Mai mult ca atât, asigură efectul sinergic anume în această compoziție și în acest raport cantitativ, adică activitatea biologică a ansamblului de ingrediente depășește suma efectelor acțiunii fiecăruia dintre ele, ceea ce asigură proprietăți curativo - profilactice noi. Datorită combinației reușite dintre ingredientele balsamului se obține un gust specific foarte plăcut [186].

Un alt balsam autohton se deosebește de precedentele prin aceea, că nu conține vin, ci sucuri din aronie, scoruș și mere. Componența balsamului este următoarea: macerat hidro - alcoolic din materia primă vegetală: partea aeriană de sovârf, sunătoare, coada-șoricelului și melisă, rizomi de obligeană, rădăcină de lemn dulce, muguri de pin, precum și ingredientele: suc de aronie neagră alcoolizat, suc de scoruș de munte alcoolizat, suc de mere alcoolizat, zahăr, acid

citric, caramel și soluție hidro - alcoolică [187]. Maceratul din aronia se caracterizează prin conținut înalt de proantocianide și flavonoizi. Conținutul total de polifenoli este de 1752 mg la 100 g fructe uscate, conținutul de antocianină este de 1480 mg la 100 g fructe uscate, iar concentrația de proantocianidină este de 664 mg la 100 g fructe uscate. În Lituania se face un vin de aronia. În Polonia, fructele de aronia sunt adăugate la gemuri și sucuri sau uscate pentru a face ceai din plante uneori amestecat cu alte ingrediente, cum ar fi coacăza neagră. În Bosnia și Herțegovina, fructele de aronia sunt vândute proaspete și congelate sau transformate în sucuri, gemuri și ceaiuri. Aronia este de asemenea folosită ca aromă sau colorant pentru băuturi sau iaurturi. Sucul din fructele coapte este astringent, semi-dulce (cu conținut moderat de zahăr), acru (pH scăzut) și conține vitamina C. În Statele Unite și Canada, concentratul de suc de aronia este utilizat în amestecuri de sucuri fabricate.

Dintre elementele chimice constitutive ale fructelor de scoruș de munte menționăm taninile, acidul malic, acizii organici, uleiurile eterice, carotenul, zaharurile, sărurile minerale. Principalele acțiuni exercitate de preparatele din scoruș de munte sunt acțiunea depurativă, diuretică, hemostatică, antitusivă, antireumatică, astringentă, de mărire a diurezei și de curățare a epiteliul renal. Produsele din fructe de scoruș sunt eficiente în ateroscleroză, balonări, bronșită, colici intestinale, gastrită cu hipoaciditate, gingivite, hipovitamineze, migrene, reumatism, spondiloză, tuse.

Un alt balsam autohton în bază de macerate vegetale are următoarea compoziție: macerat alcoolic din materie primă vegetală: partea aeriană și rădăcină de pufuliță cu flori mici și de urzică, partea aeriană de sovârf, sunătoare, coada-șoricelului, rizomi de obligeană, frunze de izmă bună, rădăcină de lemn dulce, muguri de pin, precum și ingrediente: vin roșu de desert cu tăria de 16% vol., zahăr, caramel, acid citric, vanilină și soluție hidro - alcoolică (Brevet 52).

Urzica din componența balsamului conține: vitaminele C, B2, K, acid pantotenic, acid folic, enzime, minerale, acid linolenic, acid palmitic, acid succinic, acetilcolină, clorofilă, xantofilă, violaxantină, acid formic, ulei volatil, quercitina, flavonoizi, steroli, sitosteroli, stigmasterol, camferol, coproporfirină, 5-hidroxitriptamină, glucochinonă, secoisolariciresinol, lignină, lectină, aglutinină, urzica are efect antiviral și imunomodulator.

Pufulița cu flori mici conține compuși sterolici, datorită cărui fapt are acțiune hipocolesterolemiantă. Este recomandată în afecțiuni urinare, mai ales de tip inflamator: infecții urinare, nefrite etc. Acesteia i se atribuie acțiune regeneratoare asupra rinichiului. Mai are o acțiune astringentă și hemostatică, dezinfectantă, antiinflamatoare, decongestivă, regeneratoare tisulară. S-a stabilit că are acțiune regeneratoare asupra prostatei, este folosită în prostatită și în adenomul de prostată [180].

Balsamul reprezintă un lichid transparent de culoare roșie-brună, se caracterizează printr-un buchet complex de aromă de plante fără evidențierea unor anumite ingrediente, are un miros și gust specific amărui-dulciu. Balsamul se utilizează câte 30 ml la 100 ml apă fiartă, de 3...4 ori pe zi cu 30 min înainte de masă timp de 35 1...2 luni. Este interzisă depășirea dozei zilnice recomandate. Balsamul poate fi adăugat în ceai, cafea, diverse băuturi sau consumat fără a fi diluat [180].

Unul dintre balsamurile autohtone pe bază de macerate vegetale se deosebește esențial de celelalte prin aceea, că conține extract hidro - etanolic din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis*. Conform rețetei, acest balsam conține macerat hidro - alcoolic din materia primă vegetală: partea aeriană de sovârf, sunătoare și coada-șoricelului, rizomi de obligeană, frunze de izmă bună, muguri de pin, rădăcină de lemn dulce, fructe de curmal chinezesc, totodată balsamul mai conține extract hidro - alcoolic din semințe de struguri, extract hidro - alcoolic din biomasă de *Spirulina platensis*, vin roșu de desert, zahăr, caramel, acid citric, vanilină și soluție hidro - alcoolică [204].

Curmalul chinezesc din componența balsamului este cunoscut pentru faptul că are efecte de detoxifiere, este benefic pentru procesul de creștere, îmbunătățește starea mușchilor și le oferă rezistență. De asemenea, este recomandat ca tonic hepatic. Planta mai îmbunătățește rezistența sistemului imunitar la infecții și acționează ca sedativ. Totodată curmalul chinezesc are proprietăți hipotensive, diuretice și antiinflamatoare pronunțate. Curmalul chinezesc este îndeosebi bogat în conținut de fier, caroten, vitamina P, riboflavină, tiamină, acid nicotinic și tocoferol.

Extractul din semințe de struguri conține antioxidanți, substanțe ce protejează celulele de efectele nocive ale radicalilor liberi. Extractul hidro - alcoolic din semințe de struguri are rolul de a îmbunătăți starea sistemului cardiovascular, a pielii, precum și a sistemului ocular și posedă un efect antibacterian, antiviral și antiinflamator pronunțat. Este unul dintre puținii antioxidanți ce pot penetra bariera hemato - encefalică pentru a ajuta la protejarea creierului și a țesutului nervos. Previne formarea plăcilor aterosclerotice în artere. Un studiu finanțat de centrul Național de Cancer (NCI – USA) a arătat că extractul din semințe de struguri îmbunătățește starea țesutului mamar după radioterapia cancerului de sân. Studiile efectuate de diferite grupuri de cercetători concluzionează că strugurii și produsele pe bază de struguri sunt surse excelente ale diferitor agenți anticancer și consumul lor regulat are un efect benefic asupra sănătății umane. Alte cercetări au arătat reducerea intensității proceselor oxidative la pacienții cu risc crescut cardiovascular, reducerea agregării plachetare, inducerea eliberării de NO crescut și ameliorarea funcției endoteliale.



Spirulina este o sursă recunoscută în toată lumea de proteine, conținând până la 70 % de proteine la biomasa uscată. În același timp alți peste 50 compuși cu activitatea biologică înaltă au fost descriși, ca fiind caracteristici spirulinei. Se cunosc efectele imunomodulatoare, antioxidante, antimicrobiene, antivirale, antiinflamatoare ale biomasei și a extractelor din spirulină.

Astfel, componentele menționate, care sunt elementele inovative în balsamul caracterizat, fac ca noul produs curativo-sanitar să se caracterizeze printr-un conținut de substanțe biologice active majorat și proprietăți organoleptice. Rezultatul obținut se datorează selectării raportului cantitativ și calitativ al componentelor balsamului, proprietăților lor, precum și efectului sinergic ce se manifestă la amestecarea lor.

Astfel, analiza componenței balsamurilor autohtone, cât și a celor produse peste hotarele țării a permis evidențierea câtorva materii prime vegetale de bază și anume: rădăcina de lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra L*), rizomii de obligeană (*Acorus calamus L*), partea aeriană de sunătoare (*Hypericum perforatum L*), partea aeriană de sovârv (*Origanum vulgare L*), frunze de izmă bună (*Mentha piperita L*), partea aeriană de coada-șoricelului (*Achillea millefolium L*), muguri de pin (*Pinus sylvestris L*) care sunt parte componentă a majorității balsamurilor autohtone. În același timp, în dependență de scopul urmărit, balsamurile mai pot include și alte macerate ori extracte naturale cu proprietăți specifice, care au destinația de a atribui produsului curativo-profilactic final anumite proprietăți unice. Pentru îmbunătățirea proprietăților organoleptice, dar și a performanțelor curativo-profilactice, multe dintre balsamuri includ diferite sucuri din fructe, vin roșu, coloranți și zahăr. Ultimele două dintre componente, în opinia noastră, aduc cu sine și unele efecte negative, cum ar fi reacțiile alergice sau imposibilitatea administrării în caz de diabet zaharat.

Pornind de la diversitatea inepuizabilă a substanțelor bioactive din plante, este evident, că gama produselor curativo-profilactice poate fi mărită semnificativ, astfel ca să fie elaborate produse unice, cu proprietăți specifice, adresate anumitor grupuri țintă de persoane, inclusiv cu nevoi speciale. Cercetările în acest domeniu au o importanță nu doar aplicativă, ci și fundamentală, contribuind la acumularea de noi cunoștințe, care permit înțelegerea mai profundă a fenomenului de sinergism între componentele produselor poliherbale.

## 1.5. Concluzii la capitolul 1

1. Dezvoltarea științei și tehnologiei a făcut posibilă elaborarea preparatelor curativo-profilactice de înaltă calitate pe bază de plante, iar acceptarea lor ca o alternativă naturală medicamentelor sintetice este foarte mare
2. Preparatele poliherbale multicomponente se caracterizează prin superioritate farmacologică față de preparatele monocomponente în special datorită sinergismului dintre substanțele active ale produselor complexe.
3. Deoarece peste 90% din diversitatea floristică a planetei încă nu este studiată și valorificată, fitoterapia este un domeniu, care va cunoaște o dezvoltare ascendentă o perioadă lungă de timp.
4. Elaborarea unui nou produs curativo-profilactic natural este un proces care are etape strict definite, principalele dintre care sunt elaborarea rețetei produsului, elaborarea elementelor tehnologiei de producere și transferul tehnologic al noii tehnologii în producere, elaborarea sistemului de control al calității produsului nou, perfectarea documentației tehnice, asigurarea protecției proprietății intelectuale, înregistrarea produsului.
5. Balsamurile curativo-profilactice sunt formulele clasice și cu cea mai lungă istorie ale produselor curativo-profilactice policomponente pe bază de materiale vegetale, caracterizate prin proprietăți inedite ale componentelor vegetale incluse.
6. Elaborarea de produse curativo-profilactice unice, cu proprietăți specifice, adresate anumitor grupuri țintă de persoane, inclusiv cu nevoi speciale este un domeniu de cercetare actual și cu perspective aplicative mari.

## 2. OBIECTELE DE STUDIU ȘI METODELE APLICATE ÎN CERCETARE

În calitate de obiecte de studiu în această lucrare au servit materiile prime utilizate pentru obținerea balsamurilor curativo-profilactice noi – diferite părți ale plantelor de diferite specii produse de Asociația de culturi eterooleaginoase și plante medicinale AROMED SA, Republica Moldova, biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* s-a obținut în laboratorul Ficobiotehnologie al Institutului de Microbiologie și Biotehnologie și la întreprinderea FICOTEHFARM SRL, Republica Moldova.

Metodele aplicate în cercetare se referă la obținerea extractelor și maceratelor din biomasa vegetală, la determinarea activității antioxidante a extractelor individuale și amestecurilor și la aprecierea efectelor biologice exercitate de balsamurile curativo-profilactice noi.

### 2.1. Obiectele de studiu

În calitate de materie primă vegetală au fost utilizate rădăcina de lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra* L.), rizomii de obligeană (*Acorus calamus* L.), partea aeriană de sunătoare (*Hypericum perforatum* L.), partea aeriană de sovârv (*Origanum vulgare* L.), frunze de izmă bună (*Mentha piperita* L.), partea aeriană de coada-șoricelului (*Achillea millefolium* L.), muguri de pin (*Pinus sylvestris* L.), partea aeriană de imortele (*Helichrysum italicum* Roth), partea aeriană de mentă decorativă (*Monarda citriodora* Cerv.ex Lag), partea aeriană de salvie (*Salvia officinalis* Sage), semințe de amarant (*Amaranthus caudatus* L.), partea aeriană de cânepă (*Cannabis sativa* L.), partea aeriană și rizom de țelină (*Apium graveolens* L.), rădăcină și partea aeriană de pătrunjel (*Petroselinum crispum* Mill), semințe de struguri (*Vitis vinifera* L.), coji și septuri de nucă (*Juglans regia* L.), flori de salcâm (*Robinia pseudoacacia* L.). Materialul vegetal a fost produs de Asociația de culturi eterooleaginoase și plante medicinale AROMED, Republica Moldova.

De asemenea, a fost utilizată biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* CNMN-CB-11, obținută în laboratorul Ficobiotehnologie al Institutului de Microbiologie și Biotehnologie și la Ficotehfarm SRL.

#### **Rădăcina de *Glycyrrhiza glabra* – Lemn-dulce.**

Încă din cele mai vechi timpuri, rădăcina de *Glycyrrhiza glabra*, este cunoscută pentru un spectru larg de efecte terapeutice. Componenta bioactivă de bază a acestei plante este glicirizina. Aceasta este clivată în acid glicirizic, care este transformat ulterior în acid gliciretic de către microflora intestinală umană. Acidul gliciretic este un puternic inhibitor al 11 $\beta$ -hidroxisteroid dehidrogenazei (11 $\beta$ -HSD) și manifestă o serie de activități asemănătoare cu cele ale

corticosteroidilor. Rădăcinile de lemn dulce conțin de asemenea diverși flavonoizi, cum sunt licviritina, cvercetină, kempferolul etc., manifestând activitate specifică vitaminei P și care determină caracteristicile antioxidante ale diferite tipuri de extracte din plantă și a produselor finale obținute. Suplimentar, rădăcina de lemn dulce conține acid ascorbic, sterine, pectine, ulei eteric etc. Rădăcina de *Lemn-dulce* conține și substanțe cu efect de gelificare [62].

S-a demonstrat că extractul bogat în flavonoide preparat din *Glycyrrhiza glabra* este benefic în cazul pacienților cu dispepsie funcțională, posedând proprietăți de promovare a sănătății intestinale, cum ar fi activitatea anti-inflamatoare și anti-*Helicobacter pylori*. Acest extract este compatibil cu tulpinile probiotice (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* și *Streptococcus thermophilus*) și enzime digestive ( $\alpha$ -amilază pancreatică - glucozidază, fitază, xilanază și lipaza pancreatică) [11].

Efectele farmacologice ale lemnului-dulce sunt determinate de proprietățile sale antiinflamatoare, antioxidante, anti-alergenice și antimicrobiene. *Glycyrrhiza glabra* este folosită pentru a trata maladiile hepatice, afecțiunile gastro-intestinale, afecțiunile cavității bucale și ale pielii. Preparatele din lemn-dulce se includ în componența gumei de mestecat, bomboanelor, preparatelor fitoterapeutice, băuturilor alcoolice și suplimentelor alimentare. Rădăcina de lemn-dulce și extractele sale, în special glicirizina, pot fi administrate pe cale orală, transcutanar (sub formă de geluri și uleiuri) și intravenos [82].

Extractele din lemn-dulce manifestă o capacitate excelentă de anihilare a radicalilor liberi, de chelare a ionilor  $Fe^{2+}$ , precum și o activitate antioxidantă performantă. De asemenea, extractul posedă activitate de inhibare a tirozinazei și elastazei. În asociere cu activitatea lui antiinflamatoare, aceste proprietăți ale extractelor din rădăcină de lemn dulce le clasifică ca preparate cu efect anti - age [32].

#### **Rizomi de *Acorus calamus* – obligeană.**

Diferitele părți ale acestei plante, cum ar fi frunzele și rizomii, sunt utilizate în mod tradițional în componența diferitor preparate medicinale pentru tratamentul mai multor afecțiuni, inclusiv artritei, nevralgiei, diareei, dispepsiilor, afecțiunilor renale și hepatice, eczemei, sinuzitei, astmului, febrei, bronșitei, alopeciei ș.a. Analiza biochimică a plantei a relevat un număr mare de metaboliți secundari: glicozide, uleiuri volatile, sesquiterpene, monoterpene, flavonoide, steroizi, saponine, lignină, taninuri, mucilagii, alcaloizi și compuși polifenolici care pot fi responsabili pentru proprietățile terapeutice performante [103, 136]. Printre substanțele bioactive ale obligeinei se remarcă alfa ( $\alpha$ ) - și beta ( $\beta$ ) –asarona, o substanță binecunoscută în sistemul tradițional medicinal care posedă activități anti-tumorale și chimio-preventive, demonstrate prin numeroase studii atât *in vitro* și *in vivo*. Cercetările științifice și studiile

preclinice, clinice și farmacologice au stabilit numeroase proprietăți benefice ale diferitor extracte din obligeană, inclusiv antioxidante, antiinflamatoare, anticancer, antiulcer, antialergice, antidiabetice, antibacteriene, antifungice, de cicatrizare a rănilor, neuroprotectoare, radioprotectoare, cardioprotectoare și altele [63, 76, 131].

#### **Partea aeriană de *Hypericum perforatum* - sunătoare.**

*Hypericum perforatum*, cunoscută și sub denumirea de sunătoare, are o istorie lungă de utilizare în medicina tradițională. Este o plantă cu flori galbene, perenă, ce se întâlnește des în America de Nord și de Sud, Europa și Asia. Planta se utilizează ca diuretic, antihelmintic, în cicatrizarea rănilor, în tratamentul dereglărilor menstruale, inflamațiilor urogenitale, diabetului, nevralgiilor, maladiilor cardio - vasculare și gastro - intestinale, hemoroizilor, ulcerelor peptice, afecțiunilor pulmonare, psihozelor. Maceratul de sunătoare în ulei de măsline este un remediu popular utilizat pentru a accelera procesul de vindecare a rănilor și arsurilor [34, 45, 141]. Diferite studii clinice au arătat că extractele din sunătoare au o eficacitate antidepresivă comparabilă cu unele medicamente antidepresive utilizate în prezent în tratamentul depresiei ușoare / moderate [126, 127].

Componentele active ale sunătorii sunt derivații fluoroglucinolului, naftodiantronele, flavonoidele, procianidinele, xantonele, uleiurile esențiale, hipericina și altele [45, 126].

#### **Partea aeriană de *Origanum vulgare* – sovârv sau oregano.**

Planta *Origanum vulgare* este utilizată pe scară largă de mii de ani ca condiment și ca remediu fitoterapeutic. Sovârvul este o plantă perenă folosită în principal în remediile casnice, în medicamentele complementare și alternative, precum și în medicina alopatică, datorită bogatelor proprietăți farmacologice, așa ca proprietățile antioxidante, antitumorale, antimicrobiene [57]. Printre componentele bioactive de bază ale sovârvului sunt uleiurile esențiale, care după cum au arătat rezultatele investigațiilor, au efecte anticancer pronunțate, provocând apoptoza mitocondrial indusă în celulele maligne, în special în cazul cancerului de stomac la om [14].

Printre cele mai studiate substanțe bioactive ale sovârvului se numără carvacrolul, timolul, precum și acizii rosmarinic, oleanolic și ursolic [15]. Extractul de oregano are activități citotoxice și antioxidante atribuite, de asemenea, în mare parte carvacrolului și timolului [33, 75]. Timolul, urmat de corvacrol se caracterizează prin activitatea antimicrobiană înaltă față de diferite bacterii Gram-pozitive și Gram-negative. Activitatea antimicrobiană a Carvacrolului este mai mare decât cea a altor compuși volatili prezenți în uleiurile esențiale datorită prezenței grupului hidroxil liber, restului de fenol, precum și a hidrofobicității. Este deosebit de eficient împotriva agenților patogeni alimentari, inclusiv *Escherichia coli*, *Salmonella* și *Bacillus cereus*.

Carvacrolul are o activitate antioxidantă sporită și se utilizează cu succes, în asociere cu timolul, ca fitoaditiv dietetic pentru a îmbunătăți statutul antioxidant la om și animale. Proprietățile anticancerigene ale carvacrolului au fost raportate pe modele preclinice de carcinoame de sân, ficat și plămâni, și au la bază acțiunea asupra proceselor proapoptotice [41, 134].

#### **Frunze de *Mentha piperita* – izmă-bună**

Planta este utilizată din cele mai vechi timpuri în medicină pentru tratarea diferitor afecțiuni. Ceaiul de mentă, preparat din frunzele plantei și uleiul esențial de mentă sunt cele mai cunoscute remedii din izmă. Elementele bioactive de bază a părților aeriene de izmă sunt compușii fenolici, printre care acidul rosmarinic și mai multe flavonoide, în principal eriocitrina, luteolina și hesperidina. Principalele componente volatile ale uleiului esențial sunt mentolul și mentonul. În cadrul testelor *in vitro*, a fost demonstrat, că extractele din *M.piperita* au activitate antimicrobiană și antivirală semnificativă, acțiune antioxidantă și antitumorală puternică și un potențial antialergic sporit. Studiile realizate pe modele animale demonstrează un efect de relaxare asupra țesuturilor gastrointestinale (GI), efecte analgezice și anestezice asupra sistemului nervos central și periferic, activitate de imunomodulare și un potențial chimiopreventiv semnificativ. În cadrul studiilor clinice efectuate a fost demonstrat efectul analgezic pozitiv al extractelor și uleiurilor esențiale din izmă asupra tractului gastro-intestinal și sistemului respirator [98]. Mai multe studii au arătat că uleiurile esențiale extrase din *Mentha piperita* au o activitate inhibitoare puternică împotriva mai multor specii de microorganisme, inclusiv *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* și *Candida albicans* [37, 144].

#### **Partea aeriană de *Achillea millefolium* – coada-șoricelului.**

*Achillea millefolium* este un membru al familiei Asteraceae, care se utilizează în medicina populară împotriva mai multor tulburări, inclusiv inflamații ale pielii, afecțiuni spasmodice și gastro-intestinale, precum și afecțiuni hepato-biliare. Planta sintetizează diferiți metaboliți secundari, în special terpenoizi și fenilpropanoizi [47]. Extractul hidro - etanolic din părțile aeriene ale plantei are efect gastroprotectiv pronunțat, reducând leziunile gastrice provocate de etanol cu până la 81% și reduce dimensiunile ulcerățiilor stomacale induse cu până la 65% [115].

Diferite experimente farmacologice efectuate pe modele *in vitro* și *in vivo* au demonstrat potențialul extractelor din coada șoricelului în calitate de preparate cu activitate antiinflamatoare, antiulceroasă, anticancer, etc. [6]. Ingredientele cosmetice derivate din *Achillea millefolium* funcționează în produsele cosmetice ca agenți de condiționare a pielii, agenți umectanți și ingrediente arome [16].

### **Partea aeriană de *Helichrysum italicum* Roth –imortele.**

*Helichrysum italicum* (Roth) se utilizează pentru proprietățile sale medicinale de mult timp și, chiar și în zilele noastre, continuă să joace un rol important în medicina tradițională a țărilor mediteraneene. Studiile *in vitro* au demonstrat că *Helichrysum italicum* este un agent antimicrobian și antiinflamator. Flavonoidele și terpenele din componența părților aeriene ale plantei sunt eficiente împotriva bacteriilor (de exemplu, împotriva *Staphylococcus aureus*), acetofenonele, cloroglucinozele și terpenoidele posedă acțiuni antifungice împotriva *Candida albicans*; flavonoidele și cloroglucinozele inhibă virusul HIV. Acetofenonele, flavonoidele și cloroglucinozele din *Helichrysum italicum* acționează pe diferite căi asupra metabolismului acidului arahidonic și a altor mediatori pro-inflamatori. În cadrul cercetărilor efectuate *in vivo*, extractele din *Helichrysum italicum* au manifestat activitate anti-eritematoasă și fotoprotectoare, datorită flavonoidelor sale, atât la animale, cât și la oameni. De asemenea au fost demonstrate proprietățile antiinflamatoare ale flavonoidelor, acetofenonelor și cloroglucinozelor [9]. Doi dintre compușii extractelor de imortele, și anume 12-acetoxiremetonă (1) și 2,3-dihidro-2- [1-(hidroximetil) etenil] -5-benzofuranil] -etanonă (2) ) acționează într-un mod sinergic și produc un efect antispasmodic intestinal [121].

### **Partea aeriană de *Monarda citriodora* Cerv.ex Lag - imortele**

Este o plantă medicinală, aromatică și ornamentală anuală sau perenă. Este utilizată ca agent aromatizant în băuturi, produse de panificație și produse din carne. Decoctul din *Monarda citriodora* este folosită în terapia inflamațiilor catarale, răcelii, durerii de dinți, cefaleelor, tulburărilor gastrice, greții, durerilor menstruale, insomniei, ca antipiretic, pentru a calma durerea în gât și flatulența. Decoctul este folosit topic pentru vindecarea erupțiilor și infecțiilor pielii. De asemenea, au fost demonstrate efectele sale antipiretice, diaforetice, antireumatice, carminative, sedative, diuretice și stimulative. Planta are și proprietăți antiseptice, antioxidante și antifungice. Componenta majoră a uleiului său esențial, timolul, este folosit în zilele noastre în formulele comerciale moderne de apă de gură. Recent s-a dovedit că uleiul esențial din imortele are proprietăți anticanceroase [71, 110].

### **Muguri de *Pinus silvestris* – pin**

Mugurii de pin conțin polizaharide, care sunt utile organismului uman, rășină, ulei eteric, substanțe tanante, pinipicrină, caroten, acid ascorbic, vitamină B2, derivați metilici ai flavonoizilor, săruri minerale. În componența uleiului eteric au fost depistați carena, terpineolul, limonena și alte terpenoide. Conținutul sporit de rășină, ulei eteric, precum și de substanțe taninice în mugurii de pin determină proprietățile bactericide, antiseptice, biliare, antiscorbutice, antialergice ale extractelor din aceștia [8, 83, 101].

### **Partea aeriană de *Salvia officinalis* (Sage) - salvie**

*Salvia officinalis* (Sage) este o plantă din familia Labiatae / Lamiaceae. Este originară din zonele Orientului Mijlociu și zona Mediteraneană, dar astăzi a fost naturalizată în toată lumea. În medicina populară, *Salvia officinalis* se utilizează pentru tratamentul diferitelor tipuri de afecțiuni, inclusiv convulsii, ulcere, gută, reumatism, inflamație, amețeli, tremur, paralizie, diaree și hiperglicemie. Pe lângă acțiunea antiproliferativă, *S. officinalis* are efecte antimigratorii și antiangiogene [74]. În ultimii ani, această plantă a fost obiectul unor studii intense pentru a documenta utilizarea tradițională și pentru a găsi noi efecte biologice. Aceste studii au relevat o gamă largă de activități farmacologice ale diferitor extracte din salvie, cum sunt efectele anticanceroase, antiinflamatoare, antinociceptive, antioxidante, antimicrobiene, antimutagenice, antidementiale, hipoglicemice și hipolipidemice [55]. Cei mai eficienți componenți antioxidanți ai extractelor din salvie sunt carnosolul, acidul rosmarinic și acidul carnosic, urmate de acidul cafeic, rosmanol, rozmadial, genkwanină și cirsimaritină. Flavonoidele și terpenele sunt compuși care contribuie cel mai probabil la acțiunile antiinflamatoare și antinociceptive ale plantei [122]. De asemenea, extractele din salvie inhibă activitatea acetilcolinesterazei, iar în prezent, inhibitorii acetilcolinesterazei sunt principalii agenți terapeutici în maladia Alzheimer [127].

### **Semințe de *Amaranthus caudatus* L - amarant**

Este o pseudocereală fără gluten, care este cultivată în principal în Mexic și America de Sud, dar, de asemenea, a fost introdusă în toate zonele tropicale și temperate ale lumii. Mai mult, în anumite regiuni ale lumii, cum ar fi Africa de Est, frunzele de amarant sunt consumate în alimentare, deoarece este o plantă cu creștere rapidă disponibilă cea mai mare parte a anului. În prezent interesul pentru această cultură alimentară antică și foarte hrănitoare a crescut, datorită valorii nutriționale excelente a semințelor și frunzelor de amarant. Atât semințele cât și frunzele sunt surse bogate de proteine, care constituie până 43% din masa proaspătă. Proteinele amarantului au o compoziție de aminoacizi bine echilibrată, biodisponibilitate înaltă și proprietăți funcționale bune. Semințele de amarant mai conțin vitamine și precursori ai vitaminelor (acid ascorbic, riboflavină, tocoferoli, carotenoizi), precum și minerale (Ca, Fe, Mg, K, Cu, Zn și Mn). Conținutul componentelor valoroase în semințele de amarant este mult mai semnificativ în comparație cu unele cereale [69, 118, 150].

### **Partea aeriană de *Canabis sativa* – cânepă**

Cannabisul (*Cannabis sativa*, sau cânepa) este o plantă dioică anuală, care își are originile odată cu crearea primelor societăți umane agricole din Asia. Cânepa și componentele ei - în special canabinoizii - au fost în centrul cercetărilor chimice și biologice vaste timp de aproape



jumătate de secol de la descoperirea structurii chimice a principalului său component activ,  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinolului ( $\Delta^9$ -THC). Efectele comportamentale și psihotrope ale plantei sunt atribuite conținutului său de canabinoizi, în primul rând  $\Delta^9$ -THC, care este produs mai cu seamă în frunzele și mugurii floralii ai plantei. Pe lângă  $\Delta^9$ -THC, planta produce și canabinoizi non-psihoactivi cu mai multe funcții medicinale, precum canabidiolul (CBD), canabichromenul (CBC) și canabigerolul (CBG), alături de alți constituenți non-canabinoizi aparținând unor clase diverse de produse naturale. În prezent sunt identificați peste 500 de constituenți ai biomasei de cannabis. Proprietățile medicinale ale cannabisului și ale cannabinoidelor deschid perspective potențiale aplicații ale acestora în tratamentul mai multor boli grave, precum glaucomul, depresia, nevralgia, scleroza multiplă, maladia Alzheimer, precum și pentru ameliorarea simptomelor în HIV / SIDA și cancer [20, 42, 113].

#### **Partea aeriană și rizomul de *Apium graveolens* - țelină**

Țelina (*Apium graveolens* L) este o plantă din familia Apiaceae. Componenta biochimică a acestei plante a fost studiată de multe grupuri de cercetători. Astfel, principalii compuși cu activitate antioxidantă și antiradicalică în țelină sunt acidul cafeic, acidul p-cumaric, acidul ferulic, apigenina, luteolina, tanina, saponina și kaempferolul [81].

Țelina are un pronunțat efect antiinflamator. Mecanismul implicat în activitatea antiinflamatoare a extractelor din țelină se poate datora activității inhibitoare a constituenților săi activi împotriva producției sintezei de oxidului nitric (iNOS) și oxidului nitric (NO) [99]. Extractele din țelină au efecte de protecție împotriva substanțelor precum valproatul de sodiu, propilenglicolul și ftalatul de dietil care provoacă daune structurii testiculare și spermatogenezei. În acest sens produsele din țelină au o importanță semnificativă în tratarea infertilității masculine [80]. Se consideră, că efectul în cazul infertilității este asigurat de Apigenina găsită ca un element constitutiv major în extract [58]. Studiile *in vivo* au demonstrat că extractul din țelină este capabil să amelioreze deficiențele de comportament, să îmbunătățească parametrii de stres oxidativ, să scadă activitatea monoaminooxidazei A și B și să protejeze neuronii dopaminergici în maladia Parkinson [31].

#### **Partea aeriană și rădăcina de *Petroselinum crispum* (Mill) Nyman ex AW Hill – pătrunjel.**

*Petroselinum crispum* (Mill) este o plantă culinară și medicinală din familia Apiaceae. Deși este originară din Europa și Asia de Vest, planta este acum cultivată și consumată în întreaga lume. Frunzele și tulpinile, fie proaspete sau uscate, cât și semințele și rădăcinile, sunt folosite în industria alimentară, farmaceutică și cosmetică. În medicina populară, partea aeriană a *P. crispum* este utilizată pentru tratamentul hemoroizilor, tulpina - în inflamația uretrală, iar

rădăcina – pentru eliminarea calculilor renali și pentru a îmbunătăți memoria și funcția creierului. Studiile au arătat că *P. crispum* posedă activitate hipoglicemică, diuretică, hipolipidemică, antimicrobiană, anticoagulantă și hepatoprotectoare [143].

Planta conține glicozide flavonolice - quercetină, apiol, miristicină și luteolină. Alte substanțe cu activitatea biologică înaltă, găsite în biomasa de pătrunjel sunt terpenele, ftalidele, furanocumarinele, apiina, carotenoidele, acidul ascorbic și tocoferolul [153].

Extractul din frunze și tulpini de pătrunjel posedă activitate antioxidantă, inhibă proliferarea și migrația celulelor cancerigene, protejează ADN-ul contra degradării oxidative. Adăugarea pătrunjelului în dieta zilnică sub formă de alimente sau suplimente poate ajuta la fortificarea sistemelor antioxidante ale organismului și la reducerea efectelor carcinogenezei induse de radicali liberi, cancerului și metastazelor ulterioare cauzate de stresul oxidativ de lungă durată [143].

#### **Semințe de *Vitis vinifera* – viță-de-vie**

Semințele de struguri sunt o sursă importantă de substanțe cu activitate biologică înaltă cum ar fi compuși fenolici (acidul galic, acidul hidroxibenzoic și derivați ai acidului cinamic, quercetina, kaempferolul, flavan-3-olii monomerici: catechina, epicatechina, galocatechina și epicatechina 3-O-galat, dimerii și trimerii procianidinici și procianidinele înalt polimerizate, acizii grași nesaturați, vitamina E, carotenoizii și fitosterolii [22, 26, 44, 52, 73].

În cadrul a mai multe studii clinice a fost demonstrat efectul antitumoral și chimiopreventiv al extractului din semințe de struguri în cazul diferitelor tipuri de cancer [3, 43]. Efectele benefice ale semințelor de struguri asupra sănătății umane se datorează acțiunii concentrate și combinate ale compușilor bioactivi și este clar că primul pas al bioactivității este legat de proprietățile antioxidante ale extractelor din semințe de viță-de vie.

#### **Endocarp (coajă) de *Juglans regia* – nuc**

Coaja de nucă conține câteva clase de substanțe – celuloză, lignină, compuși fenolici și flavonoizi [86]. Efectele benefice ale diferitor tipuri de extracte sunt demult cunoscute [65]. Dintre compușii fenolici ai cojii de nucă menționăm guaiacolul, alchil guaiacolii, seringa și seringi alchiul. Aceste substanțe posedă activitate antioxidantă și antimicrobiană înaltă [64, 156, 167].

#### **Floare de *Robinia pseudoacacia* – salcâm**

Floarea de *Robinia pseudoacacia*, un ingredient obișnuit în medicina tradițională chineză, este cunoscută de mult timp pentru valoarea sa farmaceutică ridicată. Florile de salcâm sunt utilizate pentru alcalinitatea lor, precum și pentru proprietățile antispasmodice, anti-tussive, și efectul lor sedativ, în timp ce alte părți ale plantei, în special scoarța și semințele sunt toxice

[25]. Unul dintre cele mai importante efecte ale extractelor polizaharidice din floarea de salcâm este cel imunomodulator. A fost demonstrat, că acestea îmbunătățesc funcția imună la administrarea vaccinurilor în comparație cu administrarea vaccinurilor fără extract polizaharidic, ceea ce duce la creșterea semnificativă a ratei de supraviețuire a indivizilor vaccinați [164].

### ***Arthrospira platensis - spirulina***

Spirulina (conform sistematicii contemporane – *Arthrospira platensis*) este o specie de cianobacterii filamentoase care se folosește de mult timp ca supliment alimentar. Datorită unui conținut ridicat de proteine și vitamine, Spirulina este folosită ca supliment alimentar nutraceutic, iar în ultimul timp – ca materie primă pentru obținerea medicamentelor cu multiple beneficii în sănătate [200, 201].

Spirulina conține compuși funcționali, cum ar fi fenolii, fitocianinele și polizaharidele, cu efecte antioxidante, antiinflamatoare și imunostimulatoare. Suplimentele de Spirulina au efecte mai pronunțate în eficientizarea imunității înnăscute, promovând activitatea kilerilor naturali. De asemenea, a fost demonstrată asocierea Spirulinei și probioticelor, ceea ce ar putea reprezenta o nouă strategie de îmbunătățire a creșterii microbiotei intestinale benefice [48].

Ca și în cazul celorlalte materiale prime vegetale despre care am discutat mai sus, unele dintre activitățile de bază, pe care le manifestă biomasa de spirulină și diferite produse din ea, este activitatea antioxidantă și imunomodulatoare. Stresul oxidativ și imunitatea disfuncțională provoacă numeroase maladii la om, inclusiv ateroscleroză, hipertrofie cardiacă, insuficiență cardiacă și hipertensiune. Astfel, activitatea antioxidantă, imunomodulatoare și antiinflamatoare a acestei cianobacterii poate juca un rol important în menținerea sănătății umane.

Spirulina activează enzimele antioxidante celulare, inhibă peroxidarea lipidelor și deteriorarea ADN-ului, elimină radicalii liberi și crește activitatea superoxid dismutazei și a catalazei. Rezultatele studiilor realizate indică asupra faptului, că extractul proteic din spirulină este un antioxidant puternic, și acționează printr-un mecanism asociat cu activitatea antioxidantă, capabil să interfereze cu moartea celulară mediată de radicali. Spirulina, astfel, poate fi benefică în maladiile, despre care se cunoaște, că sunt agravate de specii reactive de oxigenului și în dezvoltarea de noi tratamente pentru tulburări neurodegenerative, cum ar fi maladia Alzheimer sau Parkinson [17, 28, 30, 89].

Studiile clinice arată că Spirulina previne deteriorarea mușchilor scheletici în condițiile stresului oxidativ indus de exercițiu fizic, poate stimula producerea de anticorpi și poate regla sau modifica expresia genelor care codifică citokine pentru a induce răspunsuri imunomodulatoare și antiinflamatoare [1, 200]. Mecanismele moleculare prin care Spirulina induce aceste activități sunt numeroase, datorită diversității substanțelor cu activitate biologică

înaltă implicate în aceste procese. Pigmenții ficobilinici, în special pigmentul majoritar ficocianina, precum și  $\beta$ -carotenul au un rol deosebit de important în asigurarea efectelor pozitive ale spirulinei [160]. De rând cu stabilitatea, biodisponibilitatea și siguranța acestor componente ale biomasei de spirulină, ficobiliproteinele purificate posedă efecte anticancer, antiinflamatorii, imunomodulatoare, hepatoprotectoare, nefroprotectoare și neuroprotectoare, iar în ultimul timp se efectuează cercetări intense în vederea utilizării lor în terapia fotodinamică [102].

Pe lângă efectele menționate biomasa de spirulină este apreciată în calitate de radioprotector, fiind eficientă în depășirea stărilor patologice după iradiere, inclusiv după radioterapie. Această capacitate este atribuită în primul rând polizaharidelor, inclusiv celor sulfatate din componența biomasei de spirulină [169]. De asemenea, spirulina s-a dovedit a fi eficientă în înlăturarea efectelor genotoxice ale radiațiilor telefonice celulare GSM 900-MHz. Administrarea spirulinei reduce esențial nivelul de deteriorare a ADN-ului și stresul oxidativ rezultat din radiațiile electromagnetice ale telefonului [100].

## **2.2. Metodele aplicate în cercetare**

### ***2.2.1. Prepararea extractelor hidro - etanolice din materialul vegetal***

*Obținerea extractelor.* Extractele hidro - etanolice au fost obținute prin extragere în soluție hidro - etanolică cu diferită concentrație a etanolului (40, 50, 60, 70 și 80%), reieșind din raportul biomasă (mg): extractant (ml) de 10:1. Durata extracției a variat de la 60 la 180 min cu pasul de 30 min. Extragerea a fost efectuată la temperatura camerei în *baloane de sticlă cu volum de 100 ml*, la agitare continuă pe un agitator orbital setat la 200 rotații/min. Extractele obținute au fost separate de biomasă prin centrifugare, standardizate după reziduul uscat și păstrate la frigider la +4°C.

### ***2.2.2. Prepararea maceratelor din materialul vegetal***

Produsul vegetal supus macerării s-a trecut în vasul de macerare, iar peste el s-a turnat soluția hidro - etanolică. Pentru umectare s-a aplicat raportul solvent (ml): masă vegetală (g) de 0,5:1. S-a lasat la umectat 2-4 ore în sistem închis pentru a evita evaporarea solventului. Amestecul umectat s-a trecut în percolator. Peste el s-a turnat soluția hidro - etanolică astfel, ca masa vegetală să fie sub nivelul solventului cu 30-40 mm. Percolatorul s-a închis și s-a lăsat la macerare pentru 5 zile. Peste 5 zile solventul s-a scurs din percolator. Peste masa vegetală s-a

turnat restul solventului (raport final solvent (ml): masă vegetală (g) de 100:1), s-a lasat 30 min si se scurge. Ambele fracții de solvent s-au unit, volumul s-ae ajustat cu solvent.

### ***2.2.3. Prepararea remaceratelor (macerare repetată) din materialul vegetal***

Produsul vegetal supus macerării s-a trecut în vasul de macerare, iar peste el s-a turnat soluția hidro - etanolică. Pentru umectare s-a aplicat raportul solvent (ml): masă vegetală (g) de 0,5:1. S-a lăsat la umectat 2-4 ore în sistem închis pentru a evita evaporarea solventului. Amestecul umectat s-a trecut în percolator. Peste el s-a turnat soluția hidro etanolică astfel, ca masa vegetală să fie sub nivelul solventului cu 30-40 mm. Percolatorul s-a închis și s-a lăsat la macerare pentru 5 zile. Peste 5 zile s-a scurs aproximativ o jumătate din conținutul percolatorului. Volumul extras s-a înlocuit cu soluție hidro - etanolică. Din nou s-a lăsat la macerare timp de 5 zile, apoi s-a scurs jumătate din volum. S-a adăugat soluție hidro - etanolică astfel, ca să completeze volumul amestecului la cel inițial și din nou s-a lăsat la macerat pentru 5 zile. În final s-a extras tot extractul din percolator, în total 3 fracții care s-au unit împreună. Volumul s-a ajustat cu solvent. Volumul final s-a calculat din raport final solvent (ml): masă vegetală (g) de 100:1.

### ***2.2.4. Determinarea activității antioxidante a extractelor și maceratelor***

***Determinarea capacității antiradicalice cu utilizarea radicalului DPPH<sup>·</sup>***. Pentru realizarea testului respectiv radicalul DPPH<sup>·</sup> (1,1 difenil-2-picril hidrazil), care are culoare violetă, este utilizat în calitate de substrat. Substratul este redus prin adăugare de protoni cu formarea compusului 1,1 difenil-2-picril hidrazină, care are culoarea galbenă [21, 27].

Concentrația radicalului DPPH în soluția de lucru, precum și durata reacției sunt stabilite în mod individual pentru orice tip de materie vegetală, pentru care se determină activitatea antioxidantă. Timpul de reacție este determinat de natura substanțelor cu acțiune antioxidantă prezente în materialul testat și a solventului utilizat pentru extragerea lor. Deoarece DPPH este solubil în soluții hidro-etanolice, metoda ne oferă posibilitatea obținerii rezultatelor exacte și veridice, prin excluderea influenței solventului utilizat la extragere.

Pentru determinarea activității antioxidante a soluțiilor hidro-etanolice obținute din biomasa plantelor, care au fost incluse în rețetele balsamurilor curativo-profilactice noi s-a preparat soluția etanolică de 0,06 mM de radical DPPH<sup>·</sup>. Amestecul de reacție a constat din 0,3 ml extract antioxidant și 2,7 ml soluție DPPH<sup>·</sup>. Probele s-au agitat, apoi s-au supus incubării la întuneric la temperatura camerei, timp de 60 minute. S-a măsurat absorbanta amestecului de reacție la lungimea de undă de 517 nm. În calitate de probă standard s-a utilizat etanolul în

concentrația corespunzătoare în care era solubilizat 0,3 ml extract antioxidant pentru a exclude componenta de culoare a probelor analizate.

Valoarea activității antioxidante a extractelor se exprimă în unități echivalente de TROLOX în baza unei curbe de calibrare.

$$\% \text{ Inhibiție} = (\text{Abs}_{t=0} - \text{Abs}_{t=60 \text{ min}}) / \text{Abs}_{t=0} * 100, \quad (1)$$

unde  $\text{Abs}_{t=0 \text{ min}}$  este valoarea absorbantei soluției 0,06 mM DPPH și  $\text{Abs}_{t=60 \text{ min}}$  este valoarea absorbantei soluției DPPH' după 60 min incubare cu extractele antioxidante.

#### ***Determinarea capacității antioxidante totale cu utilizarea radicalului cation ABTS<sup>+</sup>.***

Determinarea activității antioxidante totale a extractelor și maceratelor obținute, precum și a produselor curativo-profilactice elaborate a fost efectuată cu utilizarea *radicalului cation ABTS<sup>+</sup>* [119]. Metoda ce implică utilizarea ABTS (2,2 azinobis 3-etilbenzotiazolină-6- acidului sulfonic) este cunoscută și utilizată pentru aprecierea activității antioxidante a substanțelor, indiferent de natura lor. În baza metodei date se determină activitatea antioxidantă atât a substanțelor pure, cât și a complexelor antioxidante. Radicalul cation ABTS<sup>+</sup> este generat prin oxidarea ABTS (2,2 azinobis 3-etilbenzotiazolină-6- acidului sulfonic), iar reducerea lui are loc prin mecanismul de adiționare de electroni.

În calitate de echivalent pentru calculul cantitativ în această metodă s-a utilizat troloxul, compus cu activitatea antioxidantă similară tocoferolului, dar care, fiind lipsit de lanțul fitil, este hidrosolubil. Rezultatele testului pot fi exprimate în % Inhibiție (pentru compararea rezultatelor în interiorul testului) și TEAC (*trolox equivalent antioxidant activity*) pentru compararea cu antioxidanții de altă natură.

Oxidarea ABTS în scopul formării radicalului cation ABTS<sup>+</sup> s-a făcut cu persulfat de potasiu. Pentru aceasta s-a preparat soluția stoc a reactivului ABTS de 7 mM în apă deionizată, la care s-a adăugat persulfatul de potasiu în concentrația de 2,45 mM în raport de 1:1.

Reacția de formare a radicalului cation ABTS<sup>+</sup> a decurs la întuneric, la temperatura camerei timp de cel puțin 12 ore. Soluția de lucru s-a preparat din soluția stoc de ABTS<sup>+</sup>, care se dizolvă în etanol sau apă distilată până la stabilizarea valorii absorbantei la  $0,700 \pm 0,020$  unități la lungimea de undă de 734 nm.

Amestecul de reacție a constat din 0,3 ml extract antioxidant și 2,7 ml soluție ABTS<sup>+</sup>. Reacția de reducere decurge la temperatura camerei timp de 6 min, iar procentul de inhibiție s-a calculat conform ecuației:

$$\% \text{ Inhibiție} = (\text{Abs}_{t=0} - \text{Abs}_{t=6 \text{ min}}) / \text{Abs}_{t=0} * 100, \quad (2)$$

unde  $Abs_{t=0min}$  este valoarea absorbantei de  $0,700 \pm 0,020$  la 734 nm a soluției ABTS<sup>•+</sup>, iar  $Abs_{t=6 min}$  este valoarea absorbantei după incubare.

Valoarea indicelui TEAC a fost exprimată în mM (sau mg) Trolox la g (sau mg) biomasă sau la unitate de volum (de exemplu la ml de extract), utilizând curba de calibrare pentru Trolox. Intervalul de liniaritate pentru curba de calibrare este de 20 - 1000  $\mu$ M Trolox ( $r^2 = 0,9976$ ).

#### ***Evaluarea capacității de reducere a reagentului Folin-Ciocalteu***

Metoda are la bază transferul de electroni produs în mediul alcalin cu reducerea complexului acid fosfomolibdenic/fosfovolframic în rezultatul căruia are loc formarea culorii, intensitatea căreia se determină spectrofotometric [91, 137].

La extractele antioxidante (0,3 ml) s-a adăugat 1,5 ml reagent Folin-Ciocalteu (0,4N) și 1,2 ml carbonat de sodiu de 7,5%. Amestecurile s-au agitat și s-au supus incubării timp de 5 min la 50°C. În proba martor în loc de extract s-a adăugat solventul corespunzător (soluția hidroetanolică de concentrație respectivă). După răcirea probelor s-a măsurat absorbanta lor la 760 nm. Capacitatea de reducere a radicalului Folin - Ciocalteu s-a exprimat în echivalent acid galic la mg/g substanță activă sau biomasă. Curba de calibrare pentru acidul galic este lineară în intervalul 0,01-0,1 mg/ml ( $n=7$ ,  $r^2=0,9965$ ).

#### ***Evaluarea capacității antioxidante prin metoda reducerii reactivului fosfomolibdenic (CRFM).***

Evaluarea activității antioxidante a extractelor din spirulină a fost realizată cu aplicarea metodei reducerii reactivului fosfomolibdenic [116]. În baza testului CRFM activitatea antioxidantă a probei se determină indirect, în baza reacției de oxido-reducere, în timpul căreia are loc reducerea Mo(VI) în Mo(V) cu formarea complexului verde fosfat/Mo(V). Reacția are la bază transferul de electroni în mediul acid.

Reactivul fosfomolibdenic are următoarea compoziție: 0,6 M acid sulfuric, 28 mM sodiu fosfat și 4 mM amoniu molibdat. Pentru realizarea testului la 0,3 ml s-a adăugat 2,7 ml soluție reactiv fosfomolibdenic. Amestecurile s-au incubat la 95°C timp de 90 min. Probele s-au răcit până la temperatura camerei, s-a măsurat absorbanta lor la 695 nm. În calitate de control standard s-a utilizat solventul. Capacitatea antioxidantă s-a exprimat în mg trolox la g substanță activă sau biomasă. Calculul s-a efectuat în baza curbei de calibrare pentru trolox, cu liniaritate în domeniul 0,1 -100 mg acid ascorbic ( $r^2=0,9968$ ).

#### ***Determinarea capacității de reducere a radicalului oxidului nitric NO•***

Principiul metodei constă în determinarea de producere a radicalului oxidului nitric generat de nitroprusid de sodiu. Oxidul nitric interacționează cu oxigenul și formează nitriți care sunt

determinați spectrofotometric cu utilizarea reagentul Greiss. Formarea cromoforului are loc în rezultatul diazotizării nitritului cu sulfanilamidă și cuplarea lui cu naftiletilediamină.

Soluția de nitroprusid de sodiu s-a preparat imediat înaintea efectuării testului, prin dizolvarea a 10 mM nitroprusid de sodiu în 20 mM soluție tampon fosfat, pH 7,4.

Pentru aceasta s-a preparat  $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  10 mM în 100 ml sol tampon fosfat:

Amestecul reagent, care conține 0,5 ml probă și 0,5 ml soluție nitroprusid de sodiu, a fost supus incubării la 25°C timp de 150 min. După perioada de incubare, la amestec s-a adăugat 2 ml reagentul Greiss (1% sulfanilamidă, 2% acid fosforic și 0,1% naftiletilediamină dihidroclorid) și s-a măsurat extincția la 542 nm.

Valoarea rezultatelor a fost exprimată în % inhibiție a producerii oxidului nitric. În calitate de control pozitiv s-a utilizat acidul ascorbic soluție 0,01 mg/ml [93].

### **2.2.5. Metode de evaluare a efectelor balsamurilor curative-profilactice**

#### ***Studiul de toxicitate***

Studiul toxicității componentelor preparatelor curative-profilactice și variantelor de balsamuri s-a realizat conform recomandărilor internaționale ICH M3(R2), și a inclus analiza parametrilor fiziologici, hematologici, biochimici și morfologici.

*Toxicitatea acută* a balsamurilor a fost estimată în baza  $DL_{50}$  [198, 199].  $DL_{50}$  a fost determinată în experiențe cu șobolani și șoareci maturi prin administrare de doze crescânde de balsam de la 30 ml/kg la 60 ml/kg, intervalul între ele fiind de 10 ml/kg. În funcție de volumul gastric al animalelor, care pentru șobolani constituia 3 ml, iar pentru șoareci – până la 1 ml, dozele menționate se administrau fracționat – câte 1 ml pentru 100 g de masă corporală a animalului. Lotul de studiu pentru estimarea fiecărei doze de balsam includea 10 animale. Balsamul se administra animalelor printr-o sondă gastrică. Toxicitatea s-a estimat în baza mortalității animalelor. Pentru comparare s-a realizat o estimare similară folosind 42% de soluție hidro - alcoolică. Instantaneu vizual s-a estimat comportamentul animalelor.

$DL_{50}$  s-a calculat conform metodei Kerber:

$$DL_{50} = DL_{100} - \frac{\sum (zd)}{m}, \text{ unde:}$$

$DL_{100}$  – doza letală de substanță studiată pentru toate animalele din lot;

$d$  – intervalul între fiecare din două doze adiacente;

$z$  – media aritmetică din numărul de animale, pentru care fiecare din două doze adiacente s-au dovedit a fi letale;

$m$  – numărul de animale în fiecare lot.



Eroarea standard s-a calculat conform formulei Gaddam:

$$S_{DL_{50}} = \sqrt{\frac{k * S * d}{n}}, \text{ unde:}$$

*d* – intervalul între dozele studiate;

*n* – numărul de animale în fiecare lot;

*k* – coeficient constant, egal cu 0,564.

*Toxicitatea cronică* a fost studiată pe loturi a câte 60 animale, pe șoareci și șobolani, la administrarea balsamului în doze de 1%, 2% și 5% din DL<sub>50</sub>. Indicatorii monitorizați au fost următorii: supraviețuirea, dinamica modificărilor masei corporale și temperaturii corpului, starea generală a animalelor. Durata studiului de toxicitate cronică la șoareci a constituit 4 luni, la șobolani – 6 luni [198, 199].

*Studiul efectului toxic al balsamurilor asupra funcției renale.* Efectul toxic al balsamurilor elaborate asupra funcției renale la șobolani a fost testat doar la masculi. Loturile experimentale au constat din câte 8 animale, care pe durata a 12 ore au fost private de hrană și apă, după care li s-a administrat o cantitate de 10 ml balsam la kg de masă corporală. Parametrii monitorizați au fost: diureza, conținutul de proteine în urină și conținutul de glucoză în urină.

*Studiul influenței balsamurilor asupra declanșării reacțiilor de stres în hipoxie.* Acest test ca și precedentul a fost efectuat doar pe șobolani masculi. Animalele din două loturi a câte 8 animale: lotul experimental, și lotul martor au fost plasate într-o barocameră specială, în care s-au modelat condiții specifice pentru nivelul de 10000 de m deasupra nivelului mării. Viteza de mărire și scădere a ”altitudinii” a fost de 100 m/sec. Doza de balsamuri și soluție hidro-etanolică administrată a fost de 1/10 din DL<sub>50</sub>. Parametrul monitorizat – timpul din momentul inducerii hipoxiei și apariția apneei și/sau convulsiilor.

### ***Stabilirea efectelor biologice***

*Testul de stabilire a influenței balsamurilor asupra duratei somnului survenit în urma administrării barbituricelor* a fost realizat pe un lot 20 șobolani masculi (câte 10 animale în lotul experimental și în lotul martor). Somnul a fost indus prin administrare intraperitoneală a etaminalului de sodiu. Balsamurile au fost administrate prin sondă în doză de 1/10 din DL<sub>50</sub> cu

40 de minute înaintea administrării etaminalului de sodiu. În calitate de indice s-a înregistrat durata somnului cauzat de administrarea etaminalului de sodiu.

*Testul de stabilire a efectului balsamurilor asupra funcției sistemului cardio-vascular s-a realizat pe un lot de 20 șobolani albi maturi (10 animale în lotul experimental și 10 – în lotul martor) sub narcoză cu nembotal. Tensiunea arterială generală a fost înregistrată pe artera caudală. Electrocardiografic se urmărea frecvența contracțiilor cardiace. Balsamurile au fost administrate în aceleași doze ca și în testele descrise anterior*

*Influența balsamurilor asupra probelor citologice ale sângelui.* Testările fiecărui balsam s-au realizat pe un lot de 22 de șobolani masculi maturi. Balsamurile au fost administrate zilnic timp de 10 zile în doză de 1/10 balsam din DL<sub>50</sub>, Parametrii sangvini monitorizați au fost următorii: numărul de eritrocite și leucocite, cantitatea de hemoglobină și VSH.

*Studiul proprietăților biologice ale balsamurilor curativo-profilactice noi la acțiunea radiației ionizante*

Testele au fost efectuate pe șobolani albi masculi cu masa corporală de 200-250 g. Animalele au fost repartizate în 6 loturi a câte 10 animale:

1. Lotul martor - constituit din animale intacte;
2. Lotul în care hrana animalelor a fost suplimentă cu soluție hidro-etanolică de 42%;
3. Lotul în care hrana animalelor a fost suplimentă cu balsamul Spirupotent
4. Lotul în care animalele au fost tratate cu <sup>137</sup>Cs;
5. Lotul în care animalele au fost tratate cu <sup>137</sup>Cs, iar hrana lor a fost suplimentă cu soluție hidro-etanolică de 42%;
6. Lotul în care animalele au fost tratate cu <sup>137</sup>Cs, iar hrana a fost suplimentă cu balsam Spirupotent

Animalele au fost întreținute în condiții identice de vivariu la o temperatură a mediului ambiant de 18-20°C, umiditatea relativă fiind de 55-60%. Animalele din loturile experimentale și martor au primit hrană identică.

*Tratarea animalelor cu <sup>137</sup>Cs.* În cadrul acestor teste s-a aplicat iradierea internă. Pentru iradierea internă s-a utilizat radionuclidul de cesiu - <sup>137</sup>Cs. Hrana animalelor zilnic se suplimenta cu acest izotop, prin umețarea pâinii fărâmițate cu soluție de clorură de cesiu. Fiecare animal a primit zilnic 600 Bq/kg. Tratarea animalelor s-a realizat o dată pe zi, zilnic timp de trei săptămâni.

În seria de investigații, în care animalele au fost tratate cu <sup>137</sup>Cs în scopul estimării dinamicii eliminării radionuclidului, măsurările activității radiației gama a acestor animale s-a efectuat prin dozimetrie cu gama-spectrometrul de tip LPC 4950 cu BOEG-10, sistemul NOKIA (Finlanda).

În cadrul măsurărilor s-a ținut cont de geometria corpului șobolanului modelat pe un fantom. Pentru confecționarea fantomului s-a utilizat un praf special cu conținut de radionuclid  $^{137}\text{Cs}$  având activitatea cunoscută de 8345,5 Bq/kg. Măsurările activității radiației gama s-au efectuat la fiecare 3 sau 4 zile - în total de patru ori pe perioada experimentului cu o durată de 3 săptămâni.

*Frecvența respirației și indicatorii sistemului sanguin la animalele iradiate.* Frecvența respirației la animalele luate în studiu s-a determinat vizual. Proprietățile morfologice ale sângelui au fost estimate prin calcularea numărului de eritrocite și leucocite. În unele dintre cazuri a fost determinată formula leucocitară. Indicatorii sistemului de coagulare au fost determinați în baza duratei de formare a filamentelor de fibrină. În sânge a mai fost determinat nivelul glicemiei, având astfel posibilitatea de a evidenția alterările posibile ale funcției hormonale pancreatice.

În vederea depistării deteriorării integrității membranelor celulelor hepatice, precum și a deteriorărilor distrofice în aceste organe, s-a studiat și activitatea alaninaminotransferazei.

*Investigațiile morfologice* s-au realizat în trei loturi experimentale de animale. Primul lot a constat din șobolani tratați zilnic cu cesiu radioactiv în doză de 600 Bq; al doilea lot a inclus șobolani, care adițional la cesiu radioactiv au primit balsam în calitate de supliment alimentar zilnic; al treilea lot a fost constituit din animale intacte – lotul martor.

Peste 2 săptămâni de la inițierea testărilor, animalele au fost sacrificate prin decapitare. Imediat după decapitare timp de 5 minute au fost prelevate organele și țesuturile pentru examenele histologice și microscopice.

Pentru examenul histologic fragmentele de organe au fost fixate în 12% de formalină neutră, s-au supus deshidratării în soluții hidro-etanolice cu concentrații în creștere și s-au incorporat în parafină. Secțiunile deparafinate au fost colorate cu hematoxilină-eozină. Pentru examenul microscopic biopsiile de organe au fost preparate prin metode clasice. Prin metode de microscopie optică a fost studiată starea țesuturilor hepatice, intestinale și cerebrale.

### ***Studiul clinic***

În susținerea efectelor imunostimulare, de detoxifiere, citolitice și colestatice, a fost efectuat un studiu pe un lot de 80 paciente: dintre care 40 cu diagnosticul *cancer al glandei mamare* (CGM) după polichimioterapie neoadjuvantă și 40 paciente oncologice cu diagnosticul *cancer al organelor reproductive la femei* (CORF) (colul uterin, uterul, anexele) supuse tratamentului chimioterapic.

Repartizarea participantelor în studiu:

I grup - 20 femei cu diagnosticul CGM după polichimioterapie neoadjuvantă care au primit terapia de bază + balsamul revendicat;

II grup - 20 femei cu diagnosticul CGM după polichimioterapie neoadjuvantă care au primit doar terapia de bază;

III grup - 20 femei cu diagnosticul CORF (colul uterin, uterul, anexele) supuse tratamentului chimioterapic, care au primit terapia de bază + balsamul revendicat;

IV grup - 20 femei cu diagnosticul CORF (colul uterin, uterul, anexele) supuse tratamentului chimioterapic, care au primit doar terapia de bază.

Analiza rezultatelor studiului clinic a avut loc în comparație cu datele obținute până la începutul tratamentului. Datele examinărilor clinice și de laborator au fost prelucrate statistic și prezentate în formă de tabel. Pentru prelucrarea datelor s-a utilizat metoda de statistică variațională cu criteriul t-Student. Drept veridice au fost considerate deosebirile între loturile pentru care  $p < 0,05$ .

Criteriile de includere a pacienților în studiu – Paciente cu vârsta de 27-66 ani, diagnosticate cu CGM și CORF, confirmat histopatologic, T1-3N0-2M0-2 cu stadiile II-IV, care au fost supuse tratamentului complex și combinat – intervenții chirurgicale, polichimioterapie neoadjuvantă și adjuvantă, radioterapie pre- și postoperatorie. În grupul experimental au fost incluse 20 paciente cu CGM și 20 paciente cu CORF. Grupurile martor au fost constituite respectiv din 20 bolnave cu CGM și 20 paciente cu CORF, omogenizate, tratate tradițional.

Studiul clinic s-a efectuat în conformitate cu legislația R. Moldova și luând în considerare principiile legislației internaționale și a Declarației de la Helsinki.

#### ***2.2.6. Analiza statistică a datelor***

Toate rezultatele experimentale obținute au fost supuse analizei statistice uzuale cu aplicarea instrumentelor statisticii descriptive (calculul mediilor aritmetice, abaterii standarde, coeficientului de variație și limitelor fiduciale), statisticii inferențiale (testele de valabilitate și testele de semnificație) și analizei dispersionale (monofactorial). Calculul indicatorilor statistici a fost efectuat utilizând posibilitățile MS Excel. În calitate de test de semnificație a fost aplicat testul Student, iar  $P < 0,05$  este considerat drept semnificativ. Rezultatele testelor biochimice în tabele și diagrame sunt prezentate ca media a trei repetări  $\pm$  deviația standard.

### **2.3. Concluzii la capitolul 2**

1. În calitate de obiecte de studiu în această lucrare au servit materiile prime utilizate pentru obținerea balsamurilor curativo-profilactice noi – diferite părți ale plantelor de diferite specii produse de asociația de culturi eterooleaginoase și plante medicinale AROMED, Republica Moldova, biomasa de spirulină obținută în laboratorul Ficobiotehnologie al Institutului de Microbiologie și Biotehnologie și la întreprinderea FICOTEHFARM SRL, Republica Moldova.
2. Metodele aplicate în cercetare se referă la obținerea extractelor și maceratelor din biomasa vegetală, la determinarea activității antioxidante a extractelor individuale și amestecurilor și la aprecierea efectelor biologice exercitate de balsamurile curativo-profilactice noi.
3. Studiul toxicității balsamurilor curativo-profilactice a fost realizat pe șoareci și șobolani, conform recomandărilor internaționale ICH M3(R2), și a inclus analiza parametrilor fiziologici, hematologici, biochimici, și morfologici.
4. Studiul efectelor biologice ale balsamurilor elaborate la pacientele cu CGM și CORF a fost realizat în conformitate cu legislația R. Moldova și luând în considerare principiile legislației internaționale și a Declarației de la Helsinki, și a inclus analiza parametrilor hematologici, biochimici, și imunologici.

### 3. PROCEDEE DE OBTINERE A EXTRACTELOR CU PROPRIETĂȚI ANTIOXIDANTE DIN MATERII PRIME VEGETALE

În numeroase condiții fiziopatologice, inclusiv inflamații, boli neurodegenerative și cancer sunt implicate speciile reactive de oxigen și azot. Dovezile acumulate indică faptul că afectarea oxidativă a biomoleculelor inclusiv a lipidelor, proteinelor și ADN-ului contribuie la apariția și evoluția acestor maladii [145]. De exemplu, au fost aduse dovezi experimentale a faptului, că speciile reactive de oxigen (SRO) joacă un rol important în fiziopatologia hipertensiunii. Vasele sangvine sunt o sursă bogată de NADPH oxidază, care produce cea mai mare parte a speciilor reactive de oxigen și joacă un rol important în disfuncția renală și în afectarea vasculară. Studii recente arată că stresul oxidativ crescut este mediatorul important al dereglărilor endoteliale în patologia hipertensiunii arteriale asociate cu creșterea producției de oxidanți, cum ar fi peroxidul de hidrogen și superoxid anionul, reducerea sintezei de oxid nitric și scăderea biodisponibilității antioxidanților. S-a constatat că stresul oxidativ este asociat cu disfuncția endotelială, inflamația, hipertrofia, apoptoza, migrația celulară, fibroza și angiogeneza în raport cu remodelarea vasculară în hipertensiunea arterială [138].

Deteriorarea ADN, în mare parte datorată stresului oxidativ, este o cauză principală a funcției defecte a spermei. Spermatozoizii sunt foarte vulnerabili la stresul oxidativ din cauza nivelurilor limitate de antioxidanți, iar aportul exterior de antioxidanți ar putea fi o soluție în problema majoră a infertilității masculine [19].

Stresul oxidativ a fost recunoscut ca factor ce contribuie la îmbătrânire și evoluția mai multor maladii neurodegenerative, inclusiv maladia Alzheimer. Producția crescută SRO, asociată cu pierderea funcției mitocondriale, dependentă de vârstă și de stările patologice, homeostazia metalelor modificată și protecția antioxidantă insuficientă afectează în mod direct activitatea sinaptică și neurotransmisia, ceea ce duce la disfuncții cognitive. Țintele moleculare afectate de SRO includ ADN-ul nuclear și mitocondrial, lipidele, proteinele, reacțiile metabolismului energetic. Metabolismul celular anormal favorizează producerea și acumularea de proteină amiloidă  $\beta$  ( $A\beta$ ) și proteină *Tau* hiperfosforilată, care în mod independent pot agrava disfuncția mitocondrială și producția de SRO, formând astfel un ciclu vicios [147].

Sindromul metabolic reprezintă o problemă de sănătate publică la nivel mondial. Legătura dintre sindromul metabolic și maladiile asociate (obezitatea, diabetul, dislipidemia, hipertensiunea arterială și toleranța la glucoză afectată) este reprezentată de stresul oxidativ și de dezechilibrul *redox* intracelular, ambele cauzate de persistența afecțiunilor inflamatorii cronice

care caracterizează sindromul metabolic. Accelerarea formării SRO în sindromul metabolic a fost acceptată ca un mecanism principal de bază pentru disfuncția mitocondrială, acumularea de produse de oxidare ale proteinelor și lipidelor și afectarea sistemelor antioxidante. Terapiile cu antioxidanți ar putea să contracareze stresul oxidativ, să îmbunătățească protecția antioxidantă endogenă, să atenueze simptomele sindromului metabolic și să prevină complicațiile legate de riscurile cardiovasculare [152].

Etiologia cancerului este legată de cauze ereditare și de mediu. Aproximativ 90 la sută din cancerele umane sunt cauzate de factorii de mediu, predominant prin alegere a stilului de viață (fumat, dietă hipercalorică, radiații UV), în timp ce restul se datorează infecțiilor și expunerii chimice. Cancerul este un proces care implică modificări mutaționale și proliferative celulare necontrolate. Cercetările au stabilit ferm rolul cauzal și contributiv al stresului oxidativ și al daunelor oxidative în inițierea și evoluția cancerului [79].

Un alt grup important de probleme asociate cu stresul oxidativ sunt disfuncțiile sexuale, care prezintă un simptom medical și social grav prezent, după diferite estimări, la 10-52% dintre bărbați și 25-63% dintre femei [50, 67, 96, 97]. Cauzele organice ale disfuncției erectile includ hipogonadismul, hiperprolactinemia și tulburările neurologice. Diabetul, afecțiunile cardiovasculare, afecțiunile tractului urinar și maladiile cronice sunt de asemenea factori de risc semnificativi pentru disfuncțiile sexuale. Dintre cauzele sociale ale acestor tulburări, cel mai important factor este stresul. Depresia și anxietatea sunt implicate în dezvoltarea disfuncțiilor sexuale la femei și bărbați [97]. Mai multe trialuri controlate randomizate susțin corelarea între mediul inflamator și disfuncția erectilă la bărbații care suferă de boli metabolice [92]. În plus, multe tratamente administrate în caz de diabet zaharat, hipertensiune arterială și psihoză contribuie, de asemenea, la agravarea situației cu disfuncție erectilă la bărbați și libido la femei. Este bine cunoscut faptul că la persoanele care suferă de stres și insomnie pentru o lungă perioadă de timp, libidoul scade, ducând din nou la apariția stresului și a insomniei, declanșând astfel un cerc vicios de patologie.

În prezent, medicamentele disponibile și tratamentele destinate disfuncțiilor sexuale, inclusiv cele erectile, au o eficiență limitată, se caracterizează prin numeroase efecte secundare neplăcute și contraindicații în anumite tulburări. Citratul de sildenafil (Viagra) este unul dintre cele mai de succes medicamente în acest scop, care modifică hemodinamica penisului, provocând reacții adverse comune, cum ar fi cefaleele, roșeața facială, dispepsia și congestia nazală. Din aceste motive, dezvoltarea unor noi medicamente eficiente, cu efecte adverse minime în tratamentul disfuncției sexuale, rămâne în permanență în centrul atenției cercetătorilor.

A fost demonstrată legătura dintre stresul oxidativ și disfuncțiile sexuale la bărbați [130]. Corelarea respectivă se produce, în special, prin intermediul oxidului nitric. Oxidul nitric (NO) este considerat molecula cheie pentru mecanismele erectile: cascada NO / cGMP (guanozin monofosfatul ciclic) este principalul sistem de control al erecției penisului [24]. NO acționează asupra relaxării vasculaturii și a mușchilor netezi ai penisului pe calea cGMP. Atunci când concentrațiile de SRO depășesc abilitățile de decontaminare ale celulelor,  $O_2^-$  reacționează cu NO, ceea ce duce la producerea de specii reactive ale azotului (SRN), inclusiv peroxinitrit ( $ONOO^-$ ) și acid peroxinitros (ONOOH); ambii compuși sunt foarte reactivi, având activitate citotoxică ridicată [85]. De rând cu aceasta se reduce brusc disponibilitatea oxidului nitric pentru reacțiile care asigură funcția erectilă.

Având în vedere că stresul oxidativ este practic omniprezent și nediagnosticabil în evaluarea de rutină și că administrarea de scavengeri ai SRO este relativ lipsită de reacții adverse, tratamentul cu antioxidanți se propune ca o substituție sau o completare la terapiile existente pentru disfuncțiile sexuale masculine. Efecte benefice ale antioxidanților atât în tratamentul, cât și în prevenirea disfuncțiilor erectile sunt asigurate prin disponibilitatea crescută a oxidului nitric și reducerea stresului oxidativ [130].

Antioxidanții oferă protecție împotriva daunelor cauzate de SRO și SRN în organismele vii. Un antioxidant poate fi definit ca o moleculă care are capacitatea de a inhiba oxidarea unei alte molecule, deci, cu alte cuvinte, este un agent reducător care este suficient de stabil pentru a dona un electron unui radical liber și, prin urmare, duce la neutralizarea acestuia. Aportul exogen de antioxidanți poate avea beneficii în îmbătrânire, maladiile degenerative, maladiile cardiovasculare, diabet, disfuncțiile sexuale ș.a. Sursele ce conțin antioxidanți exogeni sunt clasificate ca medicamente alternative [157].

Antioxidanții exogeni provin în principal din alimente și plante medicinale, cum ar fi fructele, legumele, cerealele, ciupercile, microalgele și cianobacteriile, băuturile tari pe bază de plante, florile, mirodeniile și plantele medicinale tradiționale [87, 170]. Acești antioxidanți naturali din materialele vegetale sunt în principal polifenoli (acizii fenolici, flavonoidele, antocianinele, lignanii și stilbenele), carotenoizi (xantofilele și carotenele) și vitamine (vitaminele E și C) [13]. Antioxidanții naturali, și în special polifenolii și carotenoizii, prezintă o gamă largă de efecte biologice, cum ar fi cele antiinflamatorii, antibacteriene, antivirale, anti-îmbătrânire și anticancer. [111, 172-174]. În cantități mici, antioxidanții inhibă semnificativ reacțiile de oxidare ale lipidelor, ADN-ului și proteinelor, ceea ce normalizează reacțiile imune și reduce metamorfoza patologică a celulelor [46].



Având în vedere efectele lor importante asupra sănătății, metodele de extracție eficientă a antioxidanților naturali, evaluarea adecvată a activității antioxidante, precum și principalele resurse din categoria plantelor și cianobacteriilor atrag atenția deosebită a cercetătorilor din domeniul farmaceuticii și medicinei [7].

Pentru a îmbunătăți extragerea componentelor antioxidante din materialele vegetale, este important de a dezvolta procedee noi, prietenoase mediului pentru reducerea timpului operațional și diminuarea nivelului de utilizare a solvenților organici toxici.

### **3.1. Procedee de extragere a componentelor antioxidante din biomasa vegetală**

Cele mai des aplicate procedee de obținere a componentelor din biomasa vegetală sunt extragerea cu diferiți solvenți, extragerea în CO<sub>2</sub> supercritic, macerarea, remacerarea (sau macerarea repetată), obținerea decocturilor. Pornind de la scopul nostru de a obține produse curativo-profilactice de tipul balsamurilor, este indicat de a utiliza extracte sau macerate din biomasa speciilor de plante selectate pentru utilizare, iar în calitate de solvent – etanolul sau soluțiile hidro - etanolicе de diferită concentrație. Pentru a evidenția cel mai bun procedeu de extragere în soluție a componentelor cu acțiune antioxidantă au fost realizate optimizări pe două variabile – concentrația etanolului și durata de contact a solventului cu biomasa vegetală.

În calitate de metodă unică de determinare a capacității antioxidante a componentelor obținute a fost selectată metoda de reducere a radicalului cation ABTS<sup>•+</sup>, care este apreciată pentru posibilitatea de fi aplicată pe amestecuri complicate din diferite substanțe active cu diferit grad de polaritate. De asemenea, pornind de la implicarea speciilor reactive ale azotului în disfuncțiile sexuale, o altă metodă foarte importantă în elaborarea balsamurilor curativo-profilactice cu efecte pozitive este metoda de determinare a capacității de reducere a radicalului oxidului nitric. Aceste două metode de cercetare au fost aplicate în investigarea calității extractelor din biomasa vegetală selectată în calitate de materie primă pentru fabricarea balsamurilor curativo-profilactice.

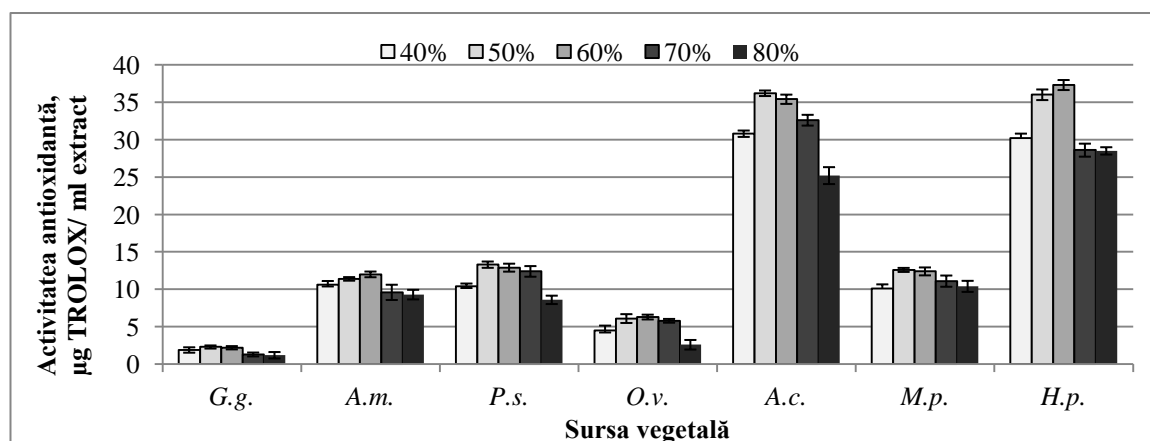
La etapa de studiu al literaturii de specialitate și a brevetelor de invenție cu referire la produse de acest tip, materia primă vegetală selectată pentru cercetare și elaborare a balsamurilor a fost divizată în două categorii – componente de bază și componente suplimentare, care sunt adăugate pentru a conferi produselor finale proprietăți speciale.

Componentele selectate ca bază a balsamurilor curativo-profilactice noi sunt: rădăcina de lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra L*), rizomii de obligeană (*Acorus calamus L*), partea aeriană de sunătoare (*Hypericum perforatum L*), partea aeriană de sovârv (*Origanum vulgare L*), frunze de

izmă bună (*Mentha piperita L.*), partea aeriană de coada-șoricelului (*Achillea millefolium L.*), muguri de pin (*Pinus sylvestris L.*).

Componentele suplimentare pentru diferite balsamuri curativo-profilactice noi au fost următoarele: partea aeriană de imortele (*Helichrysum italicum Roth*), partea aeriană de mentă decorativă (*Monarda citriodora Cerv.ex Lag*), partea aeriană de salvie (*Salvia officinalis L.*), semințe de amarant (*Amaranthus caudatus L.*), partea aeriană și rizom de țelină (*Apium graveolens L.*), rădăcina și partea aeriană de pătrunjel (*Petroselinum crispum*), flori de salcâm (*Robinia pseudoacacia L.*).

La prima etapă a fost testată activitatea antioxidantă a extractelor din biomasa plantelor, selectate ca componente principale ale balsamurilor în condițiile aplicării diferitor concentrații de etanol. Rezultatele obținute sunt prezentate în figura 3.1.



**Fig. 3.1. Activitatea antioxidantă ( $\mu\text{g TROLOX}$  în ml de extract) a extractelor hidro-etanolice din biomasa componentelor de bază ale produselor noi. G.g - *Glycyrrhiza glabra L.*, A.m. - *Achillea millefolium L.*, P.s. - *Pinus sylvestris L.*, O.v. - *Origanum vulgare L.*, A.c. - *Acorus calamus L.*, M.p. - *Mentha piperita L.*, H.p. - *Hypericum perforatum L.* (raport de masă 1:10, timpul de extragere -60 min)**

Rezultatele obținute demonstrează o eterogenitate semnificativă în funcție de specie. Cea mai joasă activitate antioxidantă a fost obținută în extractele din rădăcina de lemn dulce. Valorile activității antioxidante ale extractelor, obținute cu aplicarea soluțiilor hidro-etanolice de diferită concentrație, s-au încadrat între 1,2 și 2,3  $\mu\text{g Trolox}$  echivalent/ml extract. La fel, o activitate antioxidantă joasă au arătat și extractele din sovârv. În cazul extractelor din partea aeriană a acestei plante valorile obținute au fost între 2,6 și 6,3  $\mu\text{g Trolox}$  echivalent/ml extract.

Valori foarte asemănătoare au fost obținute și în cazul aprecierii activității antioxidante a extractelor din frunze de izmă bună, partea aeriană de coada-șoricelului și muguri de pin.

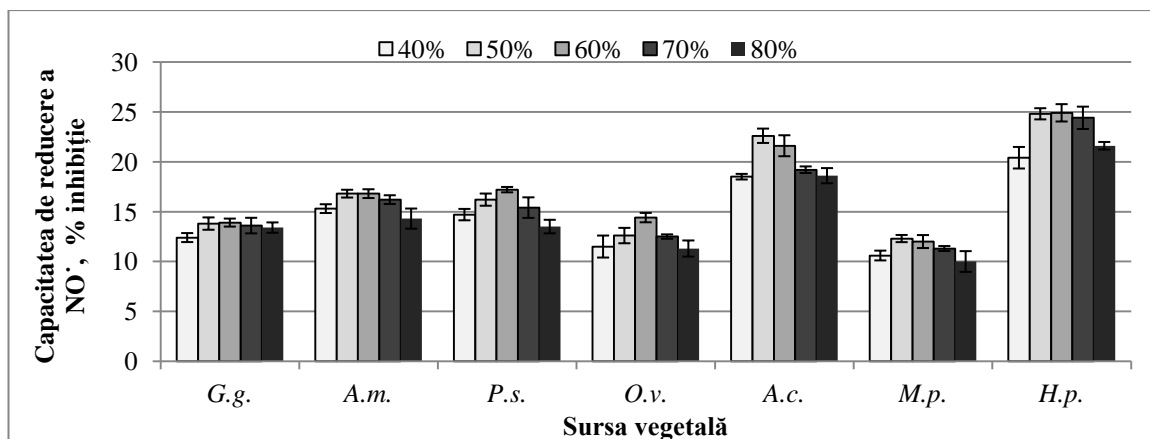
Valorile obținute pentru extractele din aceste plante au variat în limite destul de înguste - între 8,6 și 13,4  $\mu\text{g}$  Trolox echivalent/ml extract.

Cea mai înaltă activitate antioxidantă a fost obținută în cazul extractelor din rizomii de obligeană și partea aeriană de sunătoare. Extractele din rizomi de obligeană au demonstrat o activitate antioxidantă echivalentă cu activitatea a 25,2-36,2  $\mu\text{g}$  Trolox / ml extract. Cele mai active sunt extractele obținute cu aplicarea soluțiilor hidro – etanolice de 50, 60 și 70%. Diferențele dintre aceste 3 tipuri de extracte nu sunt semnificative din punct de vedere statistic.

Extractele din partea aeriană de sunătoare au avut o activitate antioxidantă echivalentă cu activitatea a 28,5-37,3  $\mu\text{g}$  Trolox / ml extract. Cea mai înaltă activitate a fost determinată în extractele obținute cu aplicarea soluțiilor hidro – etanolice de 50 și 60%, (36,0 și 37,3  $\mu\text{g}$  Trolox echivalent / ml extract, respectiv) iar diferențele dintre aceste două variante nu au fost semnificative statistic. Extractul obținut cu aplicarea soluției hidro – etanolice de 70% a avut o activitate mai joasă – de 28,6  $\mu\text{g}$  Trolox echivalent / ml extract.

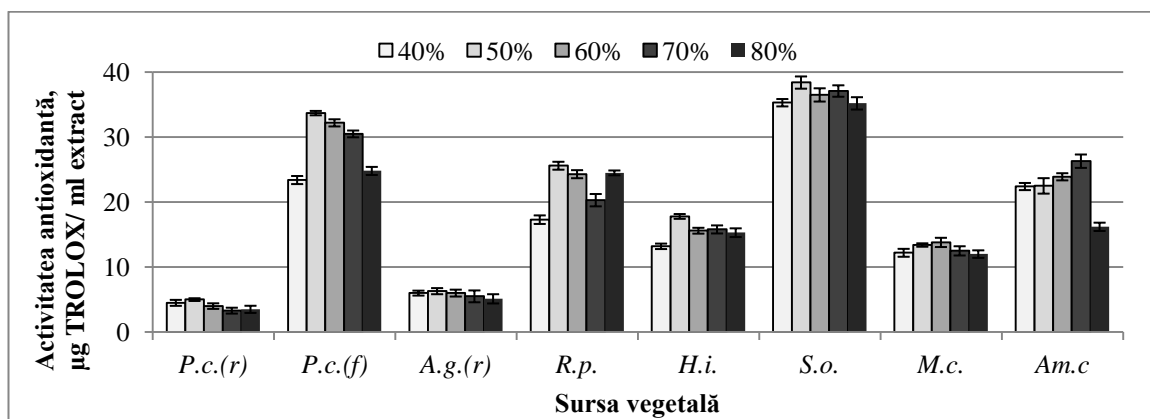
Astfel, extractele cu cea mai înaltă activitate antioxidantă totală se obțin la aplicarea soluțiilor hidro – etanolice cu concentrația de 50 și 60% etanol. Diferența dintre aceste două variante de extragere este ne semnificativă în cazul celor șapte componente de bază ale noilor balsamuri curativo-profilactice, astfel, că concentrația soluției hidro etanolice de 50% poate fi considerată drept optimă atât din punct de vedere economic, cât și din punct de vedere al calității viitoarelor produse. Extractele obținute au fost testate și din punct de vedere al capacității de reducere a radicalului oxidului nitric. Rezultatele sunt prezentate în figura 3.2.

În majoritatea cazurilor, principalul factor de variație a capacității de reducere a radicalului oxidului nitric a fost specia plantei utilizate pentru extragere, iar activitatea extractelor obținute cu soluții hidro - etanolice de diferită concentrație a fost destul de omogenă în fiecare tip de materie primă. Diferențe semnificative în dependență de concentrația etanolului în extractant au fost înregistrate în cazul extractelor din rizom de obligeană și din partea aeriană de sunătoare. Astfel, în cazul extractelor din obligeană, capacitatea de reducere a extractelor hidro – etanolice de 50 și 60% a fost semnificativ mai mare decât în celelalte extracte. În cazul extractelor din sunătoare o capacitate semnificativ mai joasă de reducere a radicalului oxidului nitric au avut-o extractele hidro – etanolice de 40 și 80%. Cea mai înaltă capacitate de reducere a radicalului oxidului nitric se observă în cazul extractelor din rizom de obligeană și cele din partea aeriană de sunătoare.



**Fig. 3.2. Capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric (exprimată în % de inhibiție) a extractelor hidro - etanolice din biomasa componentelor de bază ale produselor noi. G.g - *Glycyrrhiza glabra* L., A.m. - *Achillea millefolium* L., P.s. - *Pinus sylvestris* L., O.v. - *Origanum vulgare* L., A.c. - *Acorus calamus* L., M.p. - *Mentha piperita* L., H.p. - *Hypericum perforatum* L. (raport de masă 1:10, timpul de extragere -60 min)**

Putem concluziona, că atât pentru capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric, cât și a radicalului cation  $ABTS^{+}$ , concentrația optimă a etanolului în soluția aplicată pentru extragere este de 50%, iar cele mai active extracte se obțin din rizom de obligeană și partea aeriană de sunătoare. Același tip de extracte a fost realizat și din biomasa componentelor suplimentare ale produselor noi. Rezultatele obținute în cazul testării capacității de reducere a radicalului cation ABTS sunt prezentate în figura 3.3.

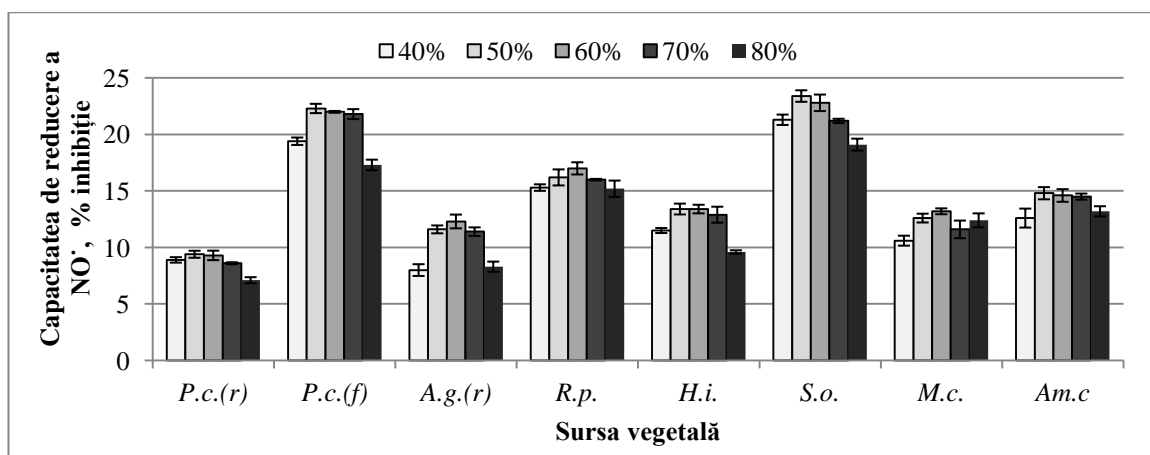


**Fig. 3.3. Activitatea antioxidantă ( $\mu\text{g}$  TROLOX în ml de extract) în extractele hidro - etanolice din biomasa componentelor suplimentare ale produselor noi. P.c.(r) – rădăcină de *Petroselinum crispum* L., P.c. (f) - partea aeriană de *Petroselinum crispum* L., A.g. (r) – rădăcină de *Apium graveolens* L., R.p. - *Robinia pseudoacacia* L., H.i. - *Helichrysum italicum* Roth., S.o. – *salvia officinalis* L., M.c. - *Monarda citriodora* Cerv.ex Lag, Am.c. - *Amaranthus caudatus* L. (raport de masă 1:10, timpul de extragere -60 min)**

Cea mai joasă activitate antioxidantă a fost obținută pentru extractele din rădăcină de pătrunjel și țelină (între 3,3 și 4,5  $\mu\text{g}$  Trolox / ml de extract în cazul pătrunjelului și între 5,5 și 6,3  $\mu\text{g}$  Trolox / ml de extract în cazul țelinii). Activitate comparabilă au demonstrat extractele din imortele și menta decorativă. În aceste cazuri capacitatea de reducere a radicalului cation  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  a fost de până la 17,8  $\mu\text{g}$  Trolox în ml de extract. Valori între 17,3 și 26,3  $\mu\text{g}$  Trolox în ml de extract au fost obținute în cazul testării capacității de reducere a  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  în extractele din partea aeriană de flori de salcâm și semințe de amarant. Cea mai mare activitate a fost înregistrată în extractele obținute cu soluție hidro – etanolică de 50% din partea aeriană de pătrunjel ( $33,7 \pm 0,34$   $\mu\text{g}$  Trolox /ml) și salvie ( $38,4 \pm 0,94$   $\mu\text{g}$  Trolox /ml).

Ca și în cazul componentelor de bază ale preparatelor noi, extractele testate au avut cea mai mare activitate antioxidantă în cazul aplicării concentrației etanolului între 50 și 70% , iar în calitate de concentrație optimă a fost selectată concentrația de 50% etanol.

Capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric de către extractele hidro – etanolice din componentele suplimentare ale noilor produse curativo-profilactice sunt redată în figura 3.4.

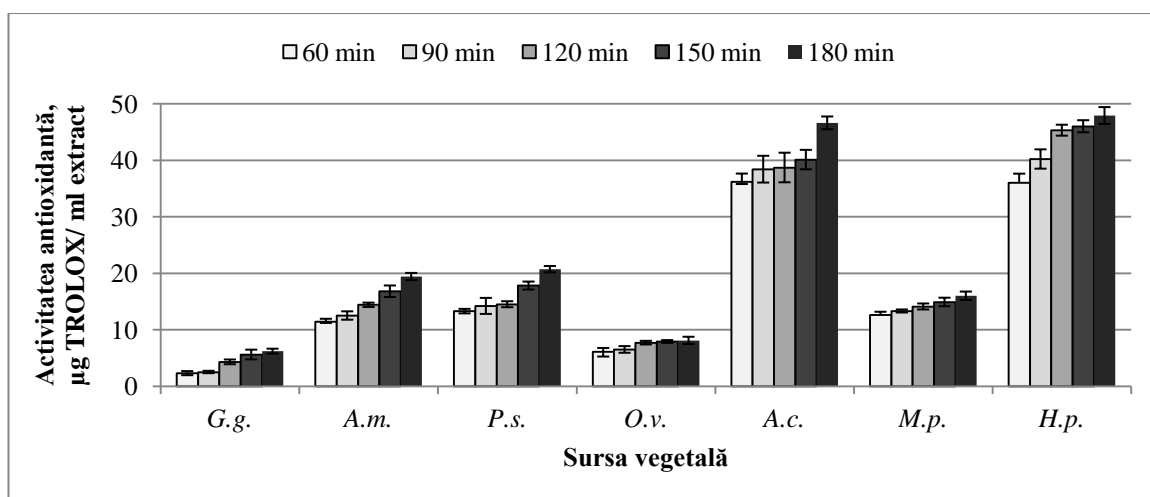


**Fig. 3.4. Capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric (% de inhibiție) a extractelor hidro - etanolice din biomasa componentelor suplimentare ale produselor noi. *P.c.(r)* – rădăcină de *Petroselinum crispum* L., *P.c.(f)* - partea aeriană de *Petroselinum crispum* L., *A.g.(r)* – rădăcină de *Apium graveolens* L, *R.p.* - *Robinia pseudoacacia* L., *H.i.* - *Helichrysum italicum* Roth., *S.o.* – *salvia officinalis* L., *M.c.* - *Monarda citriodora* Cerv.ex Lag, *Am.c.* - *Amaranthus caudatus* L. (raport de masă 1:10, timpul de extragere -60 min)**

Cea mai joasă capacitate de reducere a radicalului oxidului nitric a fost determinată în extractele din rădăcina de pătrunjel și cele de țelină – valorile obținute se încadrează între 7,1 - 12,3% inhibiție. Concentrația diferită a etanolului utilizat pentru extracție nu a influențat proprietățile extractului în cazul acestor două materii prime, astfel că diferențe semnificative statistic nu au fost observate. Extractele din imortele și menta decorativă au o capacitate de

reducere a NO între 9,6 și 13,4% inhibiție. Puțin mai înalte sunt valorile acestui parametru în cazul extractelor din florile de salcâm și semințele de amarant – între 12,6 și 17,0% inhibiție. Cea mai înaltă activitate o au extractele din părțile aeriene de salvie și de pătrunjel, valorile încadrându-se între 17,3 și 23,4% inhibiție. În cazul extractelor din părțile aeriene de pătrunjel și salvie, precum și a celor din semințe de amarant activitatea extractelor obținute cu soluție hidro-etanolică de 50% este semnificativ mai mare comparativ cu cea a extractelor obținute cu soluție de 40% etanol ( $P < 0,005$ ). Între activitatea extractelor de 50% și a celor de 60% diferențe semnificative nu au fost. Astfel, concentrația optimă a soluției hidro-etanolice aplicată în scopul obținerii extractelor cu capacitate înaltă de reducere a radicalului oxidului nitric este de 50%.

Timpul de extragere este cea de-a doua variabilă verificată în studiul realizat. Astfel, au fost realizate extracții din biomasa componentelor de bază cu soluție hidro-etanolică de 50%, iar timpul de contact a fost mărit gradat până la 180 min. Rezultatele obținute sunt prezentate în figura 3.5.

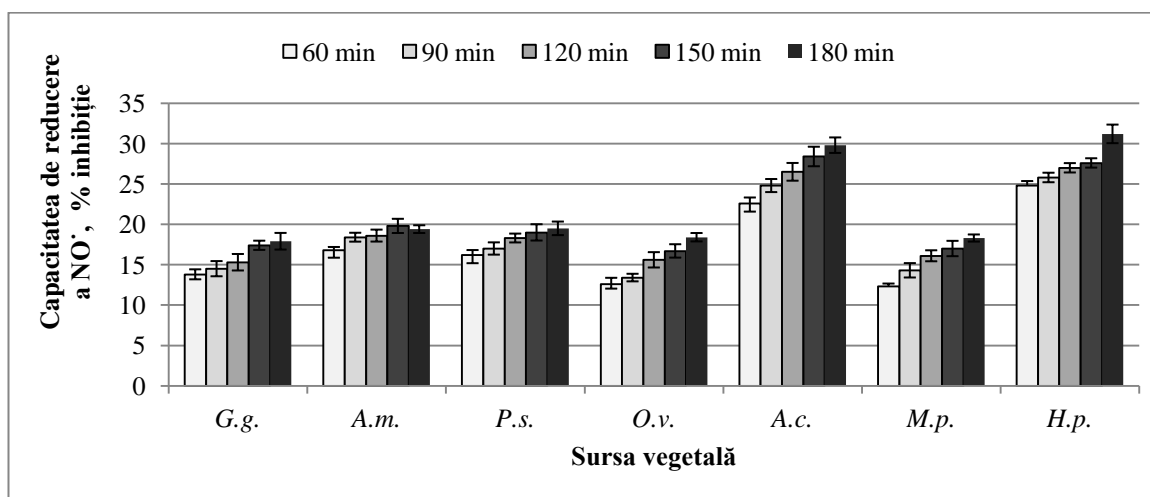


**Fig. 3.5. Activitatea antioxidantă ( $\mu\text{g TROLOX}$  în ml de extract) a extractelor hidro-etanolice (50%) din biomasa componentelor de bază ale produselor noi în dependență de timp. G.g - *Glycyrrhiza glabra L.*, A.m. - *Achillea millefolium L.*, P.s. - *Pinus sylvestris L.*, O.v. - *Origanum vulgare L.*, A.c. - *Acorus calamus L.*, M.p. - *Mentha piperita L.*, H.p. - *Hypericum perforatum L.***

Mărirea timpului de contact a biomasei cu soluția hidro-etanolică duce la o creștere a activității antioxidante în extract. Astfel, valorile obținute în cazul aplicării unei extracții cu durata de 180 min sunt semnificativ mai mari comparativ cu cele obținute în extracțiile de 60 min ( $P < 0,001$  pentru toate componentele cu excepția extractului din sovârv, unde  $P < 0,01$ ). În cazul extractelor din părțile aeriene de sovârv, izmă bună și sunătoare, precum și în cazul extractului din rizom de obligeană mărirea duratei de extragere de la 60 min la 3 ore duce la o

mărire a activității antioxidante a extractelor de aproximativ 1,3 ori. În cazul extractelor din muguri de pin activitatea antioxidantă crește de 1,55 ori, în cazul extractelor din părți aeriene de pătrunjel – de 1,7 ori, iar în cazul extractului din rădăcină de lemn dulce – de 2,6 ori.

Efectul măririi duratei de extragere asupra capacității de reducere a NO<sup>•</sup> poate fi urmărit pe figura 3.6. Ca și în cazul indicatorului analizat anterior, odată cu mărirea timpului de contact al extractantului cu biomasa vegetală are loc creșterea capacității de reducere a radicalului NO<sup>•</sup>. Cu toate că pentru componentele de bază ale preparatelor curativo-profilactice diferențele dintre activitatea extractelor obținute în 60 min și a celor obținute ca rezultat al unei extracții cu durata de 3 ore sunt semnificative, acestea nu sunt atât de mari ca în cazul capacității de reducere a radicalului ABTS<sup>•+</sup> - de până la 1,46 și 1,48 ori în cazul sovârvului și izmei bune. Pentru celelalte tipuri de materii vegetale creșterea a fost de 1,15-1,31 ori.

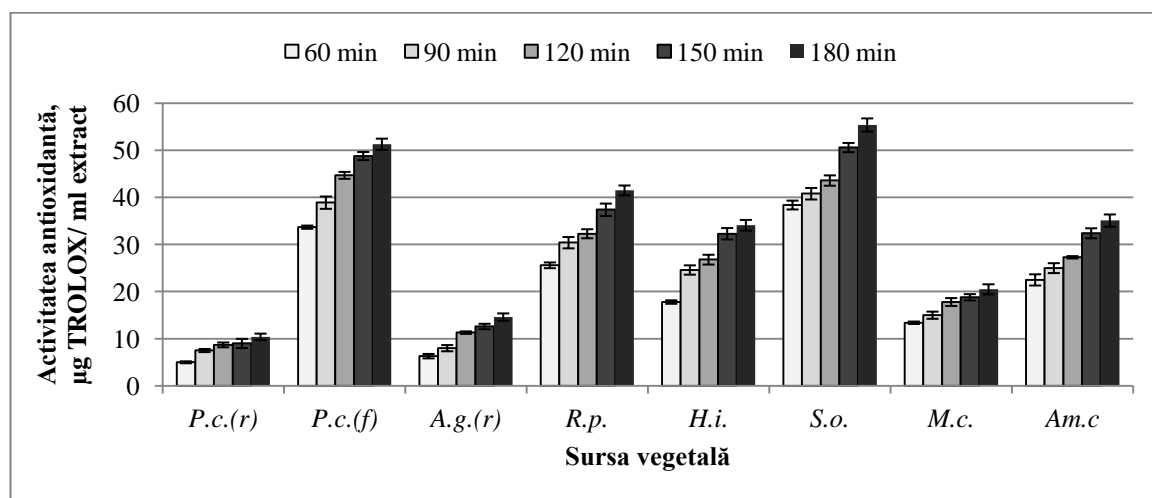


**Fig. 3.6. Capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric (exprimată în % de inhibiție) a extractelor hidro - etanolice (50%) din biomasa componentelor de bază ale produselor noi în dependență de timp. G.g - *Glycyrrhiza glabra* L., A.m. - *Achillea millefolium* L., P.s. - *Pinus sylvestris* L., O.v. - *Origanum vulgare* L., A.c. - *Acorus calamus* L., M.p. - *Mentha piperita* L., H.p. - *Hypericum perforatum* L.**

În cazul componentelor auxiliare ale produselor curativo - profilactice noi, mărirea duratei de extragere are aceleași efecte. Valorile activității antioxidante a extractelor obținute la aplicarea extragerii hidro – etanolice de 50% cu durată variabilă pot fi urmărite pe figurile 3.7 și 3.8.

Astfel, în cazul extractului din rădăcină de pătrunjel activitatea antioxidantă crește de la echivalentul a 5 μg Trolox / ml extract în cazul timpului de extragere de 60 min la echivalentul a 10,4 μg Trolox /ml de extract în cazul extragerii cu durata de 180 min, ceea ce înseamnă o creștere de 2,08 ori. Aceasta este, de fapt, una dintre cele mai mari creșteri în limita rezultatelor

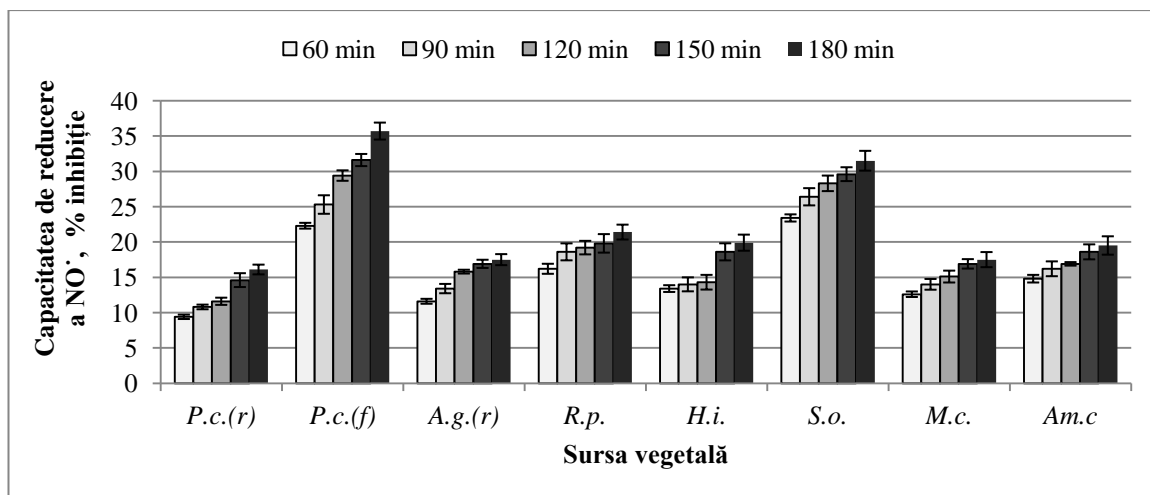
obținute pentru produsele suplimentare din componența balsamurilor noi. O creștere de 2,3 ori la mărirea duratei de extragere a fost observată pentru rădăcina de țelină.



**Fig. 3.7. Activitatea antioxidantă (µg TROLOX în ml de extract) a extractelor hidro-etanolice (50%) din biomasa componentelor suplimentare ale produselor noi în dependență de timp. P.c.(r) – rădăcină de *Petroselinum crispum L.*, P.c. (f) - partea aeriană de *Petroselinum crispum L.*, A.g. (r) – rădăcină de *Apium graveolens L.*, R.p. - *Robinia pseudoacacia L.*, H.i. - *Helichrysum italicum Roth.*, S.o. – *salvia officinalis L.*, M.c. - *Monarda citriodora Cerv.ex Lag.*, Am.c. - *Amaranthus caudatus L.***

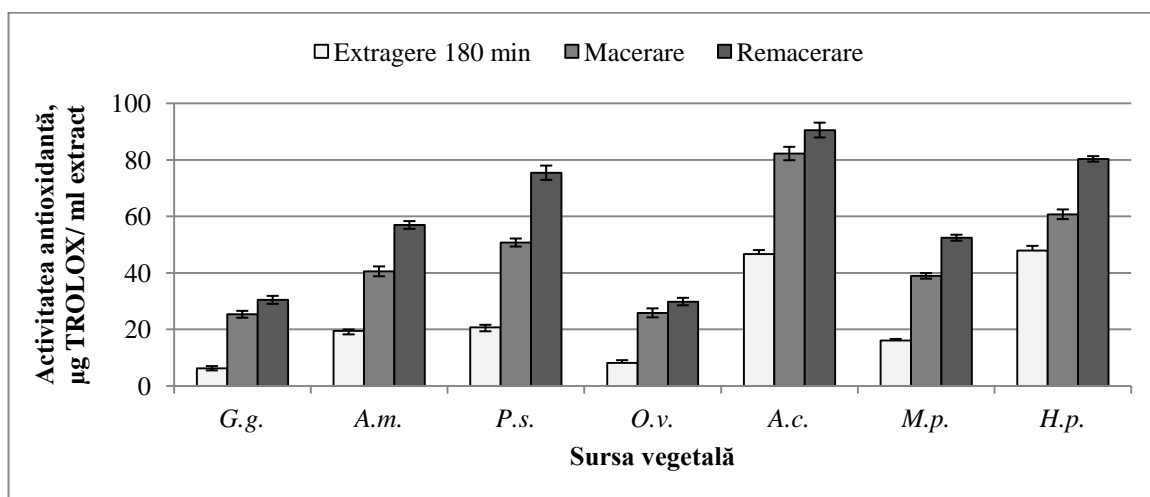
Pentru această materie primă activitatea antioxidantă crește de la 6,3 la 14,6 µg Trolox / ml extract la creșterea timpului de extragere de la 60 la 180 min. Și în cazul imortelelor creșterea duratei de extragere duce la creșterea activității antioxidante a extractului – de la 17,8 la 34,1 µg Trolox / ml extract (sau de 1,91 ori). În cazul extractelor din părțile aeriene de pătrunjel, florile de salcâm, părțile aeriene de salvie, mentă decorativă și semințe de amarant mărirea duratei de extragere de la 30 la 180 min duce la mărirea activității antioxidante a extractelor obținute de 1,44 – 1,62 ori. Capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric de asemenea crește în extracte odată cu mărirea duratei de extragere (figura 3.8). Valoarea acestui parametru a crescut odată cu timpul de extragere în extractele din toate tipurile materii prime vegetale utilizate suplimentar la componentele de bază ale balsamurilor noi curativo - profilactice. Creșterea înregistrată a fost destul de uniformă, iar valorile obținute la extragerea cu durata de 180 min au fost de 1,31 – 1,71 ori mai mari comparativ cu cele obținute la extragerea cu durata de 60 min ( $P < 0,001$  pentru toate materiile prime). Cel mai semnificativ a crescut activitatea extractului de rădăcină de pătrunjel – de 1,71 ori și a celui din partea aeriană din pătrunjel – de 1,60 ori.





**Fig. 3.8. Capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric (% de inhibiție) a extractelor hidro - etanolice (50%) din biomasa componentelor suplimentare ale produselor noi în dependență de timp. *P.c.(r)* – rădăcină de *Petroselinum crispum L.*, *P.c.(f)* – partea aeriană de *Petroselinum crispum L.*, *A.g.(r)* – rădăcină de *Apium graveolens L.*, *R.p.* - *Robinia pseudoacacia L.*, *H.i.* – *Helichrysum italicum Roth.*, *S.o.* – *Salvia officinalis L.*, *M.c.* – *Monarda citriodora Cerv.ex Lag*, *Am.c.* - *Amaranthus caudatus L.***

În continuarea cercetărilor, eficiența extracției cu durata de 3 ore a fost comparată cu eficiența macerării simple și triple a aceluiași tip de biomasă pentru toate componentele de bază. Rezultatele sunt prezentate în figura 3.9.

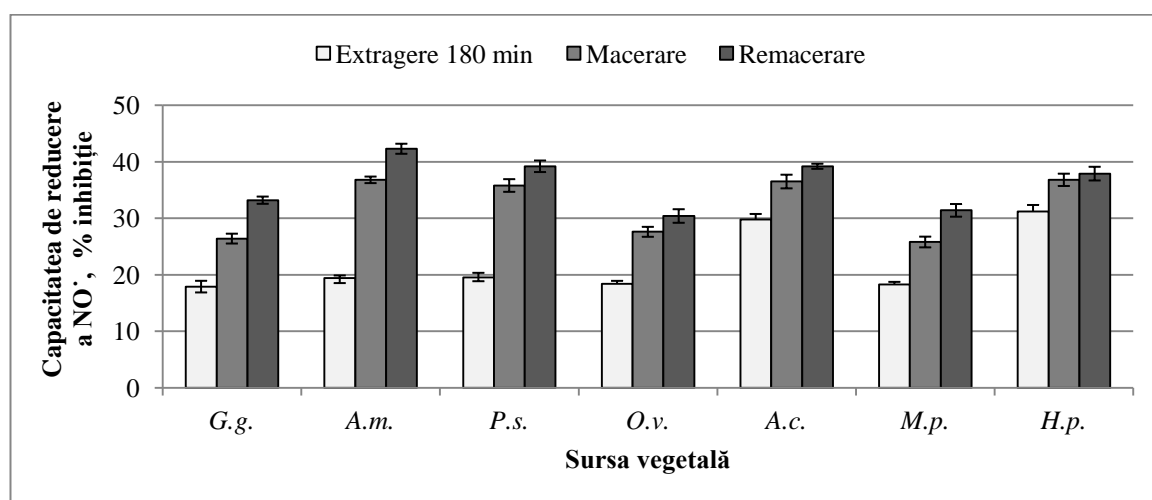


**Fig. 3.9. Activitatea antioxidantă (μg TROLOX în ml de extract) în extractele hidro - etanolice (50%), macerate și remacerate din biomasa componentelor de bază ale produselor noi. *G.g.* - *Glycyrrhiza glabra L.*, *A.m.* - *Achillea millefolium L.*, *P.s.* - *Pinus sylvestris L.*, *O.v.* - *Origanum vulgare L.*, *A.c.* - *Acorus calamus L.*, *M.p.* - *Mentha piperita L.*, *H.p.* - *Hypericum perforatum L.***

Aplicarea procedurii de macerare pe durata a 5 zile, așa cum este descris în cap.2. duce la o creștere semnificativă a activității antioxidante a extractelor obținute. Maceratul de sunătoare este de 1,27 ori mai activ ca extractul simplu, iar maceratul din rizom de obligeană – de 1,76 ori mai activ ca extractul hidro - etanolic. Maceratele din partea aeriană de coada șoricelului, izmă bună și din muguri de pin sunt de 2,1; 2,4 și 2,5 ori mai active decât extractele respective. O creștere și mai semnificativă a activității antioxidante a maceratului față de extract se observă la sovârv și rădăcina de lemn dulce – de 3,2 și 4,1 ori respectiv.

Aplicarea procedurii de remacerare (macerare triplă) duce la o creștere suplimentară a activității antioxidante a produsului extragerii – cu 10,1-48,7% comparativ cu macerarea simplă. Cea mai modestă creștere – cu 10,1% a activității antioxidante a fost stabilită pentru maceratul triplu din rizom de obligeană, iar cea mai pronunțată creștere – cu 48,7% a fost observată în cazul maceratului triplu din muguri de pin. Astfel, cele mai înalte valori ale activității antioxidante au fost înregistrate în extractele obținute prin macerare repetată din toate tipurile de materii prime vegetale (componente de bază).

Capacitatea de reducere a NO<sup>•</sup> în extractele obținute la contactul de 3 ore a extractantului cu biomasa vegetală, în maceratul simplu și maceratul triplu poate fi urmărită pe figura 3.10.



**Fig. 3.10. Capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric (% de inhibiție) a extractelor hidro - etanolice (50%), macerate și remacerate din biomasa componentelor de bază ale produselor noi. G.g - *Glycyrrhiza glabra L.*, A.m. - *Achillea millefolium L.*, P.s. - *Pinus sylvestris L.*, O.v. - *Origanum vulgare L.*, A.c. - *Acorus calamus L.*, M.p. - *Mentha piperita L.*, H.p. - *Hypericum perforatum L.***

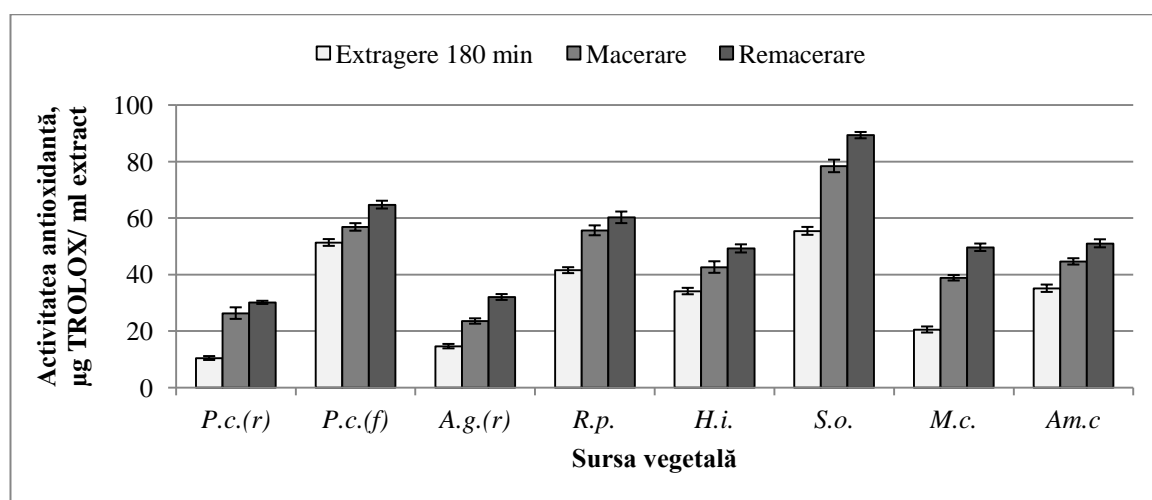
Capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric de asemenea este mai mare în maceratele simple și triple comparativ cu extractele hidro – etanoloce de 50% și durata extracției de 180 min. Activitatea maceratelor simple este mai mare de 1,18 – 1,89 ori, iar cea a

maceratelor triple – de 1,21 - 2,18 ori comparativ cu extractele simple obținute în rezultatul extragerii hidro – etanolice cu durata de 180 min. Cea mai mică creștere a activității antioxidante a fost stabilită în cazul extractelor din sunătoare, iar cea mai mare – a celor din coada șoricelului.

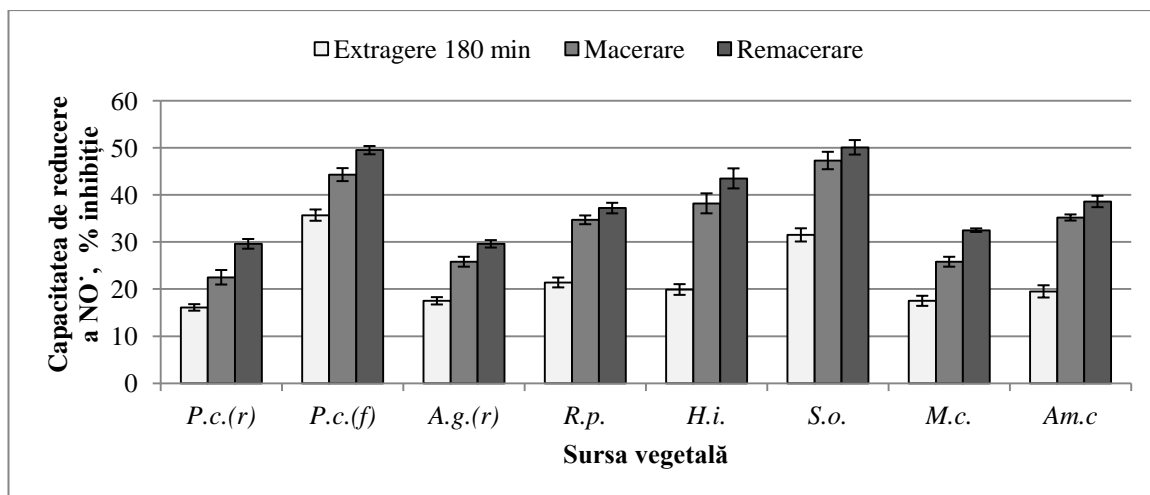
Astfel, aplicarea macerării triple pentru componentele de bază ale noilor balsamuri curativo-profilactice asigură obținerea extractelor cu cea mai înaltă capacitate de reducere a radicalilor ABTS<sup>•+</sup> și NO<sup>•</sup>.

Același lucru se observă și în cazul extractelor și maceratelor din componentele suplimentare ale noilor produse (fig. 3.11 și 3.12).

În cazul componentelor suplimentare ale balsamurilor noi se observă aceeași tendință – activitatea maceratelor este mai mare comparativ cu activitatea extractelor hidro – etanolice simple, iar activitatea maceratelor triple este mai mare decât activitatea maceratelor simple. Cele mai mari valori ale activității antioxidante au fost stabilite pentru extractele din rădăcina de țelină, partea aeriană de mentă decorativă și rădăcina de pătrunjel. Astfel, maceratul simplu din rădăcina de țelină a fost de 1,6 ori mai activ, iar maceratul triplu – de 2,2 ori mai activ comparativ cu extractul simplu hidro - etanolic. În cazul mentei decorative, creșterea este de 1,9 ori pentru maceratul simplu și de 2,4 ori pentru maceratul triplu. Maceratul din rădăcina de pătrunjel este de 2,5 ori mai activ comparativ cu extractul hidro – etanolic, iar maceratul triplu – de 2,9 ori. În cazul celorlalte materii prime suplimentare activitatea antioxidantă a remaceratelor este de 1,3 – 1,6 ori mai mare comparativ cu activitatea antioxidantă a extractelor hidro - etanolice simple obținute prin extragere cu durata de 3 ore.



**Fig. 3.11. Activitatea antioxidantă (µg TROLOX / ml de extract) a extractelor hidro - etanolice (50%), maceratelor și remaceratelor din biomasa componentelor suplimentare ale produselor noi. P.c.(r) – rădăcină de *Petroselinum crispum* L., P.c. (f) - partea aeriană de *Petroselinum crispum* L., A.g. (r) – rădăcină de *Apium graveolens* L, R.p. - *Robinia pseudoacacia* L., H.i. - *Helichrysum italicum* Roth., S.o. – *Salvia officinalis* L., M.c. - *Monarda citriodora* Cerv.ex Lag, Am.c. - *Amaranthus caudatus* L.**



**Fig. 3.12. Capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric (% de inhibiție) a extractelor hidro - etanolice (50%), maceratelor și remaceratelor din biomasa componentelor suplimentare ale produselor noi. *P.c.(r)* – rădăcină de *Petroselinum crispum* L., *P.c.(f)* - partea aeriană de *Petroselinum crispum* L., *A.g.(r)* – rădăcină de *Apium graveolens* L, *R.p.* - *Robinia pseudoacacia* L., *H.i.* - *Helichrysum italicum* Roth., *S.o.* – *salvia officinalis* L., *M.c.* - *Monarda citriodora* Cerv.ex Lag, *Am.c.* - *Amaranthus caudatus* L.**

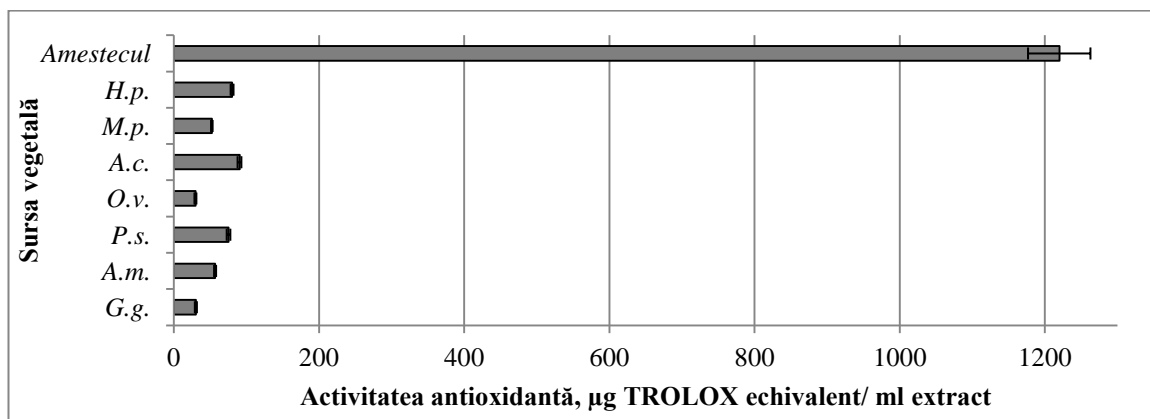
Capacitatea de reducere a NO<sup>•</sup> de asemenea este mai mare în macerate și remacerate pentru toate materiile prime vegetale utilizate suplimentar în produsele noi (figura 3.12). Capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric a maceratelor din componentele vegetale suplimentare din componența noilor balsamuri a fost de 1,24 – 1,91 ori mai înaltă comparativ cu activitatea extractelor simple. Cea mai mare creștere a fost observată pentru maceratul din partea aeriană de imortele (de 1,91 ori), urmată de creșterea activității maceratului din semințe de amarant (de 1,80 ori). Maceratele triple au avut o activitatea de reducere a NO<sup>•</sup> cu 9,7 – 31,6% mai mare comparativ cu activitatea maceratelor simple.

Astfel, atât activitatea antioxidantă exprimată prin reducerea radicalului cation ABTS, cât și capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric este mai înaltă în maceratele și maceratele triple obținute din masa vegetală a componentelor de bază și celor speciale suplimentare, utilizate pentru obținerea noilor balsamuri curativo - profilactice. Macerarea triplă, de rând cu activitatea antioxidantă generală și specifică, mai asigură și îmbunătățirea proprietăților organoleptice a produselor obținute, ceea ce este foarte important în cazul introducerii acestora în componența unui produs de tipul balsamurilor.

În paralel cu remaceratele din componentele de bază separate s-a realizat și un remacerat din amestecul format din mase echivalente ale acestor componente. Un macerat triplu din componentele suplimentare nu s-a făcut, deoarece aceste componente sunt specifice pentru

fiecare produs curativo – profilactic nou elaborat. Rezultatele obținute vor sta la baza elaborării tehnologiilor de fabricare a balsamurilor, care va fi prezentată în capitolul 4.

Activitatea antioxidantă a remaceratului din amestec s-a dovedit a fi de peste 13 ori mai mare decât cel mai activ extract individual din rizomul de obligeană. Valorile obținute pentru amestecul de componente comparativ cu activitatea antioxidantă a fiecărui macerat triplu din materia primă vegetală individuală pot fi observate pe figura 3.13.



**Fig. 3.13. Activitatea antioxidantă a maceratelor triple individuale și a maceratului triplu din amestecul de componente de bază ale balsamurilor noi.**

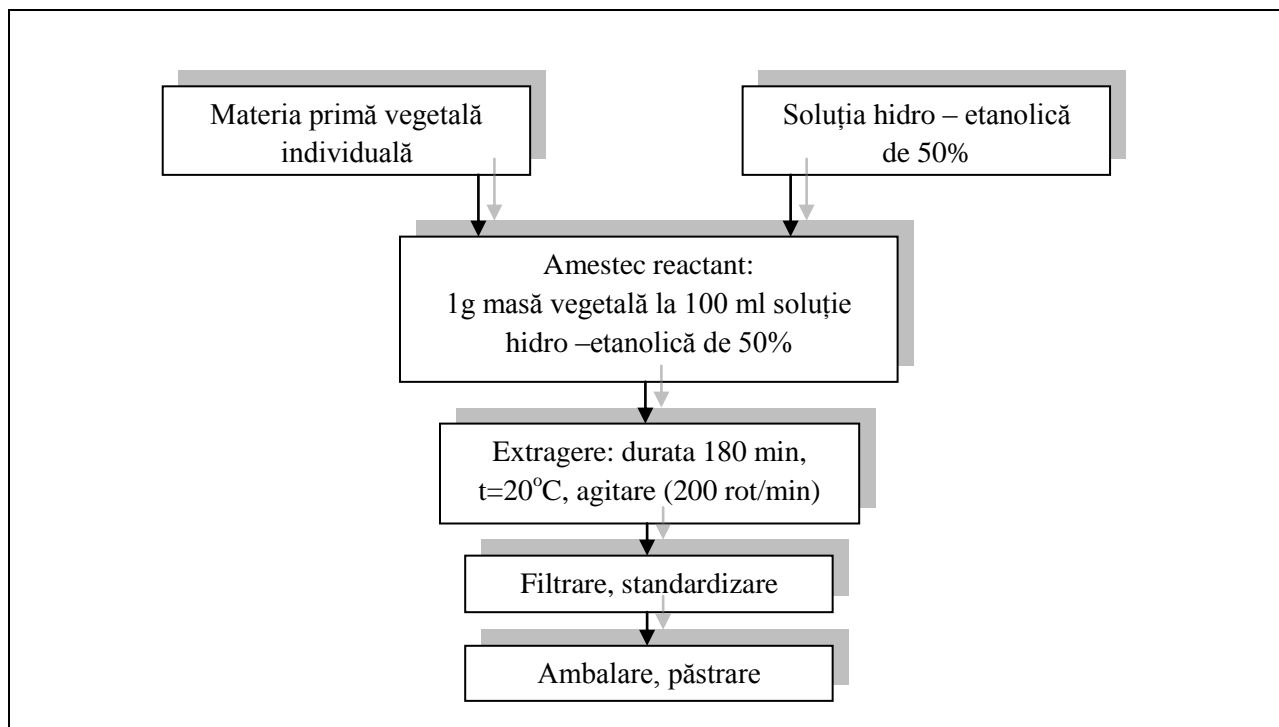
Se poate afirma, că activitatea racematului din amestecul de componente este mai mare decât o sumă simplă a activităților componentelor individuale. Acest fenomen poate fi explicat prin sinergismul componentelor, despre care s-a vorbit în capitolul 1.

Astfel, rezultatele obținute sugerează, că în scopul elaborării unor produse curativo-profilactice cu activitate antioxidantă înaltă componentele vegetale în amestec trebuie supuse procesului de remacerare (macerare triplă). Această procedură permite obținerea unei activități antioxidante net superioare față de activitatea componentelor individuale ale amestecului.

Rezultatele obținute în procesul de extragere a componentelor cu efect antioxidant din materia vegetală a permis de a elabora două procedee de extragere : unul pentru obținerea instant a extractelor hidro etanolice pentru uz imediat și unul de obținere a maceratului triplu din amestec de plante pentru utilizare ulterioară în componența balsamurilor curativo – profilactice (fig. 3.14 și 3.15).

Procedeul de obținere a extractelor hidro – etanolice din biomasa vegetală se realizează în modul următor: se pregătește masa vegetală și soluția hidro – etanolică de 50%, se prepară amestecul reactant reieșind din raportul biomasă (mg): extractant (ml) de 10:1. Extragerea se efectuează la temperatura camerei în baloane de sticlă cu volum de 100 ml, la agitare continuă pe

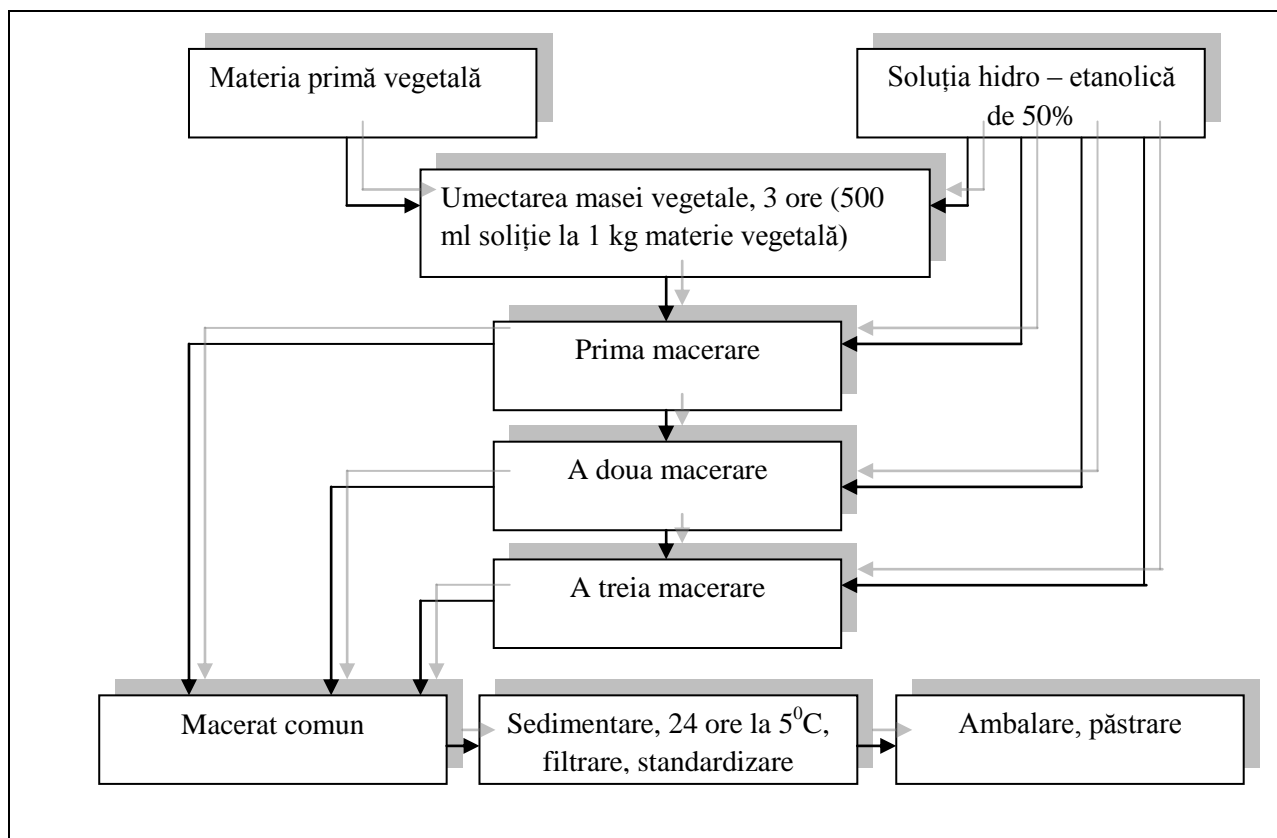
un agitator orbital setat la 200 rot/min, durata extragerii este de 180 min. Extractele obținute se separă de restul de biomasă vegetală prin filtrare, se standardizează după masa uscată, se ambalează și se păstrează în condiții de frigider



**Fig. 3.14. Procedeu de obținere rapidă a extractelor din materie primă vegetală.**

Procedeu de obținere a maceratului triplu se realizează conform schemei din figura 3.15:

Amestecul vegetal se mărunțește și se trece în vasul de macerare. Se adaugă soluția hidro-etanolică pentru umectare. Se utilizează aproximativ 5 ml de soluție la 10 g de masă vegetală. Se lasă la umectat 3 ore. Peste 3 ore amestecul se trece în percolator, se adaugă soluție hidro-etanolică astfel ca aceasta să acopere complet masa vegetală. Percolatorul se închide și se lasă la macerare pentru 5 zile. Peste 5 zile se scurge 1/2 din conținut. Volumul extras se înlocuiește cu soluție hidro-etanolică. Din nou se lasă la macerare timp de 5 zile, apoi se scurge 1/2 din volum. Se adaugă soluție hidro-etanolică astfel, ca să completeze volumul amestecului la cel inițial și din nou se lasă la macerat pentru 5 zile. Se extrage tot extractul. Cele trei fracții din trei macerări se întrunesc, se amestecă și se lasă pentru sedimentare la frigider pentru 24 ore. După 24 ore extractul se filtrează și se standardizează. Extractul se ambalează ermetic și se păstrează la frigider până la utilizare.



**Fig.3.15. Procedeu de obținere a maceratului din materie primă vegetală**

### 3.2. Procedee de extragere a componentelor antioxidante din biomasa de spirulină

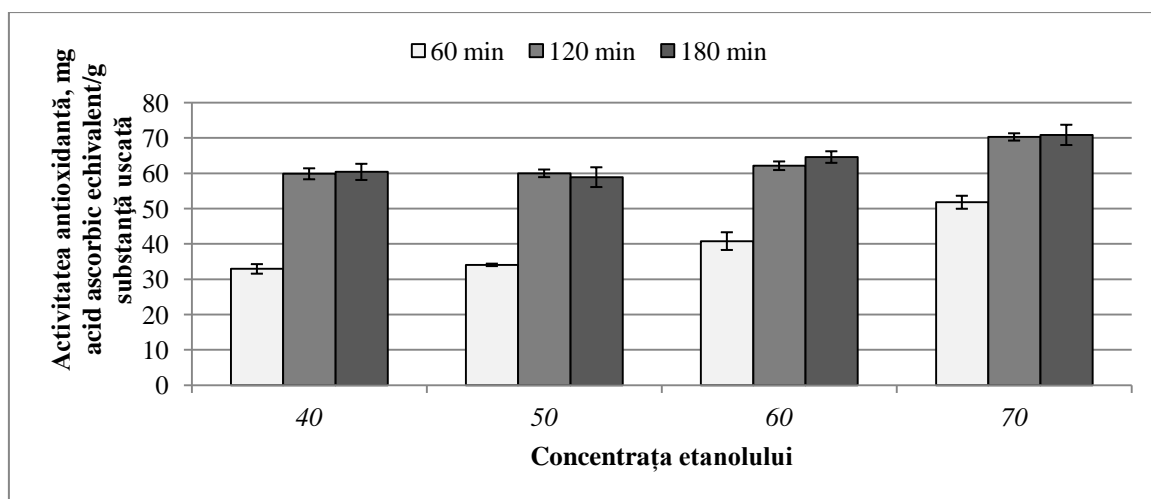
Spirulina este o cianobacterie filamentoasă care este folosită de mult timp ca supliment alimentar. *Spirulina platensis* (denumirea actuală *Arthrospira platensis*) este una dintre cele mai valoroase specii de cianofite. Două caracteristici de bază au determinat utilizarea spirulinei în calitate de nutraceutic – conținutul înalt de proteine și conținutul variat de vitamine în biomasă. În același timp biomasa de spirulină conține numeroase substanțe bioactive, inclusiv cu proprietăți antioxidante, imunomodulatoare și antiinflamatoare. Printre acestea se numără pigmentii spirulinei – clorofila *a*,  $\beta$ -crotenu și alți carotenoizi, ficocianina; compușii fenolici, polizaharidele ș.a. Spirulina activează enzimele antioxidante celulare, inhibă peroxidarea lipidelor și deteriorarea ADN-ului, elimină radicalii liberi și crește activitatea superoxid-dismutazei și a catalazei [161].

Extragerea eficientă a componentelor active din biomasa de spirulină este o sarcină importantă în elaborarea preparatelor destinate uzului uman. Deoarece în această lucrare se pune accent pe proprietățile antioxidante ale noilor produse curativo-profilactice, parametrii testați pe parcursul realizării cercetărilor au fost: activitatea antioxidantă exprimată prin capacitatea de reducere a reagentului fosfomolibdenic (CRFM) și cuantificată în mg de acid ascorbic echivalent

/ g de substanță uscată, activitatea antiradicalică exprimată în capacitatea de inhibiție a radicalului DPPH și conținutul de fenoli, determinată prin metoda reducerii reagentului Folin-Ciocalteu și exprimată în mg acid galic echivalent / g substanță uscată.

Pentru obținerea extractelor complexe din biomasa nativă de *Spirulina* au fost folosite cinci concentrații de etanol în soluțiile hidro – etanolice: de 40%, 50%, 60%, și 70%. A doua condiție variabilă a fost durata extragerii, care a fost de 60 min, 120 min și 180 min. Raportul dintre biomasă și solvenți a fost de 5 mg de biomasă de spirulină la 1 ml soluție hidro - etanolică. Extractele hidro - etanolice au fost obținute în condiții de temperatură constantă și la agitație permanentă. Extractele au fost separate de biomasă prin filtrare și standardizate după reziduul uscat, concentrația finală fiind de 1,0 mg / ml substanță uscată.

Activitatea antioxidantă în extractele hidro - etanolice poate fi urmărită în figura 3.16. Valorile obținute variază de la 32,93 până la 70,88 mg acid galic echivalent / g substanță uscată în dependență de timpul de extragere și concentrația soluției hidro - etanolice. Extractele obținute cu soluție hidro - etanolică de 60 și 70% au o activitate antioxidantă semnificativ mai mare comparativ cu extractele cu concentrația etanolului de 40 și 50%, atunci când durata extracției este de 60 min. La extractele obținute pe durata a 120 min de contact a biomasei cu extractantul diferență semnificativă statistic este doar în extractul de 70% etanol comparativ cu toate celelalte variante.



**Fig.3.16. Activitatea antioxidantă, exprimată în mg acid ascorbic echivalent / g substanță uscată, a extractelor hidro - etanolice din biomasa de *Spirulina platensis* în dependență de concentrația etanolului și timpul de extragere**

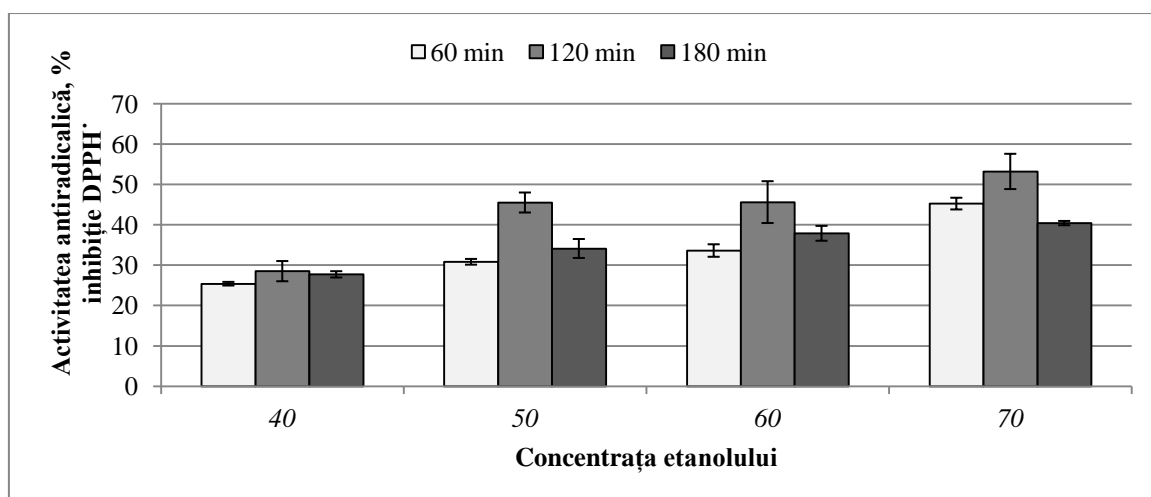
Mărirea timpului de extragere de la 60 la 120 min duce la mărirea activității antioxidante de 1,36 – 1,81 ori în dependență de concentrația etanolului utilizat. Cea mai modestă creștere a



activității antioxidante se observă în cazul extractului hidro – etanolic de 70%, iar cea mai semnificativă – în cazul extractului de 40% etanol. Mărirea timpului de extracție de la 120 la 180 min nu modifică semnificativ activitatea extractelor, creșterea rămânând la nivelul caracteristic pentru extractele obținute în procedura de extragere de 2 ore.

Aplicând aceiași parametri variabili (concentrația soluției hidro – etanolice și timpul de extracție) a fost studiată activitatea antiradicalică a extractelor și biomasa de spirulină. Rezultatele testelor biochimice sunt prezentate în figura 3.17.

Activitatea antiradicalică a extractelor obținute din biomasa de spirulină la extragerea pe durata a 60 de minute se încadrează în limitele de valori de la 25,38 la 45,23% de inhibiție a radicalului DPPH', și crește odată cu concentrația etanolului în soluția hidro – etanolică. Mărirea duratei de extragere până la 120 min duce la o mărire de 1,18-1,47 ori a activității antiradicalice a extractelor obținute, iar creșterea de mai departe a duratei de extragere până la 3 ore duce la o descreștere a acesteia.



**Fig.3.17. Activitatea antiradicalică, exprimată în % de inhibiție a radicalului DPPH', a extractelor hidro-etanolice din biomasa de *Spirulina platensis* în dependență de concentrația etanolului și timpul de extragere**

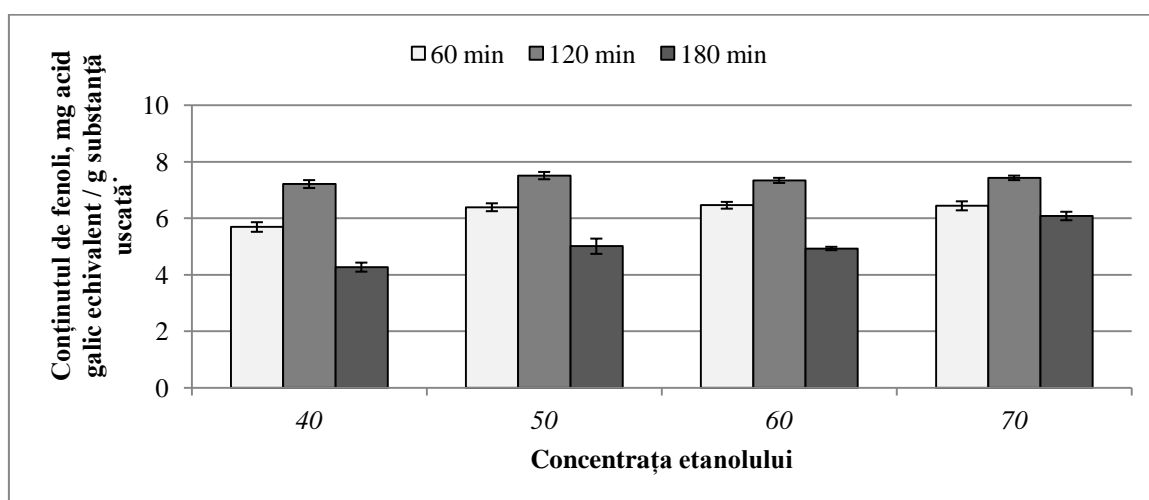
Cea mai înaltă activitate antiradicalică, 53,2% de inhibiție a radicalului DPPH' a fost observată în extractul hidro – etanolic de 70%, cu durata de extragere de 120 min.

Prin utilizarea extragerii hidro - etanolice aplicată în această lucrare se creează condiții de extragere în complex a componentelor hidrosolubile și etanolsolubile, cele mai active fiind compușii fenolici. Pornind de la aceasta ne-am propus să determinăm și conținutul fenolilor în extractele obținute. Rezultatele testelor biochimice sunt expuse în figura 3.18.

Conținutul fenolilor în extractele hidro - etanolicе este determinat mai mult de durata extragerii decât de concentrația etanolului utilizat în extragere. Astfel, în varianta timpului de agitare de 60 min, conținutul fenolilor este de la 5,69 până la 6,46 mg acid galic echivalent / g substanță uscată. În varianta cu durata de extragere de 120 min conținutul fenolilor este mai mare - de la 7,21 până la 7,51 mg a. galic eq/g, iar în varianta cu durata de agitare de 360 min, conținutul fenolilor variază între 4,27 și 6,08 mg a. g. eq/g.

Pentru obținerea unor cantități mai mari de fenoli din biomasa nativă de *Spirulina* durata de agitare de 120 min este optimală (în comparație cu alte variante testate). Astfel, rezultatele obținute arată, că ambii factori variabili studiați - concentrația etanolului și durata extragerii sau durata contactului amestecului extractant cu biomasa de *Spirulina* pot influența activitatea extractelor obținute, și deci trebuie luați în calcul la elaborarea procedeele eficiente de obținerea a extractelor active din spirulină.

În perspectiva utilizării extractelor din biomasa de *Spirulina* în calitate de materie primă pentru elaborarea unor produse curativo – profilactice este important de a observa modificarea în timp a activității extractelor, astfel ca să poată fi luată decizia cu referire la păstrarea extractelor din momentul obținerii și până la includerea lor în produsele respective.



**Fig.3.18. Conținutul de fenoli, exprimată în mg acid galic echivalent / g substanță uscată, în extractele hidro-etanolicе din biomasa de *Spirulina platensis* în dependență de concentrația etanolului și timpul de extragere**

În acest scop extractele au fost păstrate în condiții de frigider – 2-6 °C, iar la intervalele de 14, 30 și 90 de zile au fost efectuate testele biochimice respective.

Rezultatele care reflectă modificarea activității antioxidante a extractelor hidro – etanolicе din spirulină sunt prezentate în tabelul 3.1. Conform rezultatelor obținute în primele 14

zile de păstrare activitatea extractelor scade în mediu cu 14-16%. Cu mărirea perioadei de păstrare a extractelor activitatea antioxidantă continuă să se micșoreze. După 30 zile de păstrare pierderile în activitatea antioxidantă sunt de până la 36%. Cele mai semnificative diminuări ale activității antioxidante sunt caracteristice pentru extractele cu soluții hidro - etanolice de 70% și durata de extragere 120 și 180 minute (cu 34,1 și 36,1% respectiv).

**Tabelul 3.1. Modificarea activității antioxidante în extractele hidro - etanolice din *Spirulina platensis* la păstrare în condiții de frigider**

Nr.	Concentrația etanolului în soluție, %	Timpul de extragere, min		
		60 min	120 min	180 min
<b>Activitatea antioxidantă, mg acid ascorbic echivalent/g substanță uscată</b>				
Imediat după extragere				
1	40	32,93±1,35	59,86±1,55	60,4±2,29
2	50	34,07±0,35	59,99±1,08	58,91±2,8
3	60	40,8±2,51	62,14±1,22	64,6±1,64
4	70	51,8±1,84	70,3±1,03	70,88±1,87
Peste 14 zile				
1	40	29,09 ± 1,12	50,18 ± 0,90	40,27 ± 1,16
2	50	31,65 ± 1,20	50,22 ± 1,26	42,51 ± 1,11
3	60	34,05 ± 1,15	52,15 ± 2,10	46,08 ± 1,23
4	70	45,11 ± 2,32	58,90 ± 1,17	52,77 ± 2,20
Peste 30 zile				
1	40	24,09 ± 1,61	44,18 ± 0,95	32,18 ± 1,08
2	50	28,44 ± 1,33	46,31 ± 1,14	36,16 ± 1,07
3	60	30,12 ± 1,19	48,22 ± 1,68	37,15 ± 1,15
4	70	34,16 ± 1,02	46,32 ± 1,23	45,27 ± 0,98
Peste 90 zile				
1	40	23,57 ± 1,33	44,22 ± 1,46	33,12 ± 2,14
2	50	27,12 ± 1,51	45,28 ± 1,61	33,33 ± 1,32
3	60	30,08 ± 1,42	47,18 ± 0,73	35,04 ± 1,66
4	70	31,36 ± 1,34	45,88 ± 1,16	42,31 ± 2,05

Următorul test de stabilitate a fost efectuat la 90 de zile de la momentul extragerii și a arătat, că tendința de diminuare în timp a activității antioxidante se păstrează, dar timpul procesului se reduce. Astfel, de exemplu, pentru aceleași două extracte analizate mai sus scăderea finală a activității în 90 de zile este de 34,7 și 40,3% respectiv. Din cele expuse putem concluziona, că componentele antioxidante extrase din biomasa de spirulină degradează în timp, ceea ce înrăutățește proprietățile biologice ale acestora.

Și activitatea antiradicalică a extractelor din spirulină sunt supuse degradării în condiții de păstrare la frigider. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 3.2. Pe durata primelor 14 zile de păstrare activitatea antiradicalică a extractelor hidro- etanolice scade cu 5,0 – 22,1%.

**Tabelul 3.2. Modificarea activității antiradicalice în extractele hidro - etanolice din *Spirulina platensis* la păstrare în condiții de frigider**

Nr.	Concentrația etanolului în soluție, %	Timpul de extragere, min		
		60 min	120 min	180 min
<b>Activitatea antiradicalică a extractelor hidro - etanolice, % inhibiție DPPH</b>				
Imediat după extragere				
1	40	25,38±0,45	28,49±2,50	27,70±0,78
2	50	30,81±0,71	45,52±2,48	34,11±2,35
3	60	33,6±1,55	45,60±5,18	37,87±1,84
4	70	45,23±1,45	53,25±4,37	40,46±0,53
Peste 14 zile				
1	40	24,11 ± 0,78	25,18 ± 0,56	23,16 ± 2,12
2	50	26,5 ± 1,12	38,15 ± 2,31	30,22 ± 0,85
3	60	27,15 ± 1,08	36,27 ± 1,54	35,18 ± 1,38
4	70	36,14 ± 1,64	42,16 ± 1,44	31,50 ± 1,82
Peste 30 zile				
1	40	24,09 ± 1,05	23,06 ± 1,23	22,34 ± 1,28
2	50	24,17 ± 1,47	36,22 ± 0,92	27,24 ± 1,64
3	60	25,22 ± 0,74	35,42 ± 1,33	31,16 ± 1,73
4	70	32,11 ± 1,07	39,16 ± 1,51	30,26 ± 1,68
Peste 90 zile				
1	40	23,42 ± 1,25	24,61 ± 2,35	20,30 ± 0,85
2	50	21,56 ± 0,94	33,18 ± 1,72	27,3 ± 2,06
3	60	22,16 ± 1,38	30,18 ± 2,43	29,84 ± 2,04
4	70	27,27 ± 1,52	36,28 ± 0,58	29,15 ± 1,79

Ca și în cazul activității antioxidante, cea mai semnificativă scădere se observă în extractele de 70%, unde reducerea activității antiradicalice este de 20,1 – 22,1%. Păstrarea pe durata a 30 de zile a extractelor în condiții de frigider s-a soldat cu reducerea progresivă a activității antiradicalice, care a atins 29,0% în cazul extractului de 70% obținut la extragere de 60 min. În următoarele 60 zile de păstrare activitatea antiradicalică a extractelor scade lent și atinge valori mai mari, de până la 39,7% (extractul hidro – etanolic de 70% cu durata de extragere de 60 min). Putem menționa, că cele mai mari reduceri în activitatea antiradicalică se observă în extractele obținute cu soluție hidro – etanolică cu un conținut mai înalt al alcoolului. Cele mai

mici valori ale reducerii activității antiradicalice sunt caracteristice pentru extractele de 40% etanol. Astfel, ca și activitatea antioxidantă, capacitatea antiradicalică a extractelor hidro – etanolice din biomasa de spirulină degradează la păstrarea de lungă durată în frigider, iar cele mai importante reduceri au loc pe durata a primelor 14 zile de păstrare.

Rezultatele obținute la stabilitatea componentelor fenolice în extractele din biomasa de spirulină sunt prezentate în tabelul 3.3.

**Tabelul 3.3. Modificarea conținutului de fenoli în extractele hidro - etanolice din *Spirulina platensis* la păstrare în condiții de frigider**

Nr.	Concentrația etanolului în soluție, %	Timpul de extragere, min		
		60 min	120 min	180 min
<i>Conținutul fenolilor în extractele hidro-etanolice, mg acid galic echivalent/g</i>				
Imediat după extragere				
1	40	5,69±0,17	7,21±0,14	4,27±0,16
2	50	6,39±0,14	7,51±0,13	5,01±0,27
3	60	6,46±0,12	7,34±0,09	4,93±0,06
4	70	6,44±0,16	7,43±0,08	6,08±0,15
Peste 14 zile				
1	40	5,22 ± 0,26	7,12 ± 0,31	4,16 ± 0,12
2	50	6,12 ± 0,17	7,24 ± 0,20	4,85 ± 0,55
3	60	6,05 ± 0,31	7,11± 0,18	4,18 ± 0,18
4	70	5,94 ± 0,22	6,95 ± 0,31	5,50 ± 0,21
Peste 30 zile				
1	40	5,09 ± 0,05	6,56 ± 0,23	3,84 ± 0,28
2	50	5,17 ± 0,07	6,72 ± 0,22	4,24 ± 0,10
3	60	5,22 ± 0,24	6,42 ± 0,08	3,56 ± 0,26
4	70	5,11 ± 0,37	6,16 ± 0,19	4,96 ± 0,33
Peste 90 zile				
1	40	4,99 ± 0,25	6,12 ± 0,15	3,60 ± 0,15
2	50	4,86 ± 0,14	6,18 ± 0,12	4,22 ± 0,06
3	60	5,16 ± 0,08	6,28 ± 0,13	3,64 ± 0,14
4	70	5,10 ± 0,26	5,88 ± 0,18	4,65 ± 0,09

Cantitatea de fenoli de asemenea, scade pe durata păstrării. Comparativ cu activitatea antioxidantă și cea antiradicalică, cantitatea de fenoli scade mai puțin în primele 14 zile. Cea mai mare scădere – cu 15,2% a fost observată în extractul de 60% etanol cu durata de 180 min. În majoritatea celorlalte cazuri scăderea este statistic nesemnificativă, sau destul de modestă – cu până la 9,5% (în cazul extractului de 70% etanol, durata 180 min).

După 30 de zile de păstrare conținutul de fenoli scade veridic comparativ cu situația după extragere în toate variantele examinate (cu 10 – 28%), iar peste 90 zile de la extragere situația nu se modifică semnificativ comparativ cu starea extractelor la 30 zile după extragere.

Astfel, chiar dacă cantitatea de fenoli este mai puțin supusă diminuării pe durata păstrării extractelor la frigider, peste 3 luni de păstrare extractele conțin cu 12,3 – 27,7% mai puțin fenoli. Testarea stabilității activității biologice a extractelor din biomasa de spirulină sugerează concluzia, că acestea urmează a fi utilizate proaspăt obținute, sau este necesar de a studia posibilitatea de extindere a perioadei de păstrare a acestora.

Rezultatele obținute în cadrul etapei de extragere și testare a activității extractelor hidro – etanolice din biomasa de spirulină s-a stabilit, că ambele variabile aplicate (concentrația etanolului și durata de extragere) sunt esențiale pentru obținerea produselor calitative în scopul utilizării lor în componența balsamurilor curativo - profilactice.

Pentru a identifica procedeul optimal de obținere a extractelor din biomasa de spirulină, care să fie caracterizat în același timp prin activitate antioxidantă și antiradicalică și printr-un conținut maximal de fenoli am utilizat datele obținute anterior pentru planificarea unor noi experiențe în baza calculului ecuațiilor de regresie în cadrul a celor trei tipuri de activitate dorită.

Cercetarea în acest compartiment a pornit de la realizarea experienței plan factorial deplin cu doi factori, pornind de la nivele minime și maxime ale factorilor variabili. Aceste valori au fost următoarele: pentru experiențele de optimizare a metodei de obținere a extractelor cu activitatea antioxidantă maximală – concentrația de etanol 10 și 65%, timpul de extragere 30 și 120 min; pentru experiențele de optimizare a metodei de obținere a extractelor cu activitatea antiradicalică maximală – concentrația de etanol 10 și 70%, timpul de extragere 40 și 120 min; pentru experiențele de optimizare a metodei de obținere a extractelor cu conținut maximal de fenoli – concentrația de etanol 10 și 70%, timpul de extragere 40 și 120 min.

Pornind de la ecuațiile de regresie obținute au fost efectuate experiențele ”mișcarea pe gradient”, în care conform calculelor a fost stabilit pasul în creștere de la nivelul de bază pentru timpul de extragere și pentru concentrația etanolului. În cazul optimizării în baza activității antioxidante acești pași au fost de 10 min pentru timpul de extragere și 15% pentru concentrația etanolului; în cazul optimizării în baza activității antiradicalice - 10 min pentru timpul de extragere și 12% pentru concentrația etanolului; iar în cazul optimizării în baza conținutului de fenoli - 10 min pentru timpul de extragere și 10% pentru concentrația etanolului.

Variantele analizate și rezultatele obținute pot fi urmărite în tabelul 3.4. Din analiza tabelului putem constata că variantele optimale sunt următoarele: procedura de obținere a extractului cu cea mai înaltă activitate antioxidantă din biomasa de *Spirulina* implică utilizarea

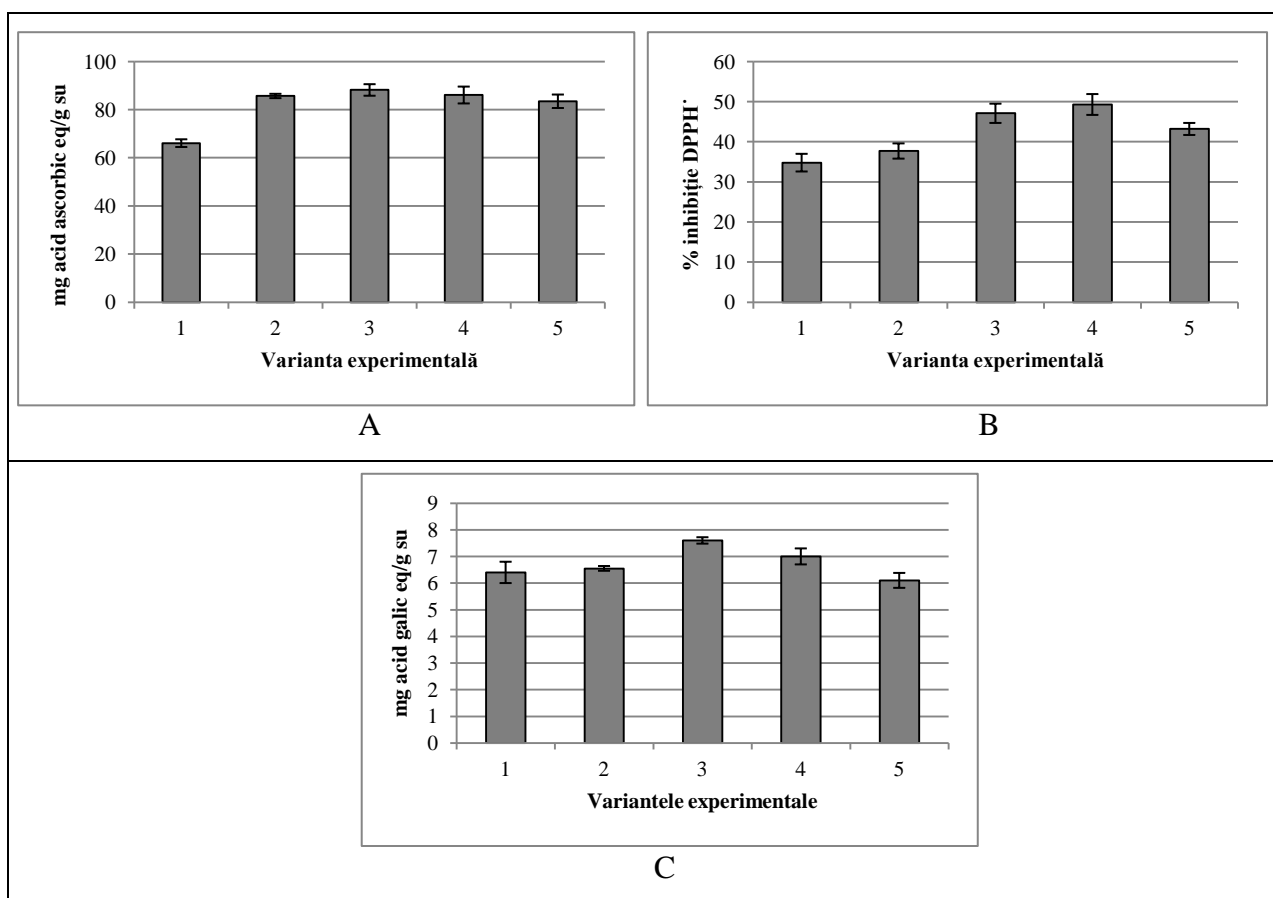
soluției hidro – etanolice de 70%, durata contactului soluției cu biomasa nativă fiind de 90 min. În această experiență a fost depistat cel mai înalt nivel al activității antioxidante - 87,14 mg acid ascorbic echivalent /g. În cazul identificării procedurii de obținere a extractului cu cea mai înaltă activitate antiradicalică, a fost evidențiată varianta ce implică utilizarea soluției hidro – etanolice de 76%, durata contactului soluției cu biomasa nativă fiind de 100 min. În această experiență a fost depistat cel mai înalt nivel al activității antiradicalice - 48,5% inhibiție a radicalului DPPH\*. Rezultatele obținute au permis de a selecta în calitate de variantă optimă de obținere a extractului cu conținut maxim de fenoli a procedurii ce implică extragerea cu soluție de alcool etilic 70% și durata contactului soluției extractive cu biomasa nativă de 100 min. În această experiență a fost depistat cel mai înalt nivel al conținutului de fenoli de 7,41 mg acid galic echivalent /g.

**Tabelul 3.4. Planul și rezultatele optimizărilor procedurii de extragere a principiilor bioactive din biomasa de spirulină**

Parametru de optimizare, unitatea de măsură a rezultatului	Ecuția de regresie	Caracteristicile variantelor			Rezultatul
		Nr.	Concentrația de etanol, %	Timpul de extragere, min	
Activitatea antioxidantă, mg acid ascorbic echivalent/g substanță uscată	$Y=0,1825+0,0268*X_1+0,0695*X_2+0,0113*X_1X_2$	1	40	70	56,15±0,28
		2	55	80	75,73±2,06
		3	70	90	87,14±1,88
		4	85	100	76,16±1,34
		5	96	110	73,54±0,95
Activitatea antiradicalică, % Inhibiție a DPPH	$Y= 26,75 + 0,94*X_1+1,73*X_2 + 0,09*X_1 X_2$	1	40	70	25,80±1,76
		2	52	80	30,75±1,58
		3	64	90	37,18±0,84
		4	76	100	48,51±1,12
		5	88	110	43,27±0,64
Cantitatea de fenoli, mg acid galic echivalent / g substanță uscată	$Y= 6,205 + 0,31*X_1+0,2495*X_2 + 0,2125*X_1 X_2$	1	40	70	5,65±0,16
		2	50	80	6,36±0,09
		3	60	90	6,67±0,22
		4	70	100	7,41±0,12
		5	80	110	6,92±0,06
		6	90	120	6,65±0,14

Deoarece, cu referire la acest compartiment al lucrării, scopul nostru a constat în evidențierea unei soluții unice pentru obținerea unui extract cu activitatea înaltă din spirulină, s-a decis de a merge pe o extracție unică, iar pentru stabilirea valorii variabilelor a fost realizată o experiență cu 5 variante de extracție (pasul experienței pentru concentrația de etanol a fost de 15%, iar pentru timpul de extragere – 10 min). Astfel, variantele testate au fost următoarele: 40%

etanol - 70 minute; 55% etanol - 80 min; 70% etanol - 90 min; 85% etanol - 100 min; 96% etanol - 110 min. Rezultatele pentru cele trei teste sunt prezentate în figura 3.19.



**Fig. 3.19 Activitatea extractelor din spirulină în condiții de variere a concentrației soluției hidro-etanolice și a timpului de extragere.**

**A. Activitatea antioxidantă, B. Activitatea antiradicalică, C. Conținutul de fenoli.**

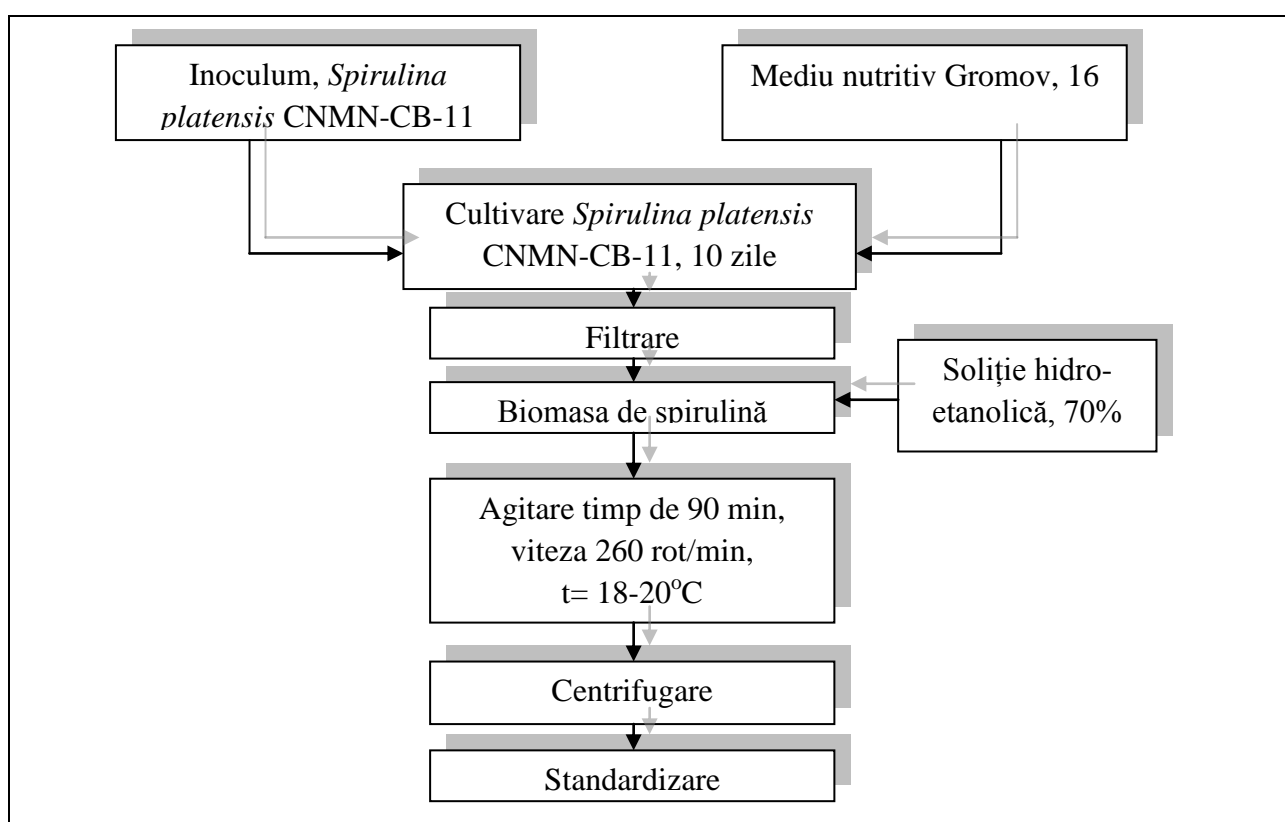
**Variante experimentale: 1. 40% etanol - 70 minute; 2. 55% etanol - 80 min; 3 70% etanol - 90 min; 4. 85% etanol - 100 min; 5. 96% etanol - 110 min**

Cel mai înalt nivel al activității antioxidante în extractele obținute a fost de 88,2 mg acid ascorbic echivalent /g de substanță uscată. Acesta se obține în condițiile unei extrageri cu soluție hidro-etanolică de 70% timp de 90 min. În aceleași condiții experimentale se obține și cel mai înalt nivel al activității antiradicalice – 49,3% inhibiție a radicalului DPPH<sup>•</sup> și cel mai înalt nivel al fenolilor în extract -7,6 mg acid galic echivalent/ g de substanță uscată.

Astfel investigațiile au soldat cu elaborarea unui procedeu de obținere a extractului din spirulină cu proprietăți antioxidante și antiradicalice performante și cu conținut înalt de fenoli. Consecutivitatea operațiilor ce constituie acest procedeu pot fi urmărită pe figura 3.20.



Procedeu se realizează în următorul mod: Se prepară mediul nutritiv pentru creșterea tulpinii cianobacteriei *Spirulina platensis* CNMN-CB-02. Paralel se prepară inoculumul de spirulină. În calitate de inoculum servește cultura cianobacteriană cu vârsta de 7 zile. În mediul proaspăt preparat se inoculează spirulina, astfel, ca cantitatea de biomasă recalculată la masă absolut uscată să fie de 0,4 g/l. Spirulina se cultivă în condiții standard, păstrând un pH în limite de 8 – 10, temperatura fiind menținută la nivelul de 28-30°C. Procesul de creștere a biomasei durează 10 zile. La finele etapei de creștere biomasa se separă de mediul nutritiv prin filtrare în vid. Paralel se prepară soluția hidro – etanolică pentru extragere. La biomasa obținută se adaugă soluția hidro – etanolică de 70%.



**Fig.3.20. Procedeu de obținere a extractului activ din biomasa de spirulină**

Cantitatea de soluție hidro - etanolică este calculată în dependență de cantitatea de biomasă, astfel, ca pentru 1 g de biomasă (recalcul la biomasă absolut uscată) să se utilizeze 20 ml soluție. Vasele cu spirulina în extractant, închise etanș pentru a evita evaporarea, se plasează pe un agitator orbital setat la viteza de 260 rot/min și se agită timp de 90 min. Pe durata extragerii se menține o temperatură de 18-20°C. Peste 90 min extractul se separă de reziduu de biomasă prin centrifugare la 5000g timp de 10 min. Extractul se standardizează după masă și se

verifică cei trei parametri de activitate (activitate antioxidantă, activitate antiradicalică și conținut de fenoli).

### 3.3. Concluzii la capitolul 3

1. Extractele vegetale cu cea mai înaltă activitate antioxidantă totală se obțin la aplicarea soluțiilor hidro – etanolice cu concentrația de 50 și 60%, iar concentrația de 50% poate fi consideră drept optimală atât din punct de vedere economic, cât și din punct de vedere al calității viitoarelor produse.
2. Odată cu mărirea timpului de contact al soluției hidro – etanolice cu biomasa vegetală crește semnificativ activitatea extractelor din plante.
3. Aplicarea macerării triple pentru extragerea componentelor antioxidante din materia primă vegetală asigură obținerea extractelor cu cea mai înaltă capacitate de reducere a radicalilor  $ABTS^{\cdot+}$  și  $NO^{\cdot}$  [177, 202].
4. Activitatea antioxidantă a maceratului triplu din amestecul de componente vegetale depășește de cel puțin 13 ori activitatea maceratelor obținute din componentele individuale și este mai mare decât o sumă simplă a activităților acestora, ceea ce demonstrează sinergismul componentelor maceratului obținut din mix [177].
5. Activitatea antioxidantă și conținutul de fenoli în extractele hidro – etanolice din biomasa de spirulină crește odată cu mărirea concentrației etanolului până la 70% și a timpului de extragere până la 120 min [178, 190].
6. Activitatea antioxidantă a extractelor din biomasa de spirulină scade pe durata păstrării timp de 3 luni cu până la 40% față de nivelul inițial. Cea mai mare pierdere a activității are loc pe durata primelor 14 zile după extragere.
7. Extragerea hidro – etanolică cu alcool de 70% timp de 90 min asigură obținerea unui extract cu activitate antioxidantă și antiradicalică înaltă și cu conținut semnificativ de fenoli.

## **4. ELABORAREA TEHNOLOGIILOR DE FABRICARE A PRODUSELOR CURATIVO-PROFILACTICE NOI**

Printre produsele curativo – profilactice din materii prime vegetale balsamurile sunt unele dintre cele mai eficiente. Denumirea acestui grup de băuturi provine de la cuvântul grecesc *balsamos* – ceea ce în traducere înseamnă *remediu medicamentos*. În calitate de produse curativo - profilactice balsamurile se recomandă în tratamentul și profilaxia gastritei, ulcerului peptic și duodenal, dischineziei, indigestiei ș.a. Majoritatea balsamurilor includ componente cu proprietăți antioxidante, imunomodulatoare și radioprotectoare. Gustul balsamului seamănă cu gustul unui medicament, dar, în același timp, componentele balsamului nu ies în evidență, ci se completează reciproc. Balsamurile clasice au tăria între 40 și 45 grade și includ de la 10 până la 40 de componente, uneori chiar mai mult. Tehnologia de producere a oricărui balsam este complexă și constă din mai multe etape destul de lungi ca durată de realizare. Datorită unei astfel de complexități de fabricație, majoritatea balsamurilor sunt produse în cantități mici și într-un sortiment relativ sărac în comparație cu alte tipuri de băuturi alcoolice. Rețetele balsamurilor se țin în secret, iar consumatorul are acces doar la listă de ingrediente. În același timp, balsamurile clasice capătă o popularitate tot mai mare, datorită efectului lor tonic excelent și eficienței în caz de suprasolicitare și epuizare generală a organismului, precum și în caz de stres fizic și mental puternic. Eficiența înaltă, cererea pe piață și propunerea insuficientă, existentă la moment face ca elaborarea de noi rețete și tehnologii originale de producere a balsamurilor să fie de perspectivă atât în spațiul european, cât și în cel mondial.

### **4.1. Elaborarea rețetelor balsamurilor curativo-profilactice noi**

În baza studiului bibliografic realizat și a rezultatelor proprii obținute în procesul de testare a diferitor materiale vegetale, au fost elaborate 6 rețete noi pentru fabricația a 5 balsamuri curativo - profilactice în bază de materie primă vegetală, cu numele comun Făt-Frumos și unul din materie vegetală și spirulină, numit Spirupotent (mărci comerciale înregistrate de autor).

Elementele principale ale noilor rețete sunt componentele vegetale de bază. În 5 dintre cele 6 balsamuri noi (Spirupotent, și 4 din grupul Făt – Frumos - B\_1368, B\_1369, B\_1370, B\_1377) au fost folosite aceleași componente de bază, și anume rădăcina de lemn dulce, rizomul de obligeană, partea aeriană de sunătoare, partea aeriană de sovârv, frunzele de izmă bună, partea aeriană de coada șoricelului, mugurii de pin, iar pentru balsamul B\_1378 - rădăcina de lemn dulce, partea aeriană de sovârv, frunze de izmă bună și muguri de pin.

În cazul balsamului Spirupotent în calitate de componente suplimentare au fost utilizate următoarele componente: flori de salcâm, rizom și partea aeriană de țelină, rădăcină și parte aeriană de pătrunjel, coji și septuri de nucă, semințe de struguri și extract standardizat din spirulină. Ultimele trei componente nu sunt supuse macerării, iar în componența balsamurilor se utilizează extractele de la producător, ori preparate prin extragere hidro - etanolică simplă, conform prescripțiilor specifice.

Activitatea maceratelor individuale din fiecare materie primă, activitatea maceratelor din mixul de componente de bază, mixul din componente suplimentare, precum și activitatea maceratului din mixul comun pentru noul balsam Spirupotent sunt prezentate în tabelul 4.1.

**Tabelul 4.1. Activitatea antioxidantă a maceratelor triple din componentele balsamului Spirupotent**

Componenta	Activitatea antioxidantă	
	Capacitatea de reducere a ABTS <sup>+</sup> , μg Trolox echivalent/ml	Capacitatea de reducere a NO, % inhibiție
Mixul comun	2600±39	71,2±3,18
Mixul de bază	1220±51	65,6±1,69
Mixul suplimentar	1060±47	59,8±2,76
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	30,4±1,42	33,2±0,64
<i>Achillea millefolium</i>	56,9±1,38	42,3±0,89
<i>Pinus sylvestris</i>	75,4±2,53	39,2±1,02
<i>Origanum vulgare</i>	29,8±1,32	30,4±1,20
<i>Acorus calamus</i>	90,5±2,62	39,2±0,45
<i>Mentha piperita</i>	52,4±1,06	31,4±1,12
<i>Hypericum perforatum</i>	80,30,97	37,9±1,21
<i>Petroselinum crispum</i> (rădăcină)	30,1±0,56	29,6±1,03
<i>Petroselinum crispum</i> (frunze)	64,7±1,38	49,5±0,88
<i>Robinia pseudoacacia</i>	60,2±1,44	37,2±2,13
<i>Apium graveolens</i>	33,0±1,04	29,6±0,79
<i>Spirulina platensis</i>	88,2±2,4	43,0±0,4

Balsamul Spirupotent este un balsam conceput ca produs cu efect afrodisiac, de aceea s-a ținut cont de activitatea antioxidantă totală nespecifică, cât și de cea specifică (capacitatea de inhibiție a radicalului oxidului nitric), care are importanță în disfuncțiile sexuale (vezi capitolul 3). Am menționat anterior, că activitatea maceratului din mixul din componentele de bază depășește considerabil activitatea maceratelor din fiecare materie vegetală separată. Același lucru se observă și în cazul componentelor suplimentare. Cea mai înaltă activitate printre componentele individuale o are maceratul din partea aeriană din pătrunjel (64,7 μg Trolox echivalent / ml macerat), pe când activitatea maceratului din mixul componentelor vegetale suplimentare este de 1060 μg Trolox echivalent / ml. Mai mult ca atât, maceratul din mixul

vegetal comun, format din toate componentele balsamului, din care se obține maceratul, depășește după activitatea antioxidantă atât maceratul din componentele de bază, cât și pe cel din componentele suplimentare. Astfel, activitatea antioxidantă a maceratului din mixul comun al componentelor balsamului Spirupotent este de 2600  $\mu\text{g}$  Trolox echivalent / ml, iar activitatea antioxidantă specifică constituie 71,2% inhibiție a radicalului NO.

Aceleași tendințe se observă și cazul celorlalte balsamuri. Balsamul B\_1369 nu conține componente vegetale suplimentare, care să fie supuse macerării, iar balsamul B\_1370 conține semințe de amarant. Extractul din cânepă, care este inclus în acest balsam este procurat de la producător. Balsamurile B\_1377 și B\_1378 conțin următoarele componente vegetale suplimentare: semințe de amarant, partea aeriană de imortele, mentă decorativă, salvie și flori de salcâm. Aceste balsamuri de asemenea includ extract din cânepă, procurat gata de la producător.

Activitatea maceratelor individuale din fiecare materie primă, activitatea maceratelor din mixul de componente de bază și mixul din componente suplimentare, precum și activitatea maceratului din mixul comun pentru balsamurile noi sunt prezentate în tabelul 4.2.

**Tabelul 4.2. Activitatea antioxidantă a maceratelor triple din componentele balsamurilor\***

Componenta testată	Activitatea antioxidantă, $\mu\text{g}$ Trolox echivalent / ml
Balsamul B_1368	
Mixul comun	2230 $\pm$ 62
Mixul de bază	1220 $\pm$ 51
Mixul suplimentar	630 $\pm$ 18
<i>Helichrysum italicum</i>	49,2 $\pm$ 1,44
<i>Monarda citriodora</i>	49,6 $\pm$ 1,32
<i>Salvia officinalis</i>	89,3 $\pm$ 1,12
Balsamul B_1370	
Mixul comun	1860 $\pm$ 35
Mixul de bază	1220 $\pm$ 51
Mixul suplimentar	51,0 $\pm$ 1,42
<i>Amaranthus caudatus</i>	51,0 $\pm$ 1,42
Balsamul B_1377	
Mixul comun	2750 $\pm$ 53
Mixul de bază	1220 $\pm$ 51
Mixul suplimentar	1320 $\pm$ 28
Balsamul B_1378	
Mixul comun	2490 $\pm$ 46
Mixul de bază	675 $\pm$ 18
Mixul suplimentar	1320 $\pm$ 28

\* În tabel sunt incluse doar acele componente individuale, care nu se regăsesc în tabelul 4.1. Balsamul B-1370 nu este inclus în tabel, deoarece nu conține ingrediente vegetale suplimentare.

Din datele prezentate în tabelele 4.1. și 4.2 putem concluziona, că în dependență ce natura materiei vegetale individuale și a compoziției mixurilor din balsamurile noi activitatea

antioxidantă a mixurilor comune este diferită, dar caracterizată prin valori înalte. Pentru 5 din 6 balsamuri noi activitatea antioxidantă a maceratului comun se încadrează între 1860 și 2750  $\mu\text{g}$  Trolox echivalent / ml. Activitatea maceratului mixului comun din componența balsamului B\_1369 este echivalent cu activitatea maceratului din componentele de bază, deoarece acest balsam nu conține componente vegetale suplimentare. Ca rezultat al studiului complex realizat, au fost propuse rețetele a 6 balsamuri noi, care pot fi văzute în tabelul 4.3.

**Tabelul 4.3. Componența noilor balsamuri curativo –profilactice**

Componențele balsamului	Balsamul					
	Spirupotent	Făt –Frumos				
		B_1368	B_1369	B_1370	B_1377	B_1378
g/L						
Rădăcină de lemn dulce	1,5-2,5	3,5-4,5	3,5-4,5	3,5-4,5	3,5-4,5	3,5-4,5
Rizom de obligeană	0,10-0,16	0,10-0,16	0,10-0,16	0,10-0,16	0,10-0,16	
Parte aeriană de sunătoare	0,6-0,7	0,6-0,7	0,6-0,7	0,6-0,7	0,6-0,7	
Partea aeriană de sovârv	0,49-0,55	0,49-0,55	0,49-0,55	0,49-0,55	0,49-0,55	0,49-0,55
Frunze de izmă bună	0,78-0,84	0,78-0,84	0,78-0,84	0,78-0,84	0,78-0,84	0,78-0,84
Partea aeriană de coada șoricelului	0,70-0,80	0,70-0,80	0,70-0,80	0,70-0,80	0,70-0,80	
Muguri de pin	0,8-1,2	0,8-1,2	0,8-1,2	0,8-1,2	0,8-1,2	0,8-1,2
Semințe de amarant				1,5-2,5	1,5-2,5	1,5-2,5
Extract din Cânepă				1,5-2,5	1,5-2,5	1,5-2,5
Partea aeriană de imortele		1,5-2,5			1,5-2,5	1,5-2,5
Mentă decorativă		1,5-2,5			1,5-2,5	1,5-2,5
Salvie		1,5-2,5			1,5-2,5	1,5-2,5
Flori de salcâm	1,5-2,5					
Rizomi și partea aeriană țelină	4,5-5,5					
Rădăcină și frunze de pătrunjel	1,5-2,5					
Caramelă		8,5-11,5	8,5-11,5	8,5-11,5	8,5-11,5	8,5-11,5
Acid citric		0,07-0,11	0,07-0,11	0,07-0,11	0,07-0,11	0,07-0,11
Vanilină		0,21-0,29	0,21-0,29	0,21-0,29	0,21-0,29	0,21-0,29
Dihidroguercetină			1,2			
Lecitină			1			
Glicină			30			
ml/L						
Coji și septuri de nuci, extract 10 mg/ml	0,05-0,1					
Semințe de struguri, extract 0,05 mg/l	1,5-2,5					
Vin roșu	300-400	300-400	300-400	300-400	300-400	300-400
Alcool etilic	285-289	285-289	285-289	285-289	285-289	285-289
Spirulina platensis, extract 20 mg/ml	0,05-0,1					

Rețetele noilor balsamuri includ componente vegetale valoroase, care acționează în mod sinergic, ceea ce asigură o activitate antioxidantă net superioară a maceratelor din amestecurile de componente, comparativ cu activitatea extractelor și maceratelor din fiecare materie vegetală în parte. Aplicarea în practică a acestor rețete în cadrul tehnologiilor de fabricație vor asigura obținerea unor produse noi curativo – profilactice cu proprietăți antioxidante remarcabile.

#### **4.2. Elaborarea tehnologiei de fabricație a noilor balsamuri curativo-profilactice**

Tehnologia producerii balsamurilor întotdeauna a fost obiectul protecției secretului tehnologic. Acestea nu numai că sunt destul de complicate, dar mai sunt și ținute în secret de către producători, astfel, că adesea, pot fi pierdute, chiar irecuperabil uneori, ceea ce s-a întâmplat de mai multe ori de-a lungul istoriei. Actualmente, cerințele înaintate față de produsele de uz uman sunt foarte stricte, astfel ca acestea din urmă să prezinte un grad maxim de siguranță pentru consumator. De aceea și procesele tehnologice, care asigură obținerea diferitor elemente compoziționale și a produsului finit sunt bine puse la punct și descrise minuțios și transparente pentru verificare de către organele abilitate.

Tehnologiile de obținere a noilor balsamuri elaborate în cadrul acestei lucrări includ toate etapele de producere, începând cu prelucrarea materiei prime vegetale și terminând cu depozitarea produsului finit. Produsele finite ale acestor tehnologii - balsamurile noi - reprezintă lichide transparente de culoare roșie-brună, cu miros specific și gust amar-dulciu. La depozitare produsele pot forma sedimente, fapt ce nu influențează calitatea produsului. Balsamurile sunt este îmbuteliate în recipiente din sticlă sau masă plastică întunecată, închise etanș cu capace din polietilenă, a câte 100 ml, 200 ml, 250 ml și 500 ml. Se păstrează la temperatura sub 25°C în ambalaj original, astfel ca conținutul să fie protejat de lumină și umiditate.

La elaborarea tehnologiilor de producere a noilor produse curativo – profilactice s-a ținut cont de activitatea specifică a ingredientelor, astfel, ca produsul finit să fie caracterizat prin activitate biologică maximală. În continuare sunt descrise tehnologiile de producere a celor 6 balsamuri noi și rezultatele testelor în punctele critice ale procesului tehnologic, care demonstrează corectitudinea aplicării diferitor elemente ale fluxului de producere. Atingerea scopului final al acestor tehnologii – obținerea produselor cu proprietăți organoleptice valoroase și cu activitatea biologică înaltă - este demonstrată, de rând cu alte caracteristici importante, prin valorile înalte ale activității antioxidante a balsamurilor și păstrarea nivelului de activitate pe durata fluxului tehnologic.

#### **4.2.1. Tehnologie de producere a balsamului Spirupotent**

Pentru varianta experimentală a balsamului curativo-profilactic cu activitate antioxidantă înaltă și efect afrodisiac, conform rețetei elaborate, au fost selectate următoarele cantități de mase vegetale luate pentru prepararea maceratului (la un litru de balsam): rădăcini de lemn-dulce (*Glycyrrhiza glabra L.*) 2,00g , rizomi de obligeană (*Acorus calamus L.*) 0,13 g, părți aeriene de sunătoare (*Hypericum perforatum L.*) 0,65 g, părți aeriene de sovârf (*Origanum vulgare L.*) 0,52 g, frunze de izmă bună (*Mentha piperita L.*) 0,81g, părți aeriene de coada-șoricelului (*Achillea millefolium L.*) 0,75g, muguri de pin (*Pinus silvestris L.*) 1,00 g, flori de salcâm (*Robinia pseudoacacia L.*) 2,00g, rizomi cu părți aeriene de țelină (*Apium graveolensL*) 5,00 g, rădăcini cu părți aeriene de pătrunjel (*Petroselinum crispum*) 2,00 g. Afară de aceasta balsamul mai conține extract din spirulină cu concentrația de 20 mg/ml, extract din coji și septuri de nuci cu concentrația de 10 mg/ml, extract din semințe de struguri cu concentrația de 0,05 mg/l, vin roșu de desert tratat, alcool etilic.

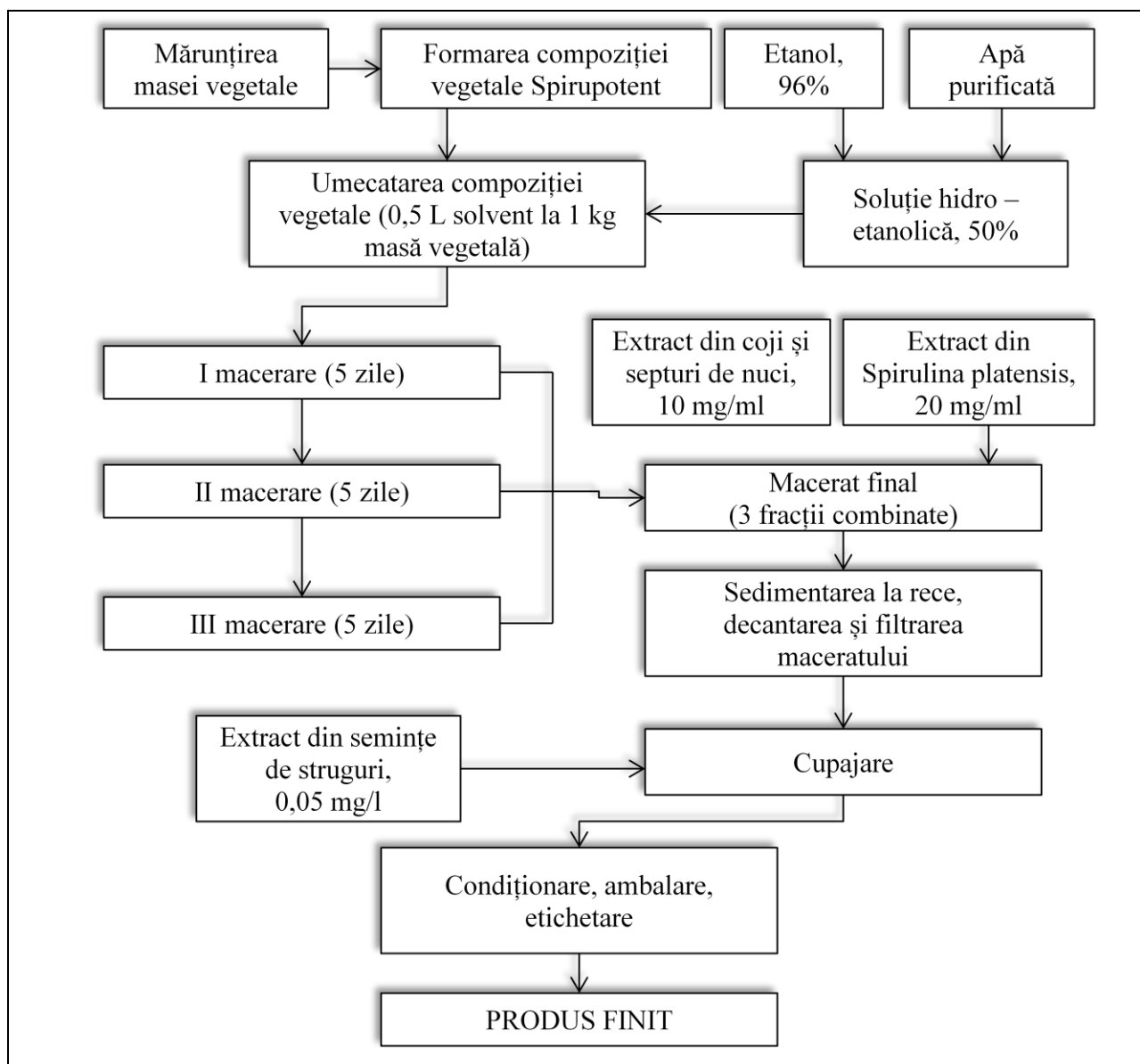
Procesul tehnologic de fabricație este prezentat în figura 4.1.

Prima etapă de fabricație include prepararea amestecului de plante și a soluției hidro etanolice. Produsul vegetal este fragmentat până la dimensiunea particulelor, ce trec prin sita cu mărimea ochiurilor de 7 mm. Amestecul vegetal constă din masele proporționale (conform rețetei) de rădăcină de lemn dulce; părți aeriene de sunătoare; sovârv și coada-șoricelului; rădăcini de obligeană; frunze de izmă bună; muguri de pin; strugure de viță de vie (semințe și tescovină din boabe de struguri); flori de salcâm; rizomi cu părți aeriene de țelină; rădăcini cu părți aeriene de pătrunjel și coji de nuci. Soluția hidro - etanolică de 50% se prepară prin dizolvarea alcoolului etilic de 96.1-96.7% cu apă purificată.

Amestecul vegetal se trece în vasul de macerare, iar peste el se toarnă soluția hidro etanolică. Se utilizează aproximativ 400-600 g de solvent la 1 kg produs vegetal. Se lasă la umectat 2-4 ore în sistem închis pentru a evita evaporarea solventului. Amestecul umectat se trece în percolator. Peste el se toarnă soluția hidro - etanolică astfel, ca masa vegetală să fie sub nivelul solventului cu 30-40 mm. Percolatorul se închide și se lasă la macerare pentru 5 zile. Peste 5 zile se scurge aproximativ o jumătate din conținutul percolatorului. Volumul extras se înlocuiește cu soluție hidro - etanolică. Din nou se lasă la macerare timp de 5 zile, apoi se scurge jumătate din volum. Se adaugă soluție hidro - etanolică astfel, ca să completeze volumul amestecului la cel inițial și din nou se lasă la macerat pentru 5 zile. În final se extrage tot extractul din percolator. În total 3 fracții care se întrunesc. În scop de cercetare, în fiecare dintre aceste fracții a fost determinată valoarea activității antioxidante și capacitatea de reducere a



radicalului oxidului nitric (rezultatele sunt prezentate în tabelul 4.4). În producere asupra fracțiilor obținute nu se intervine.



**Fig. 4.1. Procesul tehnologic de producere industrială a balsamului Spirupotent cu efect afrodisiac**

Cele trei fracții se amestecă și se trec în vasul de sedimentare. Vasul de sedimentare cu extract se trece la frigider și se lasă în repaus la temperatura de 5-8°C timp de 24-48 ore. În producere, la expirarea termenului stabilit se ia proba pentru controlul calității și după rezultatul pozitiv produsul extractiv se decantează și se filtrează. În scop de cercetare la această etapă s-au preluat probe de extract după sedimentare în care s-a determinat activitatea antioxidantă și capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric (rezultatele sunt prezentate în tabelul 4.4).

În reactor cu ajutorul pompei se trece vinul roși tratat, extractul din spirulină, extractul hidro - alcoolic din produsele vegetale, etanolul și apa purificată în cantități specificate în rețetă. După acestea toate componentele se amestecă timp de 3 ore.

Balsamul obținut se filtrează prin filtru cu plăci. Presiunea în timpul filtrării nu trebuie să depășească 2,5 kg/cm<sup>2</sup>. După filtrare din nou au fost efectuate testele de determinare a activității antioxidante și a capacității de reducere a oxidului nitric.

Rezultatele obținute demonstrează o capacitate înaltă a produsului finit – balsamul ”Spirupotent” de a reduce radicalul cation ABTS<sup>+</sup> și radicalul oxidului nitric. Este important de menționat că tehnologia de producere a balsamului asigură o combinație a componentelor, care se caracterizează prin sinergism a componentelor față de radicalii testați. Astfel, activitatea antioxidantă a extractului combinat din 3 macerări ulterioare este mai mare decât valoarea teoretică așteptată din rezultatul simplei cumulări a activității celor 3 extracte din macerările individuale. La fel și produsul finit are o activitate antioxidantă mai înaltă decât componentele care formează cupajul final – vinul, extractul de spirulină și extractul combinat din materia primă vegetală. De asemenea, valorile obținute sunt mai mari decât valoarea teoretică așteptată din simpla cumulare a efectelor componentelor.

**Tabelul 4.4. Capacitatea de reducere a radicalilor ABTS<sup>+</sup> și NO<sup>•</sup> a componentelor balsamului ”Spirupotent” la diferite etape ale fluxului tehnologic**

Componenta balsamului	Etapa fluxului tehnologic	Activitatea antioxidantă	
		Capacitatea de reducere a ABTS <sup>+</sup> μg Trolox echivalent/ml	Capacitatea de reducere a NO <sup>•</sup> % inhibiție
Macerat	I macerare	968±44	62,5±1,8
	II macerare	549±24	44,8±0,9
	III macerare	360±27	40,6±2,5
Extract combinat	După unirea celor 3 fracții	1220±43	65,2±0,9
<i>Spirulina platensis</i> (extract 20 mg/ml)	Până la adăugare	88,2±2,4	43,0±0,4
<i>Juglans regia</i> (extract 10 mg/ml)	Până la adăugare	98,4±1,79	28,6±1,28
<i>Vitis vinifera</i> (extract 0,05 mg/l)	Până la adăugare	125,6±4,85	41,6±2,11
Vin roșu	Până la adăugare	1644±51	82,5±2,0
Balsam ”Spirupotent”	Produs finit	5678±62	94,4±1,7

Balsamul curativo-profilactic "Spirupotent" cu efect afrodisiac are o compoziție echilibrată, cu o activitate antioxidantă performantă. Etapele fluxului tehnologic de producere a balsamului asigură manifestarea efectului sinergic al componentelor cu capacitate de reducere a radicalilor liberi. Efectele benefice ale balsamului în disfuncțiile erectile sunt asigurate în mare măsură de activitatea antioxidantă a balsamului, în special de capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric, implicarea căruia în aceste patologii este demonstrată.

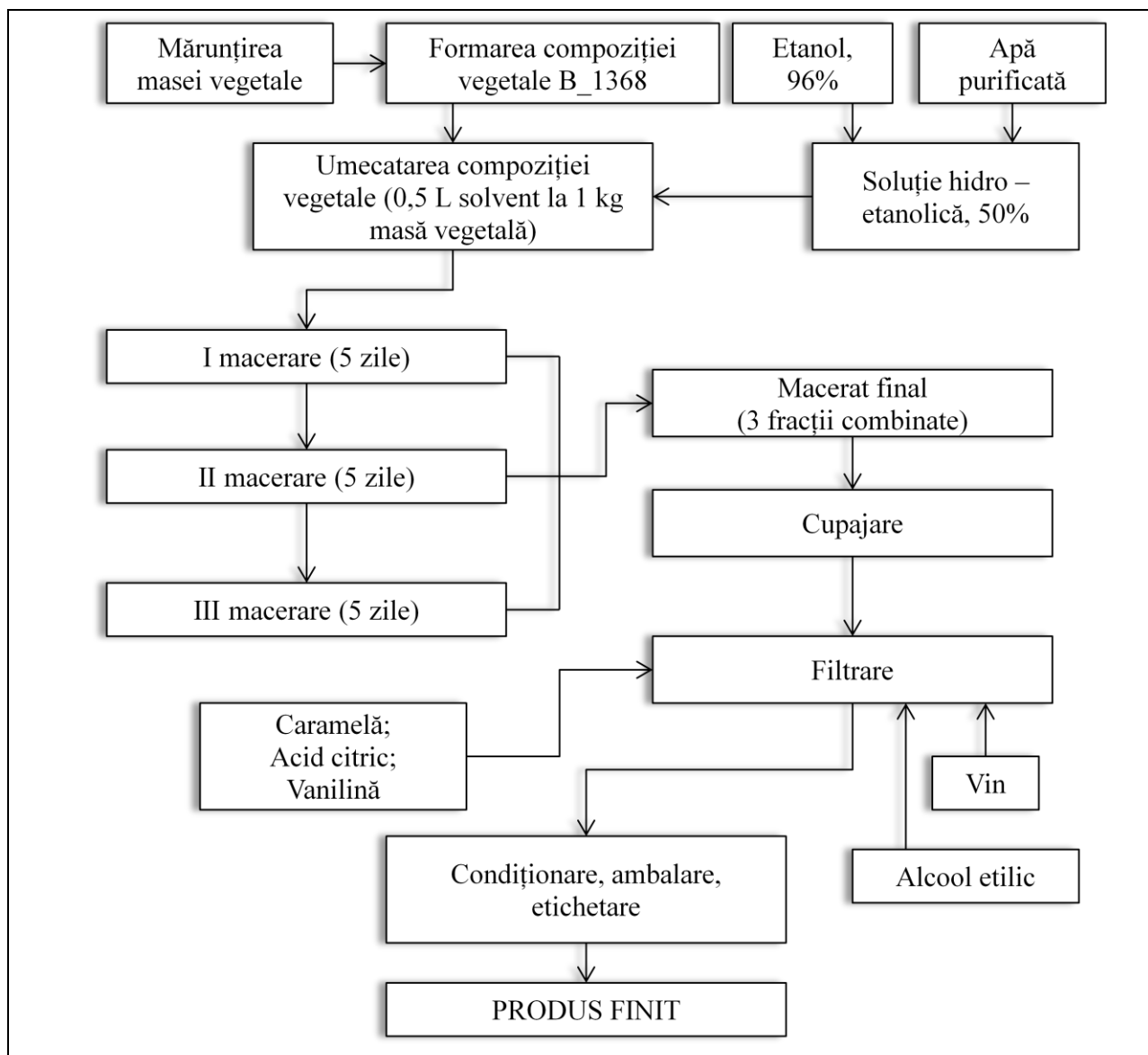
#### ***4.2.2. Tehnologia de producere a balsamului B\_1368***

Balsamul B\_1368 a fost elaborat în calitate de produs cu proprietăți imunomodulatoare și de detoxifiere generală a organismului. Pentru varianta experimentală a acestui balsam, conform rețetei (tabelul 4.3) au fost selectate următoarele cantități individuale ale componentelor (pentru obținerea a 1000 ml balsam): rădăcina de lemn dulce 4,0 g , rizomi de obligeana 0,15 g, partea aeriana de sunătoare 0,65 g , partea aeriana de sovârv 0,5 g, frunze de izma bună 0,80 g, partea aeriana de coada - șoricelului 0,75 g, muguri de pin 1,0 g, partea aeriana de imortele 2,0 g, menta decorative 2,0 g, partea aeriana de salvie 2,0 g, vin roșu de desert cu tăria de 16% vol. 300 ml, alcool etilic de 96% 289 ml, caramelă 10,0 g, acid citric 0,10 g, vanilină 0,25 g și apă purificată până la 1000 ml.

Maceratul din materie primă vegetală se obține prin macerarea triplă a materiei prime vegetale mărunțite. În calitate de solvent la macerare se utilizează soluție hidro - alcoolică în raport de o parte de masă vegetală la 3 părți de solvent. Prima macerare se efectuează pe durata a 5 zile cu soluție hidro – etanolică, ce conține 50% etanol, după care extractul se scurge. Materia prima vegetală care a rămas se macerează din nou. Cea de-a doua macerare se efectuează, de asemenea, cu soluție hidro – etanolică de 50% în decurs de 5 zile cu scurgerea ulterioară a extractului. Materia primă vegetală care a rămas se macerează repetat. Macerarea a treia se efectuează cu soluție hidro - alcoolică de 50% timp de 5 zile cu scurgerea ulterioară a extractului. Maceratele de la prima, a doua și a treia procedură se unesc într-un vas de cupajare și se mențin în decurs de 3 zile. Cupajul obținut se amestecă două zile, apoi se filtrează. După care, în cupajul filtrat se adaugă 300 ml de vin roșu de desert cu tăria de 16%, la toate aceste ingrediente se adaugă 289 ml de alcool etilic de 96%, caramelă 10 g, acid citric 0,1 g, vanilină 0,25 g. Se completează cu apă purificată până la 1000 ml.

Balsamul obținut posedă o tărie de  $42 \pm 0,5\%$ . Balsamul revendicat reprezintă un lichid transparent de culoare roșie - brună, cu miros specific, complex și intens de plante medicinale și gust amar - dulce.

Schema tehnologică de obținere a balsamului B\_1368 este prezentată în figura 4.2.



**Fig. 4.2. Procesul tehnologic de producere industrială a balsamului B\_1368**

Pe durata procesului tehnologic au fost efectuate mai multe teste în scopul determinării activității antioxidante a balsamului și componentelor lui la diferite etape. Astfel, au fost testate toate cele trei macerate, maceratul obținut prin combinarea tuturor celor 3 extracte din procedura generală de macerare triplă, activitatea antioxidantă a vinului și cea a produsului finit – balsamul B\_1368. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 4.5

Din tabel se vede, că activitatea celor trei macerate descrește de la o extracție la alta, iar activitatea maceratului obținut la unirea celor trei fracții este de peste 1 mg Trolox echivalent la ml. Componentele care se adaugă suplimentar (vanilina, caramela și acidul citric) de asemenea posedă activitate antioxidantă, în special vanilina și acidul citric.

**Tabelul 4.5. Activitatea antioxidantă a balsamului B\_1368 la diferite etape ale fluxului tehnologic**

Componenta balsamului	Etapa fluxului tehnologic	Activitatea antioxidantă (capacitatea de reducere a ABTS <sup>+</sup> ), $\mu\text{g Trolox echivalent/ml}$
Macerat	I macerare	1032 $\pm$ 51
	II macerare	426 $\pm$ 36
	III macerare	315 $\pm$ 15
Extract combinat	După unirea celor 3 fracții	1388 $\pm$ 47
Vanilină, 0,25 mg/ml	Până la adăugare	112,6 $\pm$ 12,7
Caramelă, 10 mg/ml	Până la adăugare	21,4 $\pm$ 0,9
Acid citric, 0,1 mg/ml	Până la adăugare	119,6 $\pm$ 6,8
Vin roșu	Până la adăugare	1644 $\pm$ 51
Balsam B_1368	Produs finit	5470 $\pm$ 65

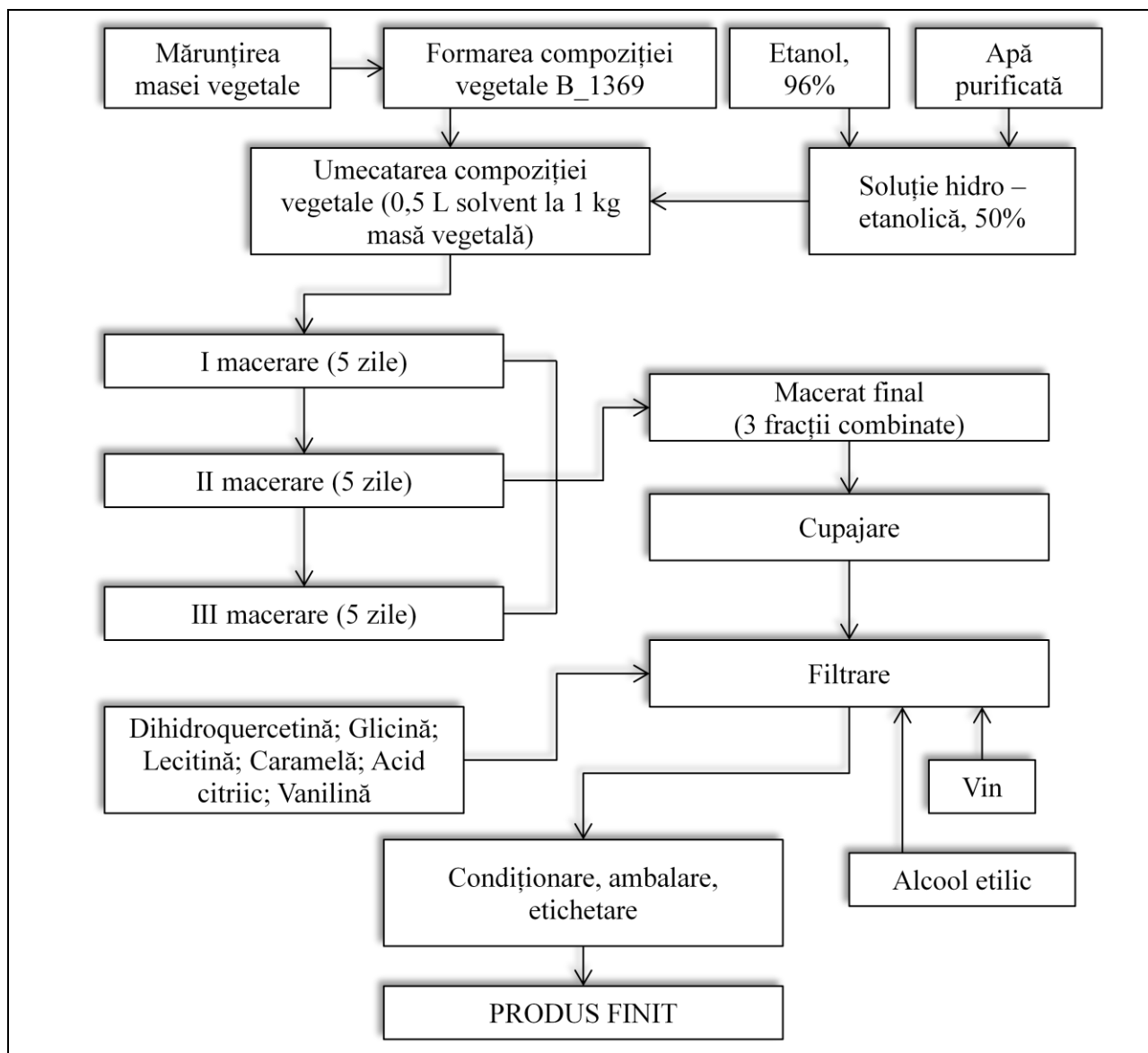
Activitatea antioxidantă a produsului finit – balsamul B\_1368 constituie aproximativ 5,5 mg Trolox echivalent la ml produs, ceea ce depășește semnificativ activitatea componentelor individuale. Astfel se manifestă sinergismul elementelor constitutive ale balsamului, care asigură nu numai o activitate antioxidantă înaltă, ci calități organoleptice prețioase. Datorită componenței echilibrate acest balsam este transparent, are o culoare brună-roșietică, miros plăcut intens de plante medicinale și gust amarui - dulci. Efectele benefice ale balsamului sunt în mare măsură determinate de activitatea antioxidantă înaltă, pe care o posedă.

#### **4.2.3. Tehnologia de producere a balsamului B\_1369**

Următorul produs elaborat în cadrul acestei lucrări este balsamul B\_1369 care poate fi aplicat în farmacologia preventivă în calitate de produs cu activitate biologică (efect imunostimulator, de detoxifiere, citolitic și colestatic).

Noul balsam posedă proprietăți organoleptice mai intense de plante, în special un miros plăcut specific, care voalează mirosul alcoolului etilic din rețeta balsamului, datorită prezenței dihidroquercetini, glicinei și lecitinei în cantitățile indicate în tabelul 4.3.

Balsamul se prepară în modul următor (figura 4.3). Materia primă vegetală se cântărește și se obține amestecul format din cantitățile indicate în rețeta balsamului. În varianta experimentală a balsamului, analizat în acest subcapitol, compoziția vegetală a avut următoarea componență: rădăcina de lemn dulce 2,0 g, rizomi de obligană 0,13 g, partea aeriană de sunătoare 0,65 g, partea aeriană de sovârv 0,52 g, frunze de izmă bună 0,81 g, partea aeriană de coada - șoricelului 0,75 g, muguri de pin 1,0 g.



**Fig. 4.3. Procesul tehnologic de producere industrială a balsamului B\_1369**

Amestecul vegetal descris mai sus se mărunțește și se macerează. Maceratul din materie primă vegetală se obține prin macerarea triplă a materiei prime vegetale mărunțite cu soluție hidro - alcoolică în raport de 1 parte de masă vegetală la 3 părți de solvent. Durata fiecărei dintre cele trei proceduri de macerare a fost de 5 zile. În calitate de solvent a fost folosită soluția hidro – etanolică cu conținutul alcoolului de 50%. După fiecare macerare extractul se scurge, sistemul se completează cu solvent, iar procedura se repetă integral. Maceratele de la prima, a doua și a treia procedură se unesc într-un vas de cupajare și se mențin în el pe durata a 3 zile. Cupajul obținut se amestecă 2 zile, apoi se filtrează, după care se adaugă 300 ml de vin roșu de desert cu tăria de 16%, 289 ml de alcool etilic de 96%, dihidroquercetină, în cantitate de 1,2 g/l, glicină în

cantitate de 30,0g/l, lecitină în cantitate de 1,0 g/l, caramelă în cantitate de 10,0 g/l, acid citric 0,1 g/l, vanilina 0,25g/l și apă purificată până la 1000 ml. Balsamul obținut posedă o tărie de  $42\pm 0,5\%$  vol.

Ca și în cazul balsamurilor analizate anterior, pe durata procesului tehnologic au fost efectuate testele antioxidante pentru toate cele trei macerate, maceratul unit, pentru vin, dihidroquercetină, glicină, lecitină, acid citric, vanilină și pentru produsul finit – balsamul B\_1369. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 4.6

**Tabelul 4.6. Activitatea antioxidantă a balsamului B\_1369 la diferite etape ale fluxului tehnologic**

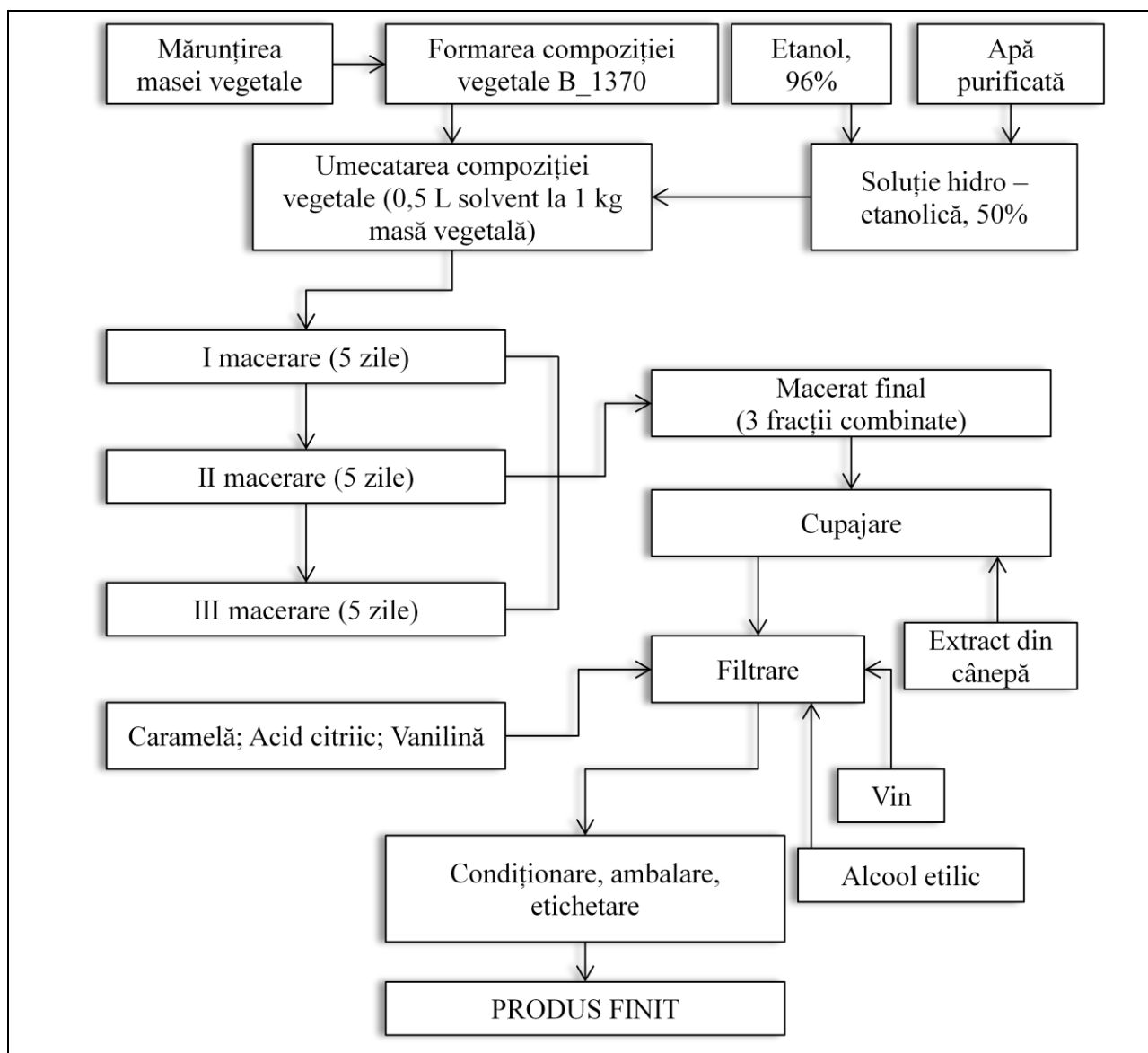
Componenta balsamului	Etapa fluxului tehnologic	Activitatea antioxidantă (capacitatea de reducere a ABTS <sup>•+</sup> ), $\mu\text{g}$ Trolox echivalent/ml
<b>Macerat</b>	I macerare	896 $\pm$ 24
	II macerare	362 $\pm$ 26
	III macerare	320 $\pm$ 8
Extract combinat	După unirea celor 3 fracții	1179 $\pm$ 32
Vanilină, 0,25 mg/ml	Până la adăugare	112,6 $\pm$ 12,7
Caramelă, 10 mg/ml	Până la adăugare	21,4 $\pm$ 0,9
Acid citric, 0,1 mg/ml	Până la adăugare	119,6 $\pm$ 6,8
Dihidroquercetină, 12 mg/ml	Până la adăugare	78,4 $\pm$ 11,0
Glicină, 30 mg/ml	Până la adăugare	59,6 $\pm$ 6,4
Lecitină, 0,25 mg/ml	Până la adăugare	162,6 $\pm$ 18,6
Vin roșu	Până la adăugare	1644 $\pm$ 51
Balsam B_1369	Produs finit	5120 $\pm$ 44

Activitatea antioxidantă a maceratului obținut din trei extrageri consecutive este de 1179  $\mu\text{g}$  Trolox echivalent/ml. Toate componentele adăugate suplimentar de asemenea, posedă activitate antioxidantă, remarcându-se lecitina cu peste 160  $\mu\text{g}$  Trolox echivalent/ml. Activitatea antioxidantă a produsului finit – balsamul B\_1369 constituie aproximativ 5,1mg Trolox echivalent la ml produs, ceea ce depășește semnificativ activitatea componentelor individuale.

Astfel se manifestă synergismul elementelor constitutive ale balsamului, care asigură nu numai o activitate antioxidantă înaltă, ci și calități organoleptice prețioase. Balsamul descris reprezintă un lichid transparent de culoare roșie-brună, cu miros specific și gust de plante medicinale, fără miros de alcool. Balsamul poate fi utilizat și de către persoanele cu diabet zaharat de tip I și II.

#### 4.2.4. Tehnologia de producere a balsamului B\_1370

Noul balsam B\_1370 posedă un miros specific plăcut de plante medicinale și un gust dulce, datorită componentelor, utilizate în cantitățile indicate în tabelul 4.3. Balsamul se prepară în modul reflectat în figura 4.4. Materia primă vegetală se cântărește și se obține amestecul format din cantitățile indicate în rețeta balsamului.



**Fig. 4.4. Procesul tehnologic de producere industrială a balsamului B\_1370**

În varianta experimentală a balsamului, analizat în acest subcapitol, compoziția vegetală a avut următoarea componență: rădăcină de lemn dulce 2,0 g, rizomi de obligeană 0,13 g, partea



aeriana de sunătoare 0,65 g, partea aeriană de sovârv 0,52 g, frunze de izma bună 0,81 g, partea aeriană de coada - șoricelului 0,75 g, muguri de pin 1,0 g, praf din semințe de amarant 2,0g.

Amestecul vegetal descris mai sus se mărunțește, se umectează, apoi se supune macerării triple. Macerarea se realizează utilizând soluție hidro - alcoolică în raport de 1 parte de masă vegetală la 3 părți de solvent. Durata fiecărei macerări este de 5 zile. În calitate de solvent a fost folosită soluția hidro – etanolică cu concentrația alcoolului de 50%. După fiecare macerare extractul se scurge, se adaugă solvent, iar procedura se repetă. Maceratele de la cele trei proceduri de extragere se unesc într-un vas de cupajare și se mențin în el pe durata a 3 zile. La cupaj se adaugă 2 g de extract obținut din partea aeriană a cânepei rurale prin metoda de crioextracție la temperaturi joase (-48...-54°C) cu CO<sub>2</sub>. Cupajul se amestecă timp de 2 zile, apoi se filtrează, după care se adaugă 300 ml de vin roșu de desert cu tăria de 16%, 289 ml de alcool etilic de 96%, caramelă în cantitate de 10,0 g/l, acid citric 0,1 g/l, vanilină 0,25g/l și apa purificată până la 1000 ml. Balsamul obținut posedă o tărie de 42±0,5% vol.

Pe durata procesului tehnologic a fost determinată activitatea antioxidantă a tuturor maceratelor, componentelor suplimentare și a produsul finit – balsamul B\_1370. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 4.7

**Tabelul 4.7. Activitatea antioxidantă a balsamului B\_1370 pe durata fluxului tehnologic**

<b>Componenta balsamului</b>	<b>Etapa fluxului tehnologic</b>	<b>Activitatea antioxidantă (capacitatea de reducere a ABTS<sup>+</sup>), μg Trolox echivalent/ml</b>
Macerat	I macerare	995±42
	II macerare	512±28
	III macerare	451±38
Extract combinat	După unirea celor 3 fracții	1364±43
Vanilină, 0,25 mg/ml	Până la adăugare	112,6±12,7
Caramelă, 10 mg/ml	Până la adăugare	21,4±0,9
Acid citric, 0,1 mg/ml	Până la adăugare	119,6±6,8
Vin roșu	Până la adăugare	1644±51
Balsam B_1370	Produs finit	5150±61

Activitatea antioxidantă a meceratului obținut din trei extrageri consecutive este de 1364 μg Trolox echivalent/ml, iar activitatea antioxidantă a produsului finit – balsamul B\_1370 constituie aproximativ 5150 μg Trolox echivalent la ml produs, ceea ce depășește semnificativ activitatea componentelor separate din care este alcătuit balsamul, în cazul când acestea sunt

testate separat. Astfel se manifestă sinergismul elementelor constitutive ale balsamului, care asigură nu numai o activitate antioxidantă înaltă, ci și calități organoleptice prețioase.

#### 4.2.5. Tehnologia de producere a balsamului B\_1377

Noul balsam B\_1377 a fost elaborat în calitate de produs curativo – profilactic, destinat utilizării în calitate de imunomodulator și detoxificant. Produsul posedă un miros specific plăcut de plante medicinale și un gust dulce - amar, datorită componentelor, utilizate în cantitățile indicate în tabelul 4.3.

Balsamul se prepară în conformitate cu schema tehnologică prezentată în figura 4.5.

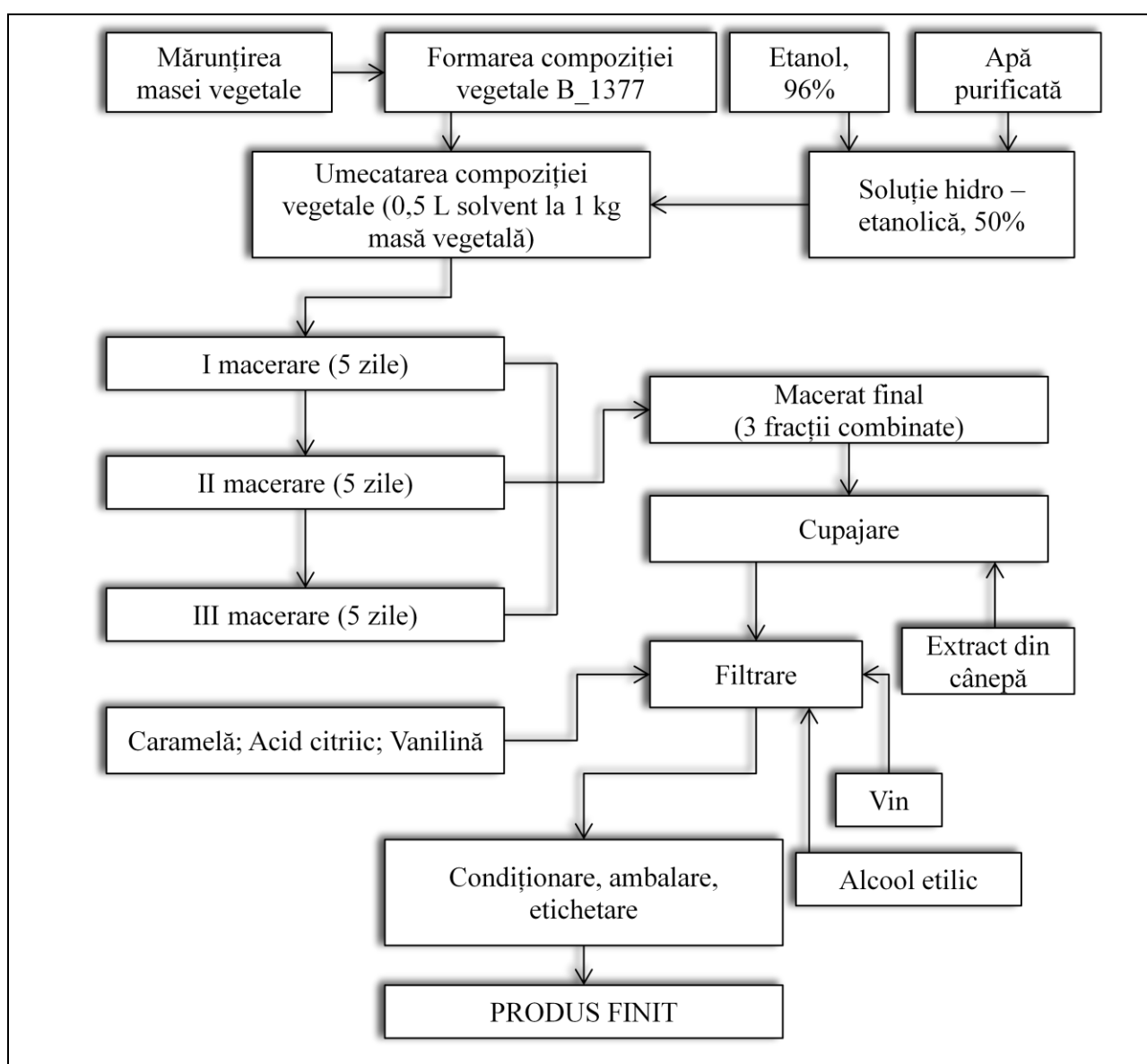


Fig. 4.5. Procesul tehnologic de producere industrială a balsamului B\_1377

Materia primă vegetală se cântărește și se obține amestecul format din cantitățile indicate în rețeta balsamului. În varianta experimentală a balsamului, analizat în acest subcapitol, compoziția vegetală a avut următoarea componență: rădăcină de lemn dulce 2,0 g, rizomi de obligeană 0,13 g, partea aeriană de sunătoare 0,65 g, partea aeriană de sovârv 0,52 g, frunze de izmă bună 0,81 g, partea aeriană de coada - șoricelului 0,75 g, muguri de pin 1,0 g, praf din semințe de amarant 2,0g, partea aeriană de imortele 2,0 g, mentă decorativă 2,0 g, partea aeriană de salvie 2,0 g. Amestecul de ierburi descris mai sus se mărunțește, se umectează, apoi se supune macerării triple. Macerarea se realizează utilizând soluție hidro - alcoolică în raport de o parte de masă vegetală la 3 părți de solvent. Durata totală a procesului de macerare este de 15 zile, separate în 3 părți echivalente, care constituie durata unei proceduri de macerare. În calitate de solvent este folosită soluția hidro – etanolică cu concentrația alcoolului de 50%. După fiecare macerare extractul se scurge, se adaugă solvent, iar procedura se repetă. Maceratele de la cele trei proceduri de extragere se unesc într-un vas de cupajare și se mențin în el pe durata a 3 zile. La cupaj se adaugă 2 g de extract obținut din partea aeriana a cânepei rurale prin metoda de crioextracție la temperaturi joase (-48...-54°C) cu CO<sub>2</sub>. Cupajul se amesteca timp de 2 zile, apoi se filtrează, după care se adaugă 300 ml de vin roșu de desert cu tăria de 16%, 289 ml de alcool etilic de 96%, caramelă în cantitate de 10,0 g/l, acid citric 0,1 g/l, vanilină 0,25g/l și apă purificată până la 1000 ml. Balsamul obținut posedă o tărie de 42±0,5% vol.

Pe durata procesului tehnologic a fost determinată activitatea antioxidantă a tuturor maceratelor, componentelor suplimentare și a produsul finit – balsamul B\_1377. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 4.8

**Tabelul 4.8. Activitatea antioxidantă a balsamului B\_1377 la diferite etape ale fluxului tehnologic**

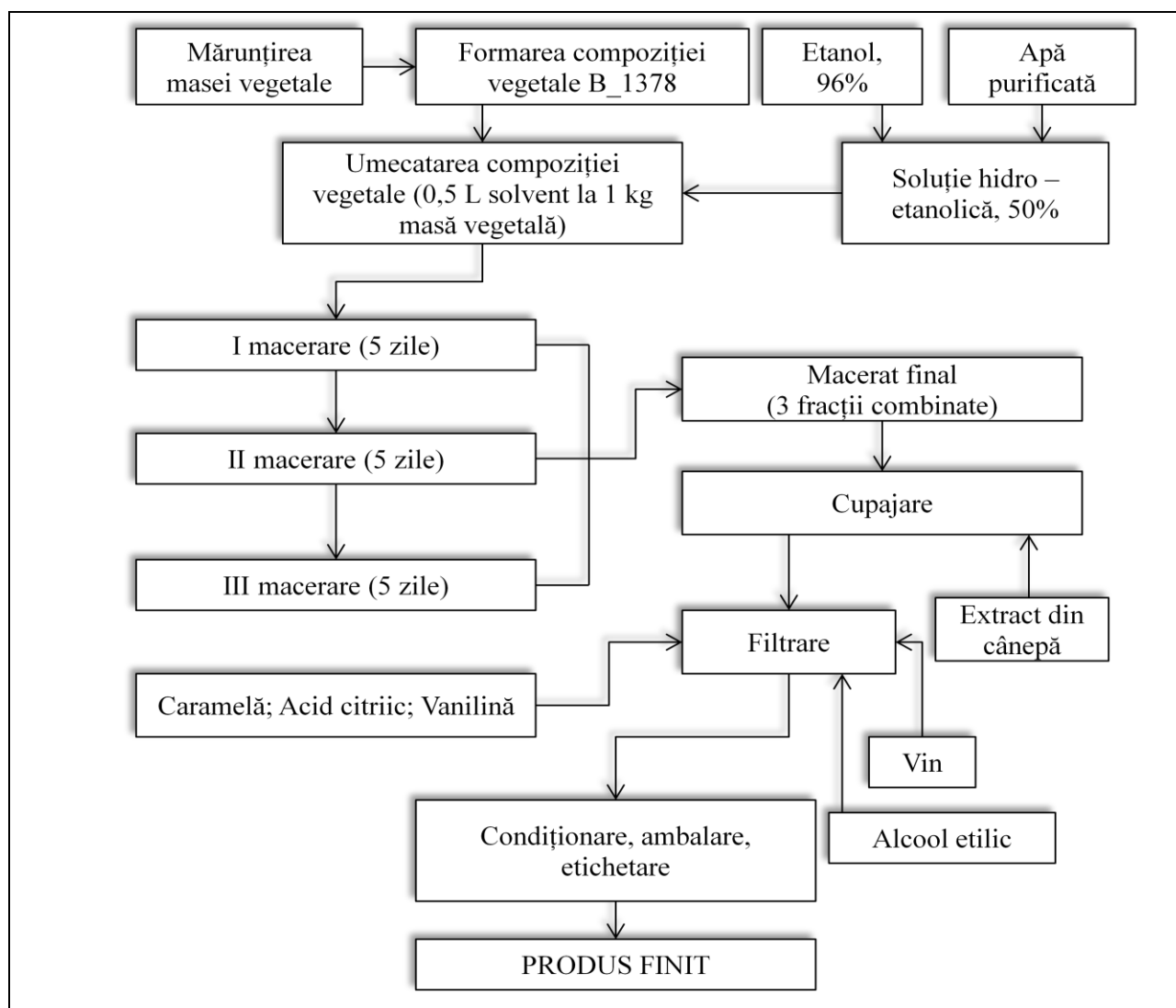
<b>Componenta balsamului</b>	<b>Etapa fluxului tehnologic</b>	<b>Activitatea antioxidantă (capacitatea de reducere a ABTS<sup>+</sup>), μg Trolox echivalent/ml</b>
Macerat	I macerare	1009±52
	II macerare	537±12
	III macerare	374±41
Extract combinat	După unirea celor 3 fracții	1124±26
Vanilină, 0,25 mg/ml	Până la adăugare	112,6±12,7
Caramelă, 10 mg/ml	Până la adăugare	21,4±0,9
Acid citric, 0,1 mg/ml	Până la adăugare	119,6±6,8
Vin roșu	Până la adăugare	1644±51
Balsam B_1377	Produs finit	5720±93

Activitatea antioxidantă a meceratului obținut din trei extrageri consecutive este de 1124  $\mu\text{g}$  Trolox echivalent/ml, iar activitatea antioxidantă a produsului finit – balsamul B\_1370 constituie aproximativ 57200  $\mu\text{g}$  Trolox echivalent la ml produs, ceea ce depășește semnificativ activitatea componentelor separate din care este alcătuit balsamul. Astfel, balsamul B\_1377 după activitatea sa antioxidantă este foarte asemănător cu balsamul Spirupotent.

#### 4.2.6. Tehnologia de producere a balsamului B\_1378

Ultimul dintre produsele elaborate în cadrul acestei lucrări este balsamul B\_1378 care poate fi aplicat în farmacologia preventivă datorită activității biologice înalte ( posedă efect imunostimulator și de detoxifiere). Noul balsam are un miros plăcut specific, și gust dulce – amarului datorita componentelor vegetale, utilizate în cantitățile indicate în tabelul 4.3.

Tehnologia de fabricare a balsamului este prezentată în figura 4.6.



**Fig. 4.6. Procesul tehnologic de producere industrială a balsamului B\_1378**

Materia primă vegetală se cântărește și se obține amestecul format din cantitățile indicate în rețeta balsamului. În varianta experimentală a balsamului, analizat în acest subcapitol, compoziția vegetală are următoarea componență: rădăcină de lemn dulce 2,0 g, partea aeriana de sovârv 0,52 g, frunze de izmă bună 0,81 g, muguri de pin 1,0 g, partea aeriana de nemuritoare 2,0 g, menta decorativa 2,0 g, partea aeriană de salvie 2,0 g, pulbere din semințe de amarant 2,0 g.

Amestecul vegetal descris mai sus se mărunțește și se macerează. Maceratul din materie primă vegetală se obține prin macerarea triplă a materiei prime vegetale mărunțite cu soluție hidro - alcoolică în raport de 1 parte de masă vegetală la 3 părți de solvent. Durata fiecărei dintre cele trei proceduri de macerare este de 5 zile. În calitate de solvent este folosită soluția hidro – etanolică cu conținutul alcoolului de 50%. După fiecare macerare extractul se scurge, sistemul se completează cu solvent, iar procedura se repetă integral. Maceratele de la prima, a doua și a treia procedură se unesc într-un vas de cupajare și se mențin în el pe durata a 3 zile. La cupajul obținut se adaugă 2 g de extract obținut din partea aeriană a cânepei rurale prin metoda de crioextracție la temperaturi joase (-48...-54°C) cu CO<sub>2</sub>, se amesteca timp de 2 zile, apoi se filtrează, după care se adaugă 300 ml de vin roșu de desert cu tăria de 16%, 289 ml de alcool etilic de 96%, caramelă în cantitate de 10,0 g/l, acid citric 0,1 g/l, vanilină 0,25g/l și apă purificată până la 1000 ml. Balsamul obținut posedă o tărie de 42±0,5% vol.

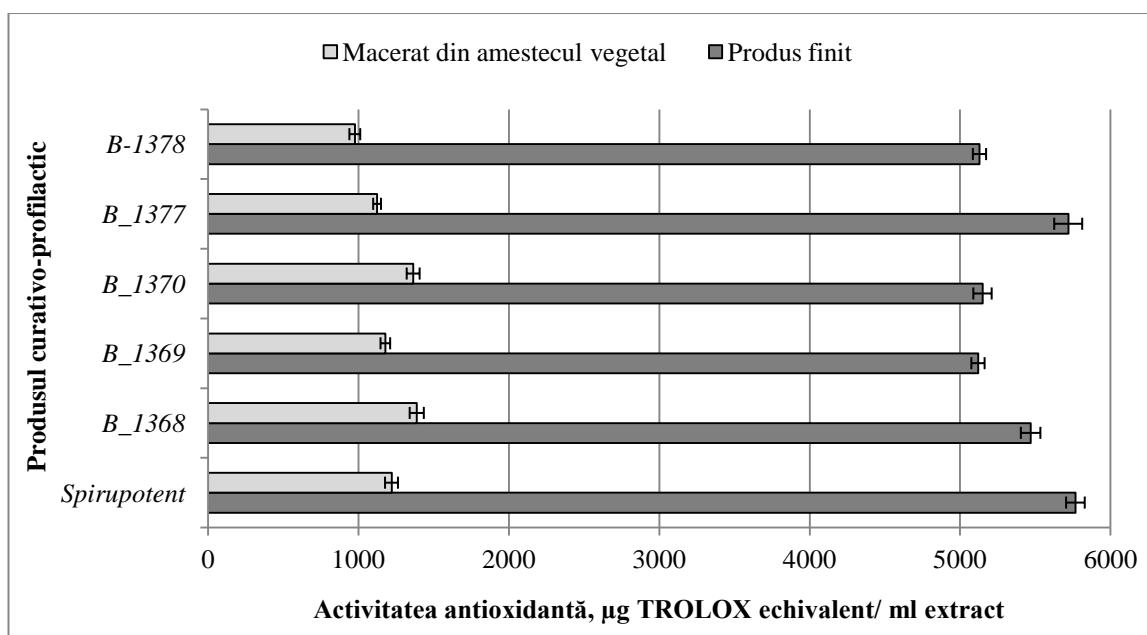
Ca și în cazul balsamurilor analizate anterior, pe durata procesului tehnologic se efectuează testele antioxidante pentru toate cele trei macerate, maceratul unit, pentru vin, dihidroquercetină, glicină, lecitină, acid citric, vanilină și a produsul finit – balsamul B\_1378. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 4.9

**Tabelul 4.9. Activitatea antioxidantă a balsamului B\_1378 pe durata fluxului tehnologic**

<b>Componenta balsamului</b>	<b>Etapa fluxului tehnologic</b>	<b>Activitatea antioxidantă (capacitatea de reducere a ABTS<sup>+</sup>), μg Trolox echivalent/ml</b>
Macerat	I macerare	855±29
	II macerare	415±36
	III macerare	280±22
Extract combinat	După unirea celor 3 fracții	976±36
Vanilină, 0,25 mg/ml	Până la adăugare	112,6±12,7
Caramelă, 10 mg/ml	Până la adăugare	21,4±0,9
Acid citric, 0,1 mg/ml	Până la adăugare	119,6±6,8
Vin roșu	Până la adăugare	1644±51
Balsam B_1378	Produs finit	5130±44

Activitatea antioxidantă a meceratului obținut din trei extrageri consecutive este de 976  $\mu\text{g}$  Trolox echivalent/ml. Activitatea antioxidantă a produsului finit – balsamul B\_1378 constituie 5130  $\mu\text{g}$  Trolox echivalent la ml produs, ceea ce depășește semnificativ activitatea componentelor individuale. Balsamul descris reprezintă un lichid transparent de culoare roșie-bruna, cu miros specific și gust de plante medicinale, fără miros de alcool. Balsamul poate fi utilizat și de către persoanele cu diabet zaharat de tip I și II.

Astfel, toate balsamurile noi, obținute prin aplicarea tehnologiilor descrise, se caracterizează prin activitatea antioxidantă înaltă. Adăugarea suplimentară a vinului roșu tratat și a unor componente suplimentare, cum ar fi vanilina, acidul citric, dihidroquercetina, glicina, lecitina, duce la intensificarea manifestării efectelor antioxidante a produsului finit comparativ cu activitatea maceratelor obținute din mixul vegetal utilizat la fabricarea fiecărui tip de balsam in parte. În figura 4.7 este reprezentată activitatea antioxidantă a maceratelor triple din amestecurile vegetale comparativ cu activitatea produsului finit.



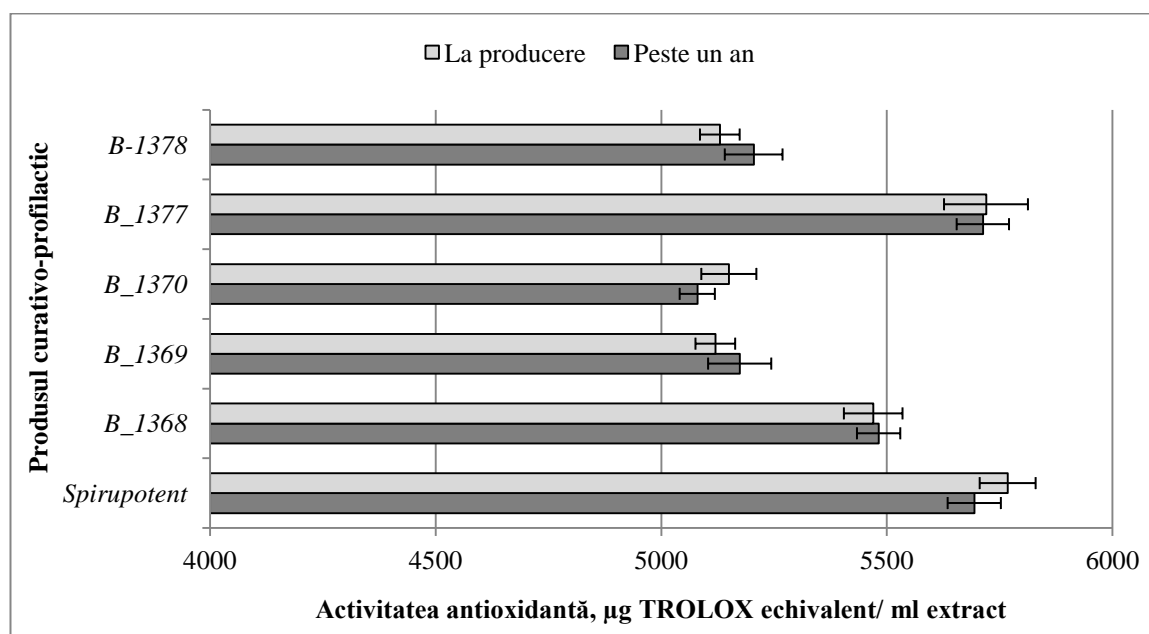
**Fig.4.7. Activitatea antioxidantă a produselor curativo-profilactice finite comparativ cu activitatea extractului macerat din amestecurile vegetale conform rețetelor de fabricație**

Pentru fiecare tip de balsam curativo – profilactic nou maceratul triplu este obținut dintr-un amestec specific de materii vegetale, de aceea, nu numai activitatea antioxidantă a produselor finite, ci și activitatea maceratelor diferă de la un produs la altul. În cazul balsamului Spirupotent, de exemplu, activitatea antioxidantă a produsului finit este de 4,73 ori mai mare decât activitatea maceratului obținut prin combinarea extractelor rezultate din trei macerări

consecutive. Activitatea balsamului B\_1378 este de 5,26 ori mai mare decât activitatea maceratului.

Astfel, tehnologiile elaborate permit obținerea unor produse cu proprietăți antioxidante performante, care depășește activitatea maceratului din cele șase componente de bază de 3,78 – 5,26 ori, iar pe cea a componentelor individuale – de 63-190 ori. Balsamurile posedă proprietăți organoleptice îmbunătățite, nu conțin adaos de zahăr ori conservanți sintetici. Aceste tehnologii permit de a lărgi sortimentul de produse naturale curativo-profilactice, obținute din biomasă vegetală și cianobacteriană.

Este important, ca activitatea biologică a produselor curativo – profilactice noi să fie cât mai bine păstrate în timp, astfel, ca termenul de valabilitate a noilor balsamuri să fie acceptabile. Pentru a asigura păstrarea activității antioxidante înalte se recomandă păstrarea produselor în ambalajul original din sticlă brună ori plastic alimentar întunecat, în loc ferit de acțiunea directă a razelor de lumină și la temperatură, ce nu depășește 25°C. Activitatea antioxidantă a noilor produse a fost testată cu aplicarea aceleiași metode pe durata a unui an din momentul producerii. Rezultatele sunt prezentate în figura 4.8.



**Fig.4.8. Activitatea antioxidantă a produselor curativo-profilactice noi la producere și peste un an de păstrare în condiții recomandate**

Rezultatele obținute arată, că diferențele dintre activitatea antioxidantă a balsamurilor la producere și peste un an de păstrare nu sunt semnificative din punct de vedere statistic.

În concluzie menționăm, că în cadrul acestei lucrări au fost elaborate rețetele și tehnologiile de producere a 6 balsamuri noi pe bază de plante și spirulină, cu proprietăți antioxidante foarte bune, stabile în timp.

#### **4.3. Concluzii la capitolul 4**

1. Noile tehnologii elaborate permit de a lărgi sortimentul de produse naturale curativo-profilactice, obținute din biomasă vegetală și cianobacteriană [175, 193-196].
2. La baza producerii noilor balsamuri curativo – profilactice din materiale vegetale și biomasă de spirulină a fost pusă o schemă tehnologică universală, simplu de realizat, care asigură valorificarea maximă a potențialului antioxidant al componentelor utilizate.
3. Tehnologiile elaborate permit obținerea unor balsamuri curativo – profilactice cu activitatea antioxidantă performantă, care depășește activitatea maceratului din amestecurile vegetale corespunzătoare de 3,73 – 5,26 ori, iar pe cea a extractelor din componentele individuale vegetale – de 63-190 ori
4. Noile tehnologii de producere a balsamurilor curativo – profilactice asigură obținerea unor produse cu proprietăți organoleptice îmbunătățite [175, 193 – 196].
5. Proprietățile antioxidante ale balsamurilor noi elaborate nu se modifică pe durata unui an de păstrare în condiții recomandate.



## 5. EFECTELE BIOLOGICE ALE PRODUSELOR CURATIVO-PROFLACTICE NOI

Testele de toxicitate și cele biomedicale, rezultatele cărora sunt prezentate în această lucrare au fost efectuate pe balsamul curativo-profilactic nou Spirupotent și pe balsamul B\_1377.

De asemenea, sunt prezentate rezultatele obținute la testarea clinică a balsamului B\_1377.

### 5.1. Toxicitatea produselor curativo-profilactice noi

Studiile de *toxicitate acută* a balsamului Spirupotent au fost realizate pe șoareci și șobolani. În cazul șobolanilor dozele de balsam aplicate au fost de 30, 35, 40, 45, 50, 55 și 60 ml balsam la kg de masă corporală a animalului. Balsamul a fost administrat printr-o sondă gastrică. Toxicitatea a fost estimată în baza mortalității animalelor. În lotul martor au fost incluse animalele, cărora li s-a administrat soluție hidro - etanolică de 42%. Pe durata studiului a fost estimat comportamentul animalelor. Rezultatele înregistrate în experiențele pe șobolani sunt prezentate în tabelul 5.1.

**Tabelul 5.1. Toxicitatea acută a balsamului Spirupotent la șobolani**

Doza (ml/kg)	Apatie	Somn	Sfârșit letal timp de 24 ore	Sfârșit letal peste 24 ore
<b>Lotul experimental (balsam)</b>				
<b>30</b>	1	0	0	0
<b>35</b>	3	1	0	0
<b>40</b>	2	8	0	3
<b>45</b>	1	9	1	4
<b>50</b>	0	9	3	5
<b>55</b>	0	3	6	3
<b>60</b>	0	0	8	2
<b>Lotul martor (soluție hidroetanolică de 42%)</b>				
<b>20</b>	2	0	0	0
<b>25</b>	4	3	0	0
<b>40</b>	2	8	0	0
<b>35</b>	1	9	0	2
<b>40</b>	0	9	1	3
<b>45</b>	0	3	2	6
<b>50</b>	0	0	9	1

Datele prezentate atestă, că doza de balsam letală pentru 100% din animale în cazul șobolanilor constituie: 60 ml/kg, în timp ce în cazul alcoolului concentrația letală 100 este de 50 ml/kg de masă corporală. Calculul efectuat în baza rezultatelor din tabelul 5.1. a permis de a stabili că valoarea DL<sub>50</sub> de balsam Spirupotent pentru șobolani este de 45,7±1,5 ml/kg. Același tip de calcul efectuat pentru rezultatele obținute la administrarea soluției hidro-etanolice de 42%

a arătat, că  $DL_{50}$  pentru șobolani este de  $40,5 \pm 1,3$  ml/kg. Astfel, doza semiletală a balsamului este cu 5,2 ml/kg mai mare decât doza semiletală a soluției hidro-etanolice de tărie echivalentă. Aceasta ne permite să afirmăm, că în cazul șobolanilor toxicitatea balsamului este determinată de toxicitatea etanolului și nu de toxicitatea componentelor vegetale ale acestuia. Mai mult ca atât, componentele vegetale din componența balsamului atenuază efectele nefaste ale soluției hidro-etanolice echivalente.

În cazul șoarecilor dozele de balsam aplicate au fost de 20, 25, 30, 35, 40 și 45 ml balsam la kg de masă corporală a animalului. Balsamul a fost administrat printr-o sondă gastrică. La fel și în cazul șobolanilor, toxicitatea a fost estimată în baza mortalității animalelor. În lotul martor au fost incluși șoarecii, cărora li s-a administrat soluție hidro - etanolică de 42%, în doze de 10, 15, 20, 25, 30 și 35 ml/kg masă corporală. Rezultatele înregistrate în aceste experiențe sunt prezentate în tabelul 5.2.

**Tabelul 5.2. Toxicitatea acută a balsamului Spirupotent la șoareci**

Doza (ml/kg)	Apatie	Somn	Sfârșit letal timp de 24 ore	Sfârșit letal peste 24 ore
<b>Lotul experimental (balsam)</b>				
<b>20</b>	2	0	0	0
<b>25</b>	4	3	0	0
<b>30</b>	2	8	0	2
<b>35</b>	1	9	2	2
<b>40</b>	0	9	3	4
<b>45</b>	0	3	6	4
<b>Lotul martor (soluție hidroetanolică de 42%)</b>				
<b>10</b>	2	0	0	0
<b>15</b>	4	3	0	0
<b>20</b>	2	8	0	2
<b>25</b>	1	9	2	4
<b>30</b>	0	9	4	6
<b>35</b>	0	3	7	3

Datele prezentate atestă, că doza de balsam letală pentru 100% din animale în cazul șoarecilor constituie 45 ml/kg, în timp ce în cazul alcoolului concentrația letală 100 este de 30 ml/kg de masă corporală. Calculul efectuat în baza rezultatelor din tabelul 5.2. a permis de a stabili că valoarea  $DL_{50}$  de balsam Spirupotent pentru șoareci este de  $30,8 \pm 1,4$  ml/kg. Același tip de calcul efectuat pentru rezultatele obținute la administrarea soluției hidro-etanolice de 42% a arătat, că  $DL_{50}$  pentru șobolani este de  $24,0 \pm 1,1$  ml/kg. Astfel, doza semiliteală a balsamului este cu 6,8 ml /kg mai mare decât doza semiletală a soluției hidro-etanolice de tărie echivalentă. Aceasta ne permite să afirmăm, că în cazul șoarecilor, de asemenea, toxicitatea balsamului este

determinată de toxicitatea etanolului și nu de toxicitatea componentelor vegetale ale acestuia. Componentele vegetale din componența balsamului atenuază efectele nocive ale soluției hidro-etanolice de concentrație echivalentă.

Toxicitatea acută a balsamului B\_1377 a fost testată în aceleași condiții ca și în cazul balsamului Spirupotent. În testele pe șobolani dozele de balsam aplicate au fost de 30, 35, 40, 45, 50, 55 și 60 ml balsam la kg de masă corporală a animalului. Balsamul a fost administrat printr-o sondă gastrică. În lotul martor au fost incluse animalele, cărora li s-a administrat soluție hidro - etanolică de 42%, care a fost administrat în doze de 10, 15, 20, 25, 30 și 35 ml/kg. Rezultatele înregistrate în experiențele pe șobolani sunt prezentate în tabelul 5.3.

**Tabelul 5.3. Toxicitatea acută a balsamului B\_1377 la șobolani**

<b>Doza (ml/kg)</b>	<b>Apatie</b>	<b>Somn</b>	<b>Sfârșit letal timp de 24 ore</b>	<b>Sfârșit letal peste 24 ore</b>
<b>Lotul experimental (balsam)</b>				
<b>30</b>	1	0	0	0
<b>35</b>	3	2	0	0
<b>40</b>	2	8	0	3
<b>45</b>	2	8	1	4
<b>50</b>	0	9	3	5
<b>55</b>	0	3	6	3
<b>60</b>	0	0	8	2
<b>Lotul martor (soluție hidroetanolică de 42%)</b>				
<b>20</b>	2	0	0	0
<b>25</b>	4	3	0	0
<b>40</b>	2	8	0	0
<b>35</b>	2	8	0	2
<b>40</b>	0	9	1	3
<b>45</b>	0	3	2	6
<b>50</b>	0	0	9	1

Datele din tabel arată că rezultatele obținute sunt foarte apropiate de cele obținute în cazul testării toxicității acute a balsamului Spirupotent. Dozele letale și semiletale sunt identice cu cele stabilite anterior: doza de balsam letală pentru 100% din animale în cazul șobolanilor constituie: 60 ml/kg, în timp ce în cazul alcoolului concentrația letală 100 este de 50 ml/kg de masă corporală. Calculul efectuat în baza rezultatelor din tabelul 5.3. a permis de a stabili că valoarea DL<sub>50</sub> de balsam B\_1377 pentru șobolani este de 45,7±1,5 ml/kg, iar pentru soluție hidro-etanolică de 42% - de 40,5±1,3 ml/kg. Ca și în cazul produsului testat anterior toxicitatea balsamului este determinată de toxicitatea etanolului și nu de toxicitatea componentelor vegetale ale acestuia.

În cazul șoarecilor dozele de balsam B\_1377 au fost de 20, 25, 30, 35, 40 și 45 ml/kg, iar cele de soluție hidro - etanolică de 42% au fost de 10, 15, 20, 25, 30 și 35 ml/kg. Rezultatele înregistrate în experiențele pe șobolani sunt prezentate în tabelul 5.4.

**Tabelul 5.4. Toxicitatea acută a balsamului B\_1377 la șoareci**

Doza (ml/kg)	Apatie	Somn	Sfârșit letal timp de 24 ore	Sfârșit letal peste 24 ore
<b>Lotul experimental (balsam)</b>				
20	2	0	0	0
25	4	3	0	0
30	1	9	0	2
35	1	9	2	2
40	0	9	3	4
45	0	3	6	4
<b>Lotul martor (soluție hidroetanolică de 42%)</b>				
10	2	0	0	0
15	4	3	0	0
20	2	8	0	2
25	1	9	2	4
30	0	9	4	6
35	0	3	7	3

Datele prezentate atestă, că doza de balsam letală pentru 100% din animale în cazul șoarecilor constituie 45 ml de balsam B\_1377 la kg de masă corporală, în timp ce în cazul soluției hidro-etanolice de 42% concentrația letală este de 30 ml/kg de masă corporală. Valoarea DL<sub>50</sub> de balsam B\_1377 pentru șoareci este de 30,8±1,4 ml/kg, iar de soluție hidro-etanolică de 42% - 24,0±1,1 ml/kg. Ca și în celelalte cazuri examinate, toxicitatea balsamului B\_1377 este determinată de toxicitatea etanolului și nu de toxicitatea componentelor vegetale ale acestuia. Componentele vegetale din componența balsamului atenuază efectele nocive ale soluției hidro-etanolice de concentrație echivalentă.

Rezultate echivalente pe durata evaluării toxicității acute au fost obținute și pentru celelalte balsamuri elaborate.

**Toxicitatea cronică** a balsamului a fost testată pe șoareci și șobolani.

Durata studiului toxicității cronice exercitate de balsamul Spirupotent la șoareci a constituit patru luni, balsamul administrându-se zilnic în doze de 1%, 2% și 5% din DL<sub>50</sub>. S-au studiat indicatorii următori: supraviețuirea, dinamica modificărilor masei corporale și temperaturii corpului, starea generală a animalelor. Studiul a cuprins un lot de 60 de șoareci.

În perioada testărilor nici un animal nu a pierit. În perioada testărilor masa corporală a animalelor din lotul de comparație și din cel de intervenție a crescut, diferențe statistic semnificative între loturi în ceea ce privește masa corporală a animalelor nu au fost stabilite. Indicatorii masei corporale a animalelor pentru o perioadă de patru luni atestă, că balsamul Spirupotent nu exercită efecte toxice evidente. Sensibilitatea femelelor și masculilor la acest balsam este similară. La animalele testate nu s-au înregistrat modificări ale temperaturii corpului.

Durata studiului toxicității cronice exercitate de balsamul Spirupotent la șobolani a constituit șase luni, balsamul administrându-se zilnic în doze de 1%, 2% și 5% din DL<sub>50</sub>. S-au studiat următorii indicatori: supraviețuirea, dinamica modificării masei corporale și temperaturii corpului, starea generală a animalelor. Studiul a cuprins un lot de 60 de șobolani.

În perioada testărilor nici un animal nu a pierit. Indicatorii masei corporale a animalelor în dinamică pentru o perioadă de șase luni atestă lipsa efectelor toxice evidente. La animalele testate nu s-au înregistrat modificări ale temperaturii corpului. Masa corporală în dinamică crește, corespunzând creșterii masei corporale la animalele din lotul martor.

#### ***Efectul toxic al balsamurilor asupra funcției renale***

Efectul toxic al balsamurilor elaborate asupra funcției renale la șobolani a fost testat doar la masculi. Loturile experimentale au constat din câte 8 animale, care pe durata a 12 ore au fost private de hrană și apă, după care li s-a administrat o cantitate de 10 ml balsam la kg de masă corporală. Parametrii monitorizați au fost: diureza, conținutul de proteine în urină și conținutul de glucoză în urină.

După administrarea balsamului animalele au fost plasate în camere speciale, destinate colectării urinei (fiecare animal fiind plasat în cameră separată). Cantitatea de urină a fost înregistrată la fiecare 60 min timp de 5 ore.

Animalelor dintr-un alt lot (8 șobolani – lotul martor) li s-a administrat prin sonda gastrică soluție izotonică în asociere cu etanol, în cantitate echivalentă cu cantitatea de etanol în compoziția de balsam, în doză de 10 ml/kg. Parametrii monitorizați au fost aceiași.

La toate animalele în prima oră după administrarea balsamului s-a relevat un efect diuretic, comparativ cu animalele din lotul martor. Peste 2 ore cantitatea de urină s-a redus semnificativ, menținându-se ulterior la acest nivel. Creșterea nivelului de glucoză și proteine în urină nu s-a înregistrat, balsamurile exercitând doar un efect diuretic de scurtă durată.

În concluzie, balsamurile elaborate nu au efect toxic asupra funcției renale la șobolani.

### ***Influența balsamurilor asupra declanșării reacțiilor de stres în hipoxie***

Acest test ca și precedentul a fost efectuat doar pe șobolani masculi. Animalele din două loturi a câte 8 animale: lotul experimental, și lotul martor au fost plasate într-o barocameră specială, în care s-au modelat condiții specifice pentru nivelul de 10000 de m deasupra nivelului mării. Viteza de mărire și scădere a "altitudinii" a fost de 100 m/sec. Timp de o săptămână până la testare animalelor din lotul experimental li s-a administrat printr-o sondă gastrică balsam în doză de 1/10 din DL<sub>50</sub>, animalelor din lotul martor li s-a administrat soluție fiziologică în asociere cu etanol în cantitate echivalentă cu cea din balsam.

În baza duratei aflării animalelor la „înălțimea” prestabilită până la declanșarea convulsiilor a fost stabilită instaurarea adaptării la reacția de stres. Reducerea presiunii în cameră cauza la animale agitație, urmată de o reacție de stres manifestată prin apnee și convulsii.

Compararea reacțiilor de răspuns ale organismului, declanșate la acțiunea hipoxiei din barocameră, în două loturi nu a evidențiat diferențe semnificative.

## **5.2. Efectele biologice ale balsamurilor curativo-profilactice noi în condiții standard și la acțiunea radiației ionizante**

### ***5.2.1. Efectele biologice ale balsamurilor în condiții standard***

*Influența balsamurilor asupra duratei somnului survenit în urma administrării barbituricelor.* În studiu au fost luați 20 șobolani masculi (câte 10 animale în lotul experimental și în lotul martor) și în calitate de indice s-a înregistrat durata somnului cauzat de administrarea etaminalului de sodiu. Instalarea somnului a avut loc peste 5-10 min după administrare. intraperitoneală a etaminalului de sodiu. Balsamurile au fost administrate prin sondă în doză de 1/10 din DL<sub>50</sub> cu 40 de minute înaintea administrării etaminalului de sodiu. Animalelor din lotul martor li s-a administrat soluție fiziologică în asociere cu etanol în cantitate echivalentă cantității de alcool din conținutul balsamurilor.

Analiza rezultatelor atestă, că balsamul reduce în medie cu 10% durata somnului survenit în urma administrării etaminalului de sodiu, ceea ce caracterizează efectul tonifiant al balsamului asupra sistemului nervos central.

*Efectul balsamurilor asupra funcției sistemului cardio-vascular.* Testele s-au realizat pe un lot de 20 șobolani albi maturi (10 animale în lotul experimental și 10 – în lotul martor) sub narcoză cu nembotal. Tensiunea arterială generală a fost înregistrată pe artera caudală. Electrocardiografic se urmărea frecvența contracțiilor cardiace. Balsamul s-a administrat

intraperitoneal în doză de 1/10 din DL<sub>50</sub> pentru 1 kg de masă corporală. Instantaneu cu măsurarea tensiunii arteriale s-a înregistrat frecvența respirației și a contracțiilor cardiace. Nu există diferențe statistic semnificative între loturi în ceea ce privește tensiunea arterială, frecvența contracțiilor cardiace și frecvența respirației.

#### *Influența balsamurilor asupra probelor citologice ale sângelui*

Testele pentru fiecare balsam s-au realizat pe un lot de 22 de șobolani masculi maturi. La animalele din lotul experimental printr-o sondă gastrică li s-a administrat zilnic timp de 10 zile balsam în doză de 1/10 din DL<sub>50</sub>, la animalele din lotul martor – soluție de 42% alcool etilic. Peste 10 zile animalele au fost sacrificate. Parametrii sangvini monitorizați au fost următorii: numărul de eritrocite și leucocite, cantitatea de hemoglobină și VSH. Datele obținute sunt prezentate în tabelul 5.5.

**Tabelul 5.5. Efectul balsamului Spirupotent asupra indicatorilor hematologici**

	<b>Numărul de eritrocite mln/<math>\mu</math>l</b>	<b>Cantitatea de hemoglobină g%</b>	<b>VSH mm/h</b>	<b>Numărul de leucocite mii/<math>\mu</math>l</b>
Lotul martor	9,2 $\pm$ 0,5	10,6 $\pm$ 0,3	2,5 $\pm$ 0,4	9,3 $\pm$ 0,5
Lotul experimental	9,3 $\pm$ 0,7	11,8 $\pm$ 0,8	2,3 $\pm$ 0,6	9,4 $\pm$ 0,8

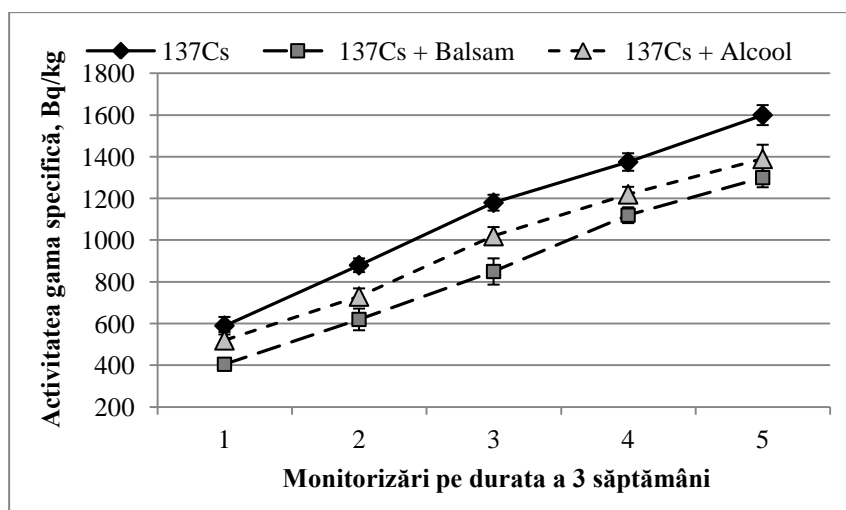
Diferențe statistic semnificative între loturi atât în ceea ce privește numărul de hematii și leucocite, cât și cantitatea de hemoglobină și VSH nu există, indicatorii prezentați în tabel sunt la nivelul de normă fiziologică.

#### **5.2.2. Efectele biologice ale balsamurilor curativo-profilactice noi la acțiunea radiației ionizante**

Dinamica activității gama la animale în condițiile tratării lor cu <sup>137</sup>Cs în asociere cu și fără administrarea balsamurilor. În cadrul acestui studiu animalele din trei loturi experimentale (4, 5 și 6, vezi capitolul 2) au fost monitorizate pe durata a trei săptămâni cât a durat experiența. Primul lot a primit doar iradiere internă cu <sup>137</sup>Cs conform metodei descrise în capitolul 2. Cel de-al doilea lot a primit suplimentar balsam, doza fiind de 1/10 din DL<sub>50</sub>. Ultimul lot a primit paralel cu iradierea volumul echivalent de soluție hidro-etanolică de 42%.

Activitatea gama la animalele cărora în condițiile tratării lor cu <sup>137</sup>Cs (administrare internă) le-a fost administrat adițional balsam Spirupotent sau soluție hidro-etanolică de 42%,

precum și cea a animalelor iradiate, cărora nu li s-a administrat nimic suplimentar a fost măsurată de 4 ori pe durata experimentului de 21 zile. Deoarece masa corporală a animalelor examinate varia, activitatea gama a fost calculată în funcție de masa corporală. Rezultatele activității gama specifice înregistrate la animale din cele trei loturi sunt prezentate în figura 5.1.



**Figura 5.1. Dinamica activității gama specifice (Bq/kg) a animalelor tratate cu  $^{137}\text{Cs}$  în loturile de animale hrana cărora se suplimenta cu balsam Spirupotent sau soluție hidro - etanolică de 42% și fără suplimente, Bq/kg**

În perioada tratării animalelor cu cesiu nivelul activității gama specifice a crescut în toate cele trei loturi studiate. În lotul în care hrana animalelor a fost suplimentată cu balsam sau cu soluție hidro - etanolică a fost înregistrat un nivel mai redus al activității. Diferențele între lotul iradiat, care nu a primit supliment la hrană și celelalte două loturi au fost semnificative în ambele cazuri, iar diferența dintre rezultatele obținute la suplimentarea hranei cu balsam și la suplimentarea hranei cu soluție hidro - etanolică de 42% se caracterizează printr-un nivel de semnificație mai jos ( $P < 0,05$ , comparativ cu  $P < 0,01$ ). În cazul balsamului B\_1377 rezultatele obținute au fost foarte asemănătoare, de asemenea, evidențiindu-se pozitiv efectul [180, 183].

Astfel, în condițiile administrării sistematice a balsamului Spirupotent se poate evidenția o tendință benefică de accelerare a eliminării radionuclidului de cesiu din organism.

*Starea sistemului respirator și sanguin la animalele iradiate, cărora li s-a administrat balsamul Spirupotent.* Frecvența respirației la șobolani din loturile experimentale și cele de referință a fost determinată vizual. Parametrul a fost fixat până la începutul administrării balsamului sau soluției hidro-etanolice de 42% și peste un interval de 15 zile, pe durata cărora



hrana animalelor a fost suplimentată cu produs curativo-profilactic sau soluție de etanol. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 5.6.

**Tabelul 5.6. Influența balsamului Spirupotent asupra frecvenței respirației la șobolanii iradiați**

Grupul de animale	Termenul de observare	
	Până la administrare	După 15 zile de administrare
Martor (animale netratate)	72,6±0,7	71,8±0,6
Balsam (animale netratate, hrană +Spirupotent)	73,1±1,1	73,5±0,9
Alcool (animale netratate, hrană +alcool 42%)	73,1±0,9	72,3±1,4
Cesiu-137 (animale iradiate)	72,6±0,9	72,1±0,8
Cesiu-137 și balsam (animale iradiate, hrană +Spirupotent)	73,6±1,1	75,3±1,4
Cesiu-137 și alcool (animale iradiate, hrană +alcool 42%)	71,2±0,8	72,6±1,0

Frecvența respirației la șobolanii albi iradiați (și neiradiați din loturile de referință), hrana cărora a fost suplimentată cu balsam sau soluție hidro-etanolică de 42% indicii frecvenței respirației nu au înregistrat diferențe semnificative din punct de vedere statistic.

La animalele din cele 6 loturi au fost monitorizați parametrii sangvini. Determinările au fost efectuate la începutul experienței și peste 15 zile de experiență. Au fost monitorizați mai mulți indicatori, primul dintre care a fost numărul de eritrocite. Rezultatele obținute sunt prezentate în figura 5.7.

**Tabelul 5.7. Influența balsamului Spirupotent asupra numărului de eritrocite în sângele șobolanilor albi (milioane / $\mu$ l)\***

Grupul de animale	Termenul de observare	
	Până la administrare	După 15 zile de administrare
Martor	8,41±0,15	8,43±0,16
Balsam	8,44±0,070	8,43±0,15
Alcool	8,40±0,10	8,33±0,09
Cesiu-137	8,37±0,12	8,35±0,16
Cesiu-137 și balsam	8,33±0,13	8,28±0,07
Cesiu-137 și alcool	8,20±0,13	8,19±0,21

\* Descrierea grupurilor de animale – ca în tabelul 5.6.

S-a observat, că la o administrare de lungă durată a balsamului, alcoolului, precum și la tratare cu cesiu numărul de eritrocite în sângele șobolanilor s-a menținut în limitele normei și statistic fără diferențe semnificative.

Rezultatele obținute la monitorizarea numărului de leucocite în sângele șobolanilor în cadrul celor 6 loturi, până la administrarea balsamului sau alcoolului și peste 15 zile de administrare a acestora sunt prezentate în tabelul 5.8.

**Tabelul 5.8. Influența balsamului Spirupotent asupra numărului de leucocite în sângele șobolanilor (mii/ $\mu$ l)\***

Grupul de animale	Termenul de observare	
	Până la administrare	După 15 zile de administrare
Martor	9,6 $\pm$ 0,2	9,6 $\pm$ 0,3
Balsam	9,4 $\pm$ 0,4	9,6 $\pm$ 0,3
Alcool	9,4 $\pm$ 0,3	9,5 $\pm$ 0,2
Cesiu-137	9,1 $\pm$ 0,1	9,2 $\pm$ 0,2
Cesiu-137 și balsam	9,2 $\pm$ 0,1	9,4 $\pm$ 0,3
Cesiu-137 și alcool	9,2 $\pm$ 0,2	9,1 $\pm$ 0,3

\* Descrierea grupurilor de animale – ca în tabelul 5.6.

S-a observat, că la o administrare de lungă durată a balsamului, alcoolului, precum și la tratare cu cesiu numărul de leucocite în sângele șobolanilor s-a menținut în limitele normei și statistic fără diferențe semnificative. Cu toate acestea, în formula leucocitară s-au înregistrat modificări semnificative: în particular, la animalele tratate o perioadă îndelungată cu radionuclid de cesiu s-a constatat reducerea numărului de limfocite, iar la animalele tratate cu cesiu în asociere cu balsam – mărirea acestora.

Următorul parametru sanguin monitorizat a fost viteza de coagulare a sângelui. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 5.9.

**Tabelul 5.9. Influența balsamului Spirupotent asupra timpului de coagulare a sângelui la șobolani (secunde)\*\***

Grupul de animale	Termenul de observare	
	Până la administrare	După 15 zile de administrare
Martor	101,0 $\pm$ 4,6	102,3 $\pm$ 5,4
Balsam	105,5 $\pm$ 5,1	96,4 $\pm$ 6,1
Alcool	102,4 $\pm$ 5,8	115,2 $\pm$ 5,3
Cesiu-137	106,1 $\pm$ 7,4	41,8 $\pm$ 4,1*
Cesiu-137 și balsam	105,7 $\pm$ 6,2	97,5 $\pm$ 5,6
Cesiu-137 și alcool	102,5 $\pm$ 6,3	49,4 $\pm$ 6,1*

\*P<0, 001 comparativ cu lotul martor; \*\* Descrierea grupurilor de animale – ca în tabelul 5.6.

La șobolanii tratați cu cesiu-137 peste 15 zile de iradiere s-a înregistrat o reducere statistic concludentă (de 2,5 ori față de nivelul de la începutul experienței) a timpului de

coagulare a sângelui. Administrarea balsamului în calitate de remediu curativ-profilactic făcea această diferență neconcludentă statistic, readucând acest parametru în limitele normalității. În cazul suplimentării hranei șobolanilor cu soluție hidro-etanolică de 42% pe fon de iradiere nu a ameliorat parametrul de coagulare a sângelui. Valorile acestuia în lotul respectiv de animale a rămas de aproape două ori mai jos comparativ cu starea de la începutul experienței.

Aceste rezultate atestă, că componentele vegetale din compoziția de balsam Spirupotent exercită un efect benefic, normalizând timpul de coagulare a sângelui. Un astfel de efect este caracteristic pentru câteva constituențe ale balsamului, cum ar fi, sovârvul, pinul obișnuit și coada-șoricelului. Prin capacitatea de a normaliza timpul de coagulare a sângelui poate fi explicat numărul redus de hemoragii la sacrificarea animalelor din acest lot.

Rezultatele obținute la monitorizarea parametrilor biochimici ai sângelui șobolanilor în cadrul celor 6 loturi, până la administrarea balsamului sau alcoolului și peste 15 zile de administrare a acestora sunt prezentate în tabelul 5.10.

S-a observat, că la administrarea balsamului pe durata a 15 zile experimentale animalelor neiradiate cantitatea de glucoză în sânge nu s-a modificat, astfel, între primele trei loturi de animale experimentale diferențe statistic semnificative ale acestui parametru nu au fost înregistrate. Același lucru a fost observat în cadrul celor trei loturi de animale expuse acțiunii radiației pe durata a 15 zile. Cantitatea de glucoză în sângele animalelor din diferite loturi experimentale nu a înregistrat deviații semnificative din punct de vedere statistic.

Cantitatea de lipide, proteine și de uree în sângele șobolanilor, de asemenea, pot fi apreciați ca un parametri stabili. Atât între loturile de animale supuse iradierii (loturile 4-6), cât și în cele de referință (1-3) diferențe veridice din punct de vedere statistic al acestor indicatori biochimici nu au fost observate. Excepție a prezentat activitatea alaninaminotransferazei, care a înregistrat nivele ridicate la toate animalele tratate cu cesiu-137. Suplimentarea hranei acestor animale cu soluție hidro-etanolică de 42% nu a influențat activitatea acestei enzime, însă, la animalele care au primit suplimentar balsam Spirupotent sau balsam B-1377 nivelul activității enzimei era identic nivelului înregistrat în lotul martor [180, 183].

Deoarece creșterea activității alaninaminotransferazei este un criteriu de evidențiere a proceselor citolitice în ficat, declanșate în condițiile acțiunii radiației ionizante, putem afirma că radiația a avut un efect negativ pronunțat asupra stării funcționale a ficatului. În același timp, administrarea suplimentară a balsamului a ameliorat semnificativ această situație.

**Tabelul 5.10. Influența balsamului Spirupotent asupra unor indicatorilor biochimici ai sângelui la șobolani**

Condițiile de testare	Termenul de observare	
	Până la administrare	După 15 zile de administrare
Glucoza, mg%		
Martor	84,6±2,2	84,7±3,6
Balsam	86,8±2,3	89,5±3,1
Alcool	85,5±3,4	85,9±1,3
Cesiu-137	87,8±3,7	88,5±0,9
Cesiu-137 și balsam	85,3±3,2	89,7±2,3
Cesiu-137 și alcool	85,2±2,5	86,6±4,1
Lipide, g/l		
Martor	5,4±0,1	5,5±0,2
Balsam	5,3±0,1	5,4±0,1
Alcool	5,5±0,2	5,8±0,3
Cesiu-137	5,1±0,2	5,3±0,3
Cesiu-137 și balsam	5,4±0,4	5,3±0,2
Cesiu-137 și alcool	5,4±0,2	5,6±0,3
Urea, mM/l		
Martor	7,03±0,09	7,07±0,18
Balsam	7,13±0,09	7,13±0,14
Alcool	7,33±0,27	7,17±0,09
Cesiu-137	6,50±0,30	6,83±0,13
Cesiu-137 și balsam	7,10±0,15	6,97±0,22
Cesiu-137 și alcool	6,87±0,20	7,00±0,25
Proteina, g%		
Martor	6,59±0,25	6,60±0,16
Balsam	6,55±0,08	6,43±0,16
Alcool	6,46±0,34	6,20±0,35
Cesiu-137	6,43±0,22	6,51±0,41
Cesiu-137 și balsam	6,56±0,18	6,52±0,15
Cesiu-137 și alcool	6,54±0,24	6,20±0,31
Alaninaminotransferaza, mM/l		
Martor	1,55±0,11	1,58±0,09
Balsam	1,51±0,12	1,52±0,06
Alcool	1,49±0,24	1,61±0,22
Cesiu-137	1,51±0,15	2,04±0,04*
Cesiu-137 și balsam	1,52±0,08	1,50±0,14
Cesiu-137 și alcool	1,52±0,15	1,90±0,11*

\*P<0,001 comparativ cu situația de până la administrare.

Este cunoscut faptul, că componentele vegetale ale balsamului posedă proprietăți de stabilizare a membranelor celulare, ceea ce asigură o protecție eficientă pentru hepatocitele afectate de efectele distructive ale radiației ionizante. Ca rezultat al stabilizării membranelor hepatocitelor nu mai are loc eliberarea accelerată a markerului enzimatic alaninaminotransferaza, ceea ce a și fost fixat experimental.

*Starea organelor interne la animalele tratate cu  $^{137}\text{Cs}$ , hrana cărora se suplimenta cu balsam Spirupotent*

Examenul histologic și microscopic al țesuturilor cerebrale, hepatice și intestinale a fost realizat pentru animalele din 3 loturi a câte 15 animale. Primul lot a fost constituit din animale netratate, lotul martor. Rezultatele obținute în cadrul acestui lot au fost considerate ca date de referință pentru cele două loturi experimentale, dintre care primul a inclus animale care timp de 15 zile au fost tratate cu cesiu radioactiv în doză de 600 Bq, iar al doilea a inclus animalele, hrana cărora pe fondul tratării cu cesiu a fost suplimentată cu balsam Spirupotent.

La autopsia animalelor tratate cu  $^{137}\text{Cs}$  la 9 animale a fost constatată hiperemia și mărirea masei hepatice (cu 20% față de martor). În 6 cazuri ficatul nu era mărit, însă avea semne clare de hiperemie. În 6 cazuri s-a înregistrat de asemenea și o hiperemie pulmonară. În alte sisteme și organe alterări, comparativ cu lotul martor, nu s-au înregistrat.

La examenul microscopic au fost observate alterări distructiv-distrofice de diferită severitate în parenchimul tuturor organelor examinate. Aceste alterări au fost determinate de tulburările de vascularizare ale acestor organe, mai severe fiind cele din parenchimul hepatic și în țesuturile cerebrale. Alterările distructiv-distrofice ale celulelor parenchimului hepatic, în majoritatea neuronilor și celulelor neurogliei au un caracter secundar, deoarece celulele modificate distrofic se situează preponderent în sectoarele cu o circulație capilară și intraviscerală afectată. Totodată, nu se exclude completamente și influența directă a radionuclizilor asupra stării morfofuncționale a celulelor epiteliale și, în particular, a celulelor epiteliale cilindrice intestinale, deoarece reacția histochimică pentru determinarea permeabilității membranelor a demonstrat, că radionuclizii introduși cu hrana alterează sever permeabilitatea membranelor microvilozităților celulelor epiteliale intestinale.

În lotul de animale tratate cu cesiu, hrana cărora a fost suplimentată cu balsam, la 6 animale sacrificate a fost constatată hiperemia și mărirea nesemnificativă a ficatului. La aceleași animale s-a înregistrat și hiperemie pulmonară de stază. La celelalte 9 animale starea organelor interne nu se deosebea de cea la animalele din lotul de comparație. La examenul microscopic efectuat pe materialele biologice colectate de la animalele din acest lot s-a remarcat o ameliorare a stării celulelor parenchimoase hepatice, cât și a neuronilor cerebrali pe fondul normalizării circulației. Cu toate acestea, a fost înregistrată distrucția vaselor mici și afectarea selectivă a neuronilor cerebrali, cât și a celulelor parenchimoase hepatice. Nu au fost înregistrate tulburări severe ale permeabilității membranelor, în special, în celulele epiteliale ale vilozităților intestinului subțire și ale membranelor bazale ale capilarelor intraviscerale. În unele celule, inclusiv cele parenchimoase hepatice și neuronii cerebrali, se intensifică procesele de

regenerare intracelulară, drept confirmare a evoluției proceselor compensatorii și regenerative direcționate spre menținerea homeostaziei intracelulare și normalizarea stării morfofuncționale a organelor respective.

### 5.3. Efectele biologice ale balsamurilor în cancerul organelor reproductive și glandei mamare și disfuncții sexuale

În scopul evidențierii efectelor biologice ale 5 balsamuri noi au fost inițiate studii clinice, fiecare dintre ele incluzând 80 paciente cu diagnostic oncologic, grupate în 4 loturi: I grup - 20 femei cu diagnosticul CGM după polichimioterapie neoadjuvanta care au primit terapia de baza + unul dintre balsamurile noi; II grup - 20 femei cu diagnosticul CGM după polichimioterapie neoadjuvanta care au primit doar terapia de baza; III grup - 20 femei cu diagnosticul CORF (colul uterin, uterul, anexele) asociată cu chimioterapie care au primit terapia de baza + unul dintre balsamurile noi; IV grup - 20 femei cu diagnosticul CORF (colul uterin, uterul, anexele) asociata cu chimioterapie care au primit doar terapia de bază.

Balsamurile a fost administrate în modul următor: 20ml de balsam au fost diluați în 100 ml apă, ceai sau suc de fructe și s-a luat de trei ori pe zi cu 30 min înainte de masă, timp de 1 lună. Rezultatele testării balsamului 1368 sunt prezentate în tabelele 5.11 - 5.14.

**Tabelul 5.11. Evoluția sindroamelor la pacientele cu CGM și CORF sub influența balsamului B\_1377**

Sindroame	Loturile pacientelor cu CGM				Loturile pacientelor cu CORF			
	Experimental		Martor		Experimental		Martor	
	Inițial	Final	Inițial	Final	Inițial	Final	Inițial	Final
<b>Astenovegetativ</b>	10(50%)	1(5%)	10(50%)	10(50%)	11(55%)	4(20%)	11(60%)	11(60%)
<b>Dispeptic</b>	5(25%)	1(5%)	6(30%)	6(30%)	6(25%)	1(5%)	6(30%)	6(30%)
<b>Dolor</b>	3(15%)	1(5%)	2(10%)	2(10%)	2(15%)	1(5%)	1(10%)	1(10%)
<b>Hemoragic</b>	2(10%)	0	2(10%)	2(10%)	1(5%)	0	2(10%)	1(10%)

În grupul experimental format din paciente diagnosticate cu CGM, ca rezultat al administrării balsamului pe o durată de 30 de zile a dus la o diminuare semnificativă a numărului pacientelor cu sindrom astenovegetativ (de 10 ori), cu sindrom dispeptic – de 5 ori, cu sindrom dolor de 3 ori, iar sindromul hemoragic nu a mai fost înregistrat.

Rezultate asemănătoare au fost obținute și în grupul pacientelor cu CORF. Astfel, numărul pacientelor cu sindrom astenovegetativ a scăzut de la 11 la 4; a celor cu sindrom

dispeptic – de la 6 la 1; a celor cu sindrom dolor – de la 2 la 1, iar sindromul hemoragic a fost omis.

**Tabelul 5.12. Evoluția parametrilor hematologici la pacientele cu CGM și CORF sub influența balsamului B\_1377**

Parametri hemato- logici	Loturile pacientelor cu CGM				Loturile pacientelor cu CORF			
	Experimental		Martor		Experimental		Martor	
	Inițial	Final	Inițial	Final	Inițial	Final	Inițial	Final
Hemoglobin a, g/l	124±0,5	127± 0,2	112±0,1 4	113,0±0, 16	112,7±0, 3	121,4±0 ,3	108±0,1	109±0, 2
Eritrocite, *10 <sup>12</sup>	3,5±0,02	3,8 ±0,03	3,53±0, 03	3,54±0,0 4	4,2±0,03	4,7 ±0,3	3,3±0,02	3,4±0, 02
Leucocite. * 10 <sup>9</sup>	3,3±0,17	4,0± 0,02	3,4±0,1	3,4± 0,3	4,1±0,05	4,8± 0,02	3,2±0,1	3,3± 0,2
Trombocite, *10 <sup>3</sup> /mL	150±0,0 001	162 ±0,0002	176±0,0 002	177 ±0,0003	160±0,00 02	174 ±0,0003	160±0,00 02	160 ±0,000 2
Nesegmentat e	0,050	0,08	0,035	0,035	0,033	0,044	0,035	0,036
Segmentate	2000	5150	2002	2002	2003	2011	2001	2001
Eozinofile, *10 <sup>3</sup> /mL	0,8%	2,0%	0,5%	0,6%	0,6%	0,9%	0,7%	0,7%
Limfocite. *10 <sup>9</sup> /lmL	1245	2700	1200	1235	1223	1452	1230	1245

Parametrii hematologici de asemenea au fost îmbunătățiți la pacientele cu cele două tipuri de cancer, care au primit balsam (tabelul 5.12). Astfel, nivelul de hemoglobină a crescut în grupul pacientelor cu CORF, cantitatea de eritrocite, leucocite și trombocite a crescut în ambele grupuri experimentale, la fel ca și cantitatea de limfocite.

Parametrii biochimici ai sângelui de asemenea au suferit anumite modificări pozitive în grupurile experimentale, unde pacientele au primit balsam pe durata a 30 de zile. Astfel, la pacientele cu ambele forme de cancer din grupurile experimentale a scăzut nivelul alaninaminotransferazei, aspartataminotransferazei, bilirubinei totale și neconjugate și ureei și a creatininei.

Astfel, nivelul alaninaminotransferazei în lotul experimental al pacientelor cu CGM de la 66±0,5 U/l la începutul experienței a scăzut la 51±0,3 la finalul acesteia (adică timp de 30 zile).

**Tabelul 5.13. Evoluția parametrilor biochimici la pacientele cu CGM și CORF sub influența balsamului B\_1377**

Parametri hemato- logici	Loturile pacientelor cu CGM				Loturile pacientelor cu CORF			
	Experimental		Martor		Experimental		Martor	
	Inițial	Final	Inițial	Final	Inițial	Final	Inițial	Final
ALT, u/L	66±0,5	51±0,3	71,2±0,8	70,3±0,3	64±0,6	60±0,4	70,8±0,1	70,4±0,2
AST, u/L	69±9,3	50,1±1,2	72,6±0,2	64,8±0,1	72,1±0,4	65,4±0,2	71,6±0,4	71,8±0,2
FA, u/L	34,4±0,6	35±0,3	31,3±0,2	33,06±0,3	32,1±0,5	30,6±0,3	32,8±0,6	32,6±0,6
γGTP, u/L	24,4±0,6	19,2±0,6	21,5±0,6	21,6±0,7	21,2±0,9	19,4±0,3	21,0±0,6	21,0±0,4
Bilirubina totală, mM/L	22,8±1,6	19,1±1,4	21,4±0,3	22,1±0,1	23,5±0,9	20,5±0,1	23±0,2	22,4±0,8
Bilirubina neconjugată, mM/L	14,1±0,7	12,0±0,1	14,1±1,9	14,2±1,8	12,8±0,3	10,6±0,2	13,02±0,3	13,5±0,4
Albumina, g/L	33,3±2,3	37,6 ±1,7	31,6±1,7	32,4 ±1,8	33,2±0,2	37 ±0,1	34±0,8	35,1±0,1
Uree, mM/L	9,1 ±0,5	7,8±0,2	7,2 ±0,2	8,1±0,1	9,1 ±0,2	7,2±0,3	7,3 ±0,3	7,1±0,3
Creatinina, mM/L	136 ±1,8	118±1,6	119 ±0,3	120±0,4	125,7 ±0,2	111±0,7	120 ±0,7	118±0,3
Proteina totală, g/L	73,1±1,6	76,2±0,9	69,4±0,9	70,1±0,1	68,4±0,8	73±0,2	70,5±0,8	70,8±0,1
Glucoza, mM/L	4,1±0,1	3,6±0,2	4,3±0,2	4,6±0,2	4,2±0,2	3,9±0,3	3,9±0,3	4,2±0,4
Colesterol, mM/L	5,43±0,1	4,0±0,1	4,63±0,1	4,82±0,1	4,358±0,1	4,9±0,1	4,7±0,1	5,0±0,2
β/lipoproteine, mmol/l	3,6±0,2	3,9±0,2	3,66±0,2	3,84±0,6	3,3±0,2	3,7±0,9	3,5±0,3	3,8±0,2
Trigliceride, mM/L	0,41±0,06	0,44±0,07	0,38±0,08	0,38±0,09	0,33±0,05	0,37±0,02	0,40±0,1	0,42±0,1
α/fetoproteine, u/ml	4,3±0,1	6,9±0,2	4,79±0,1	4,81±0,2	4,2±0,2	4,9±0,2	4,8±0,3	4,85±0,3

În lotul pacientelor cu CORF acest parametru de asemenea a scăzut semnificativ din punct de vedere statistic, dar mai puțin decât în grupul pacientelor cu CGM – de la 64±0,6 la 60±0,4. Același lucru s-a observat și pentru aspartataminotransferazei, activitatea căreia a scăzut cel mai mult (de la 69±2,3 la 50,1±1,2 U/l).

De asemenea, a fost observată o majorare a albuminei, proteinei totale și a feroproteinelor. Astfel proteinele totale în grupul pacientelor cu CGM, care au primit balsam au crescut de la 73,1 la 76,2 g/l, iar în grupul pacientelor cu CORF – de la 68,4 la 73,0 g/l. (Tabelul 5.14.).

Indicii imunologici de asemenea au avut o evoluție pozitivă la pacientele cu CGM și CORF, care au primit timp de o lună balsam curativo-profilactic (tabelul 5.14).

Astfel, a crescut numărul de limfocite T (CD+), T helperi (CD3+ CD4+), și limfocite citotoxice (CD3+CD8). De asemenea, a crescut valoarea indicelui imunoregulator (CD3+ CD4+/CD3+ CD8+), în grupul experimental al pacientelor cu CGM de la 1,7±0,02 la 2,5±0,04,



iar în grupul experimental al pacienților cu CORF – de la  $1,9 \pm 0,3$  la  $2,6 \pm 0,3$ . A scăzut nivelul factorului de necroză tumorală (TNF) în lotul pacienților cu CGM, care au primit balsam – de la  $4,5 \pm 0,2$  la  $3,6 \pm 0,3$ .

**Tabelul 5.14. Evoluția parametrilor imunologici la pacientele cu CGM și CORF sub influența balsamului B\_1377**

Parametri hemato- logici	Loturile pacienților cu CGM				Loturile pacienților cu CORF			
	Experimental		Martor		Experimental		Martor	
	Inițial	Final	Inițial	Final	Inițial	Final	Inițial	Final
IgM, mg/dL	$1,05 \pm 0,02$	$0,79 \pm 0,06$	$1,05 \pm 0,03$	$1,05 \pm 0,03$	$1,02 \pm 0,3$	$1,6 \pm 0,3$	$1,03 \pm 0,5$	$1,04 \pm 0,6$
IgG, mg/dL	$7,03 \pm 0,6$	$8,0 \pm 0,3$	$6,7 \pm 0,4$	$6,7 \pm 0,4$	$6,2 \pm 0,4$	$7,1 \pm 0,5$	$6,5 \pm 0,2$	$6,5 \pm 0,2$
IgA, mg/dL	$0,84 \pm 0,14$	$1,9 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,3$	$1,0 \pm 0,3$	$0,8 \pm 0,3$	$1,1 \pm 0,2$	$0,8 \pm 0,3$	$0,92 \pm 0,3$
T limfocite (CD+)	$64,3 \pm 0,52$	$73,3 \pm 0,24$	$67,5 \pm 0,37$	$67,8 \pm 0,25$	$15,5 \pm 0,2$	$19,1 \pm 0,1$	$65,9 \pm 0,5$	$66,1 \pm 0,5$
T helperei (CD3+CD4+)	$0,3 \pm 0,02$	$0,7 \pm 0,06$	$0,36 \pm 0,01$	$0,38 \pm 0,01$	$23,1 \pm 0,1$	$26,2 \pm 0,1$	$0,37 \pm 0,02$	$0,38 \pm 0,02$
Limfocite citotoxice (CB3+CD8)	$0,4 \pm 0,02$	$0,8 \pm 0,02$	$0,3 \pm 0,004$	$0,3 \pm 0,004$	$9,9 \pm 0,2$	$12,7 \pm 0,2$	$0,3 \pm 0,002$	$0,3 \pm 0,002$
Indicele imunoreglator (CD3+CD4+ / CD3+CD8)	$1,7 \pm 0,02$	$2,5 \pm 0,04$	$1,7 \pm 0,001$	$1,7 \pm 0,002$	$1,9 \pm 0,3$	$2,6 \pm 0,3$	$1,7 \pm 0,003$	$1,7 \pm 0,003$
Factor de necroză a tumorii (FNT, pg/mL.	$4,5 \pm 0,2$	$3,6 \pm 0,3$	$4,2 \pm 0,3$	$4,3 \pm 0,5$	$3,8 \pm 0,3$	$4,4 \pm 0,3$	$4,5 \pm 0,5$	$4,6 \pm 0,5$

Pentru celelalte 4 balsamuri elaborate rezultatele investigațiilor au fost foarte asemănătoare cu cele arătate mai sus, păstrându-se aceleași direcții de modificare pentru parametrii hematologici, biochimici și imunologici.

#### *Acțiunea biologică a balsamului Spirupotent cu efect afrodisiac*

Balsamul cu efect afrodisiac a fost aplicat la 32 de pacienți care manifestau semne clinice de scădere a libidoului, la 29 dintre ei s-au înregistrat schimbări semnificative de creștere a testosteronului în sânge, în medie cu  $3,6$  nmol/L, în decurs de 60 zile față de datele de până la utilizarea balsamului revendicat. De rând cu aceasta la pacienții din grupul experimental s-a observat ameliorarea somnului, a crescut nivelul de concentrare. Studiul clinic s-a efectuat în conformitate cu legislația R. Moldova și luând în considerație principiile legislației internaționale și a Declarației de la Helsinki.

#### 5.4. Concluzii la capitolul 5

1. Balsamurile curativo-profilactice noi se caracterizează prin toxicitate joasă, dozele semiletale fiind de  $45,7 \pm 1,5$  ml/kg (cu 5,2 ml/kg mai mare ca doza semiletală a alcoolului de tărie echivalentă) pentru șobolani și de  $30,8 \pm 1,4$  ml/kg pentru șoareci (cu 6,8 ml/kg mai mare ca doza semiletală a alcoolului de tărie echivalentă), iar componentele balsamului atenuază efectele toxice ale soluției hidro-etanolice de concentrație echivalentă (42%).

2. Administrarea balsamurilor curativo-profilactice pe o durată de până la 6 luni, în doze zilnice ce constituie 1, 5 și 10% din doza semiletală nu duc la moartea animalelor, nu perturbază creșterea și dezvoltarea lor, nu modifică temperatura corpului și alți parametri fiziologici, deci nu manifestă toxicitate cronică. De asemenea, administrarea balsamurilor curativo-profilactice nu conduce la apariția efectelor toxice asupra sistemului nervos central, ficatului, plămânilor și altor organe, precum și asupra parametrilor hematologici.

3. Administrarea balsamurilor curativo-profilactice în asociere cu radionuclidul  $^{137}\text{Cs}$  contribuie la o accelerare moderată a eliminării cesiului radioactiv din organismul animalelor [179].

4. La suplinirea hranei animalelor tratate cu cesiu radioactiv cu balsam Spirupotent se remarcă o îmbunătățire a indicatorilor funcțiilor afectate în urma tratării cu izotop (timpul de coagulare a sângelui și activitatea alaninaminotransferazei revin la nivelul normal).

5. Administrarea balsamurilor curativo-profilactice animalelor iradiate conduce la ameliorarea stării celulelor parenchimotoase hepatice, cât și a neuronilor cerebrali pe fondul normalizării circulației sangvine.

6. Suplimentarea rației alimentare a pacientelor cu CGM și CORF cu balsamuri curativo-profilactice duce la micșorarea semnificativă a numărului de paciente cu sindrom astenovegetativ, dispeptic, dolo și hemoragic [192-196].

7. Administrarea balsamurilor curativo-profilactice de către pacientele cu CGM și CORF duce la modificări pozitive ale parametrilor imunologici și biochimici: creșterea numărului de T helperi  $\text{CD3}^+ \text{CD4}^+$ , creșterea valorii indicelui imunoregulator ( $\text{CD3}^+ \text{CD4}^+ / \text{CD3}^+ \text{CD8}^+$ ), scăderea nivelului factorului de necroză al tumorilor (TNF), îmbunătățirea formulei leucocitare, scăderea nivelului de ALT, AST, GTP, bilirubină, uree și creatinină [192 – 196].

8. Administrarea balsamului curativo-profilactic Spirupotent de către pacienții cu semne clinice de scădere a libidoului pe durata a 60 de zile a dus la creșterea nivelului de testosteron în sânge în medie cu 3,6 nM/l, la ameliorarea somnului și creșterea nivelului de concentrare [175, 191].

## CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

Aspectele elucidate pe parcursul realizării tezei de doctorat „Tehnologii de obținere a produselor curativo-profilactice din materii prime de origine vegetală autohtone” pot fi exprimate prin următoarele concluzii generale:

1. Capacitatea antioxidantă totală a extractelor din materia vegetală și cianobacterană este un criteriu util de control al procesului tehnologic de producere și al eficienței balsamurilor curativo – profilactice noi.
2. Extractele hidro – etanolice din rădăcina de lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra L.*), rizomii de obligeană (*Acorus calamus L.*), partea aeriană de sunătoare (*Hypericum perforatum L.*), partea aeriană de sovârv (*Origanum vulgare L.*), frunze de izmă bună (*Mentha piperita L.*), partea aeriană de coada-șoricelului (*Achillea millefolium L.*), muguri de pin (*Pinus sylvestris L.*) posedă proprietăți antioxidante pronunțate, ceea ce permite a le selecta în calitate de componente de bază ale balsamurilor curativo-profilactice noi [178].
3. Activitatea antioxidantă a extractelor din plante și cianobacteria *Spirulina platensis* depinde de concentrația etanolului în soluție, timpul de contact al solventului cu biomasa și de tipul de extracție aplicat. Cea mai înaltă activitate antioxidantă este caracteristică extractelor obținute prin macerare repetată a biomasei vegetale [178, 179, 191, 203].
4. Noile rețete de balsamuri curativo – profilactice, elaborate în cadrul acestui studiu, asigură obținerea unor produse cu proprietăți organoleptice îmbunătățite [176, 193-197].
5. Tehnologiile elaborate de producere a balsamurilor curativo-profilactice noi se bazează pe o schemă universală, simplu de realizat, care permite obținerea unor produse cu antioxidantă performantă stabilă, care depășește activitatea maceratului din amestecurile vegetale corespunzătoare de 3,73 – 5,26 ori, iar pe cea a extractelor din componentele individuale vegetale – de 63-190 ori [203].
6. Balsamurile curativo-profilactice noi se caracterizează prin nivel scăzut de toxicitate cronică și acută, determinat de conținutul de alcool. Componentele vegetale ale balsamului atenuază efectele toxice ale soluției hidro-etanolice de concentrație echivalentă
7. Balsamurile curativo-profilactice noi manifestă efect radioprotector, exprimat prin accelerarea moderată a eliminării cesiului radioactiv din organism [180, 183].
8. În tratamentul chimioterapic recomandat al CGM și CORF administrarea suplimentară de balsamuri curativo-profilactice noi duce la reducerea numărului de pacienți cu sindrom

astenovegetativ, dispeptic, doli și hemoragic, precum și la reglarea parametrilor imunologici și biochimici deplasați [192-196].

Rezultatul obținut care contribuie la soluționarea **problemei importante** de obținere a produselor de origine naturală cu proprietăți curativo – profilactice, constă în fundamentarea științifică a utilizării în calitate de criteriu de control al eficienței produselor noi a capacității antioxidante a acestora, aplicarea căruia a condus la elaborarea rețetelor și tehnologiilor de producere a 6 balsamuri noi cu efecte biologice determinate, destinate utilizării lor în tratamentul și profilaxia diferitor maladii și stări patologice.

**Aportul personal:** Designul cercetării a fost realizat de către autor sub îndrumarea conducătorului științific. În materialele care reflectă conținutul brevetelor de invenție autorului îi revine cota parte în corespundere cu lista autorilor. Investigarea efectelor biologice ale balsamurilor curativo – profilactice noi au fost realizate în cadrul IMSP Institutul de Oncologie sub conducerea profesorului universitar Mereuță Ion și la Institutul de Radiologie al Academiei de științe Medicale din Kiev, Ucraina. Toate celelalte rezultate obținute, analiza lor, generalizările și concluziile aparțin integral autorului.

### **Recomandări practice**

1. Se recomandă utilizarea în calitate de criteriu de control al eficienței produselor curativo – profilactice în bază de extracte naturale și cianobacteriene a capacității antioxidante a acestora.
2. Se recomandă utilizarea balsamului Spirupotent în disfuncții sexuale moderate, dereglări ale somnului și concentrației.
3. Se recomandă administrarea balsamurilor din grupul Făt - Frumos ca remedii adjuvante în tratamentul CGM și CORF.

### **Sugestii privind cercetări de perspectivă**

1. Extinderea cercetărilor în scopul elucidării mecanismelor de acțiune a noilor balsamuri curativo - profilactice.
2. Continuarea cercetărilor de descoperire a noilor formule de balsamuri curativo – profilactice în baza materiilor prime autohtone.

## BIBLIOGRAFIE

1. ABDEL-DAIM, M.M., FAROUK, S.M., MADKOUR, F.F., AZAB, S.S. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of *Spirulina platensis* in comparison to *Dunaliella salina* in acetic acid-induced rat experimental colitis. In: *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 2015, nr.37(2), pp.126-139. ISSN · 0892-3973.
2. ADEGBOLA, P., ADERIBIGBE, I. , HAMMED, W, OMOTAYO, T. Antioxidant and anti-inflammatory medicinal plants have potential role in the treatment of cardiovascular disease: a review. In: *American Journal of Cardiovascular Diseases*. 2017, nr.7(2), pp.19-32. ISSN: 2160-200X
3. AGARWAL, C., VELURI, R., KAUR, M., CHOU, S.-C., THOMPSON, J.A., AGARWAL, R. Fractionation of high molecular weight tannins in grape seed extract and identification of procyanidins B2-3,3'-diO-gallate as a major active constituent causing growth inhibition and apoptotic death of DU145 Human prostate carcinoma cells. In: *Carcinogenesis*. 2007, nr.28, pp.1478–1484. ISSN 0143-3334
4. AHMED, O.M., HASSAN, M.A., ABDEL-TWAB, S.M., ABDEL AZEEM, M.N. Navel orange peel hydroethanolic extract, naringin and naringenin have anti-diabetic potentials in type 2 diabetic rats. In: *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2017, nr 94, pp. 197-205. ISSN: 0753-3322
5. AKHTAR, I, J.AVAD, S., YOUSAF, Z., IQBAL S, JABEEN K. Review: Microwave assisted extraction of phytochemicals an efficient and modern approach for botanicals and pharmaceuticals. In: *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2019, nr 32(1), pp. 223-230. ISSN, 1011-601X
6. ALI, S.I., GOPALAKRISHNAN, B., VANKATESALU, V. Pharmacognosy, Phytochemistry and Pharmacological Properties of *Achillea millefolium* L.: A Review. In: *Phytotherapy Research*. 2017, nr 31(8), pp.1140-1161. ISSN:1099-1573.
7. AL-WAILI, N., AL-WAILI, H., AL-WAILI, T., SALOM, K. Natural antioxidants in the treatment and prevention of diabetic nephropathy; a potential approach that warrants clinical trials. In: *Redox Report*. 2017, nr 22(3), pp.99-118. ISSN: 1351-0002.
8. AMALINEI, R.L., TRIFAN, A., CIOANCA, O., MIRON, S.D., MIHAI, C.T., ROTINBERG, P., MIRON, A. Polyphenol-rich extract from *Pinus sylvestris* L. bark--chemical and antitumor studies. In: *Revista Medico-Chirurgicala a Societatii de Medici si Naturalisti din Iasi*. 2014, nr. 118(2), pp.551-557. ISSN: 0300-8738

9. ANTUNES VIEGAS, D., PALMEIRA-DE-OLIVEIRA, A., SALGUEIRO, L., MARTINEZ-DE-OLIVEIRA, J., PALMEIRA-DE-OLIVEIRA, R. *Helichrysum italicum*: from traditional use to scientific data. In: *Journal of Ethnopharmacology*. 2014, nr 151(1), pp.54-65. ISSN: 0378-8741.
10. ANTUNES, K.A., BALDIVIA, D.D., DA ROCHA, P.D., CASAGRANDE, J.C., ARGANDONA, E.J., VIERA M.D., CARDOSO, C.A., DOS SANTOS, E.L., DE PICOLI SOUZA, K.. Antiobesity Effects of Hydroethanolic Extract of *Jacaranda decurrens* Leaves. In: *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2016, nr 2016, pp. 4353604. ISSN: 1741-4288.
11. ASHA, M.K., DEBRA, J. D., DETHE, S., BHASKAR, A., MURUGANANTHAM, N., DEEPAK, M. Effect of Flavonoid-Rich Extract of *Glycyrrhiza glabra* on Gut-Friendly Microorganisms, Commercial Probiotic Preparations, and Digestive Enzymes. In: *Journal of Dietary Supplements*. 2017, nr 14(3), pp.323-333.ISSN: 1939-0211
12. ATANASOV, A.G., WALTENBERGER, B., PFERSCHY-WENZIG, E.M., LINDER, T., WAWROSCHE, C., et al. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. In: *Biotechnology Advances*. 2015, nr 33(8), pp 1582–1614. ISSN 0734-9750
13. BAIANO, A.; DEL NOBILE, M.A. Antioxidant compounds from vegetable matrices: Biosynthesis, occurrence, and extraction systems. In: *Critical Reviews Food Science and Nutrition*. 2015, nr 56, pp. 2053–2068. ISSN: 1040-8398.
14. BALUSAMY, S.R., PERUMALSAMY, H., HUQ, M.A., BALASUBRAMANIAN, B. Anti-proliferative activity of *Origanum vulgare* inhibited lipogenesis and induced mitochondrial mediated apoptosis in human stomach cancer cell lines. In: *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2018, nr 108, pp.1835-1844. ISSN: 0753-3322.
15. BARANAUSKAITĖ, J., JAKŠTAS, V., IVANAUSKAS, L., KOPUSTINSKIENĖ, D.M., DRAKŠIENĖ, G., MASTEIKOVA, R., BERNATONIENĖ, J.. Optimization of carvacrol, rosmarinic, oleanolic and ursolic acid extraction from oregano herbs (*Origanum onites* L., *Origanum vulgare* spp. *hirtum* and *Origanum vulgare* L.). In: *Natural Products Research*. 2016, nr 30(6), pp.672-674. ISSN, 1478-6419.
16. BECKER, LC., BEEGFELD, W.F., BELSITO, D.V., HILL, R.A., et al. Safety Assessment of *Achillea millefolium* as Used in Cosmetics. In: *International Journal of Toxicology*. 2016, nr 35(3 suppl), pp.5S-15S. ISSN: 1091-5818
17. BERMEJO-BESCÓS, P., PINERO-ESTRADA, E., VILLAR DEL FRESNO. A.M. Neuroprotection by *Spirulina platensis* protean extract and phycocyanin against iron-

- induced toxicity in SH-SY5Y neuroblastoma cells. In: *Toxicology In Vitro*. 2008, nr.22(6), pp.1496-1502. ISSN: 0887-2333.
18. BERNABEU, E., CAGEL, M., LAGOMARSINO, E., MORETTON, M., CHIAPPETTA, D.A. Paclitaxel: What has been done and the challenges remain ahead. In: *International Journal of Pharmacology*. 2017, nr 526(1-2), pp.474-495. ISSN, 1812-5700.
  19. BISHT, S., FAIQ, M., TOLAHUNASE, M., DADA, R. Oxidative stress and male infertility. In: *Nature Reviews Urology*. 2017, nr 14(8), pp. 470-485. ISSN: 1759-4812
  20. BONINI, S.A., PREMOLO, M., TAMBARO, .S, KUMAR, A., et al. Cannabis sativa: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. In: *Journal of Ethnopharmacology*. 2018, nr.227, pp.300-315. ISSN: 0378-8741.
  21. BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. In: *Lebensmittel-Wissenschaft und Tehnologies*. 1995, nr 28, pp. 25-30. ISSN, 1096-1127
  22. BRITO DE SOUZA, V., FUJITA, A., THOMAZINI, M., DA SILVA, E.R., ea al. Functional properties and stability of spray-dried pigments from Bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. In: *Food Chemistry*. 2014, nr.164, pp.380–386. ISSN: 0308-8146.
  23. BURIANI, A., GARCIA-BERMEJO, M.L., BOSISIO, E. et al. Omic techniques in systems biology approaches to traditional Chinese medicine research: present and future. In: *Journal of Ethnopharmacology*. 2012, nr 140, pp.535–544. ISSN · 0378-8741
  24. BURNETT, A.L. Novel nitric oxide signaling mechanisms regulate the erectile response. In: *International Journal of Impotence Research*. 2004, nr 16(Suppl 1), pp. S15–S19. ISSN: 0955-9930.
  25. CALINA, D., OLAH, N.K., PATRU, E., DOCEA, A., POPESCU, H., BUBULICA, M.V.. Chromatographic analysis of the flavonoids from robinia pseudoacacia species. In: *Current Health Sciences Journal*. 2013, nr.39(4), pp.232-236. ISSN: 2067-0656.
  26. CASTRILLEJO, V.M., ROMERO, M.M., ESTEVE, M., ARDÉVOL, A., et al. Antioxidant effects of a grapeseed procyanidin extract and oleoyl-estrone in obese Zucker rats. In: *Nutrition*. 2011, nr. 27, pp.1172–1176. ISSN: 0899-9007.
  27. CEPOI, L. et al. Antioxidative activity of ethanol extracts from *Spirulina platensis* and *Nostoc linckia* measured by various methods. In: *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*. 2009, nr XVI/2, pp. 43-48. ISSN, 1224-5119
  28. CERVANTES-LLANOS, M., LAGUMERSINDEZ-DENIS, N., MARIN-PRIDA, J. et al. Beneficial effects of oral administration of C-Phycocyanin and Phycocyanobilin in rodent

- models of experimental autoimmune encephalomyelitis. In: *Life Sciences*. 2018, nr.194, pp.130-138. ISSN: 0024-3205.
29. CHANDRAKANT, K., DERE PRAVIN, J., HONDE BHARAT, S., KOTHULE, S., KOTE AMOL, P. An overview of supercritical fluid extraction for herbal drugs. In: *Pharmacology Online*. 2011; 2: 575-596. ISSN: 1827-8620
  30. CHATTOPADHYAYA, I., GUPTA, S., MOHAMMED, A.<sup>3</sup>, MUSHTAQ, N., et al. Neuroprotective effect of Spirulina fusiform and amantadine in the 6-OHDA induced Parkinsonism in rats. In: *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2015, nr.15, pp.296-303. ISSN, 1472-6882.
  31. CHONPATHOMPIKUNLER, T. P., BOONRUAMKAEW, P., SUKKETSIRI, W., HUTAMEKALIN, P., SROYAYA, M. The antioxidant and neurochemical activity of *Apium graveolens* L. and its ameliorative effect on MPTP-induced Parkinson-like symptoms in mice. In: *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2018, nr.18(1), pp.103-121. ISSN 1472-6882.
  32. CIGANOVIC, P., JAKIMIUK, K., TOMCZYK, M., ZOVKO-KONCIC, M. Glycerolic Licorice Extracts as Active Cosmeceutical Ingredients: Extraction Optimization, Chemical Characterization, and Biological Activity. In: *Antioxidants (Basel)*. 2019, nr.8(10), pp.445-459. ISSN 2076-3921.
  33. COCCIMINGO, J., ALIPOUR, M., JIANG, Z.H., GOTTARDO, C., SUNTRES, Z. Antioxidant, Antibacterial, and Cytotoxic Activities of the Ethanolic *Origanum vulgare* Extract and Its Major Constituents. In: *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016, nr 2016, pp.1404505. ISSN: 1942-0900.
  34. CONCERTO C., BOO, H., HU, C., SANDILYA, P., KRISH, A., CHUSID, E, COIRA, D., AGUGLIA, E., BATTAGLIA, F. *Hypericum perforatum* extract modulates cortical plasticity in humans. In: *Psychopharmacology (Berl)*. 2018, nr 235(1), pp.145-153. ISSN · 0033-3158.
  35. CRAGG, G.M., NEWMAN, D.J. (2013) Natural products: a continuing source of novel drug leads. In: *Biochimica et Biophysica Acta*. 2013, nr 1830, pp.3670–3695. ISSN, 0006-3002
  36. DAVID, B., WOLFENDER, J.-L., DIAS, D. A. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. In: *Phytochemistry Reviews*. 2014, nr 14(2), pp.299–315. ISSN, 1568-7767



37. DE SOUSA GUEDES, J.P., DE SOUZA, E.L. Investigation of damage to *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis* exposed to *Mentha arvensis* L. and *M. piperita* L. essential oils in pineapple and mango juice by flow cytometry. In: *Food Microbiology*. 2018, nr 76, pp.564–571. ISSN: 0740-0020
38. DIAS, D.A., URBAN, S., ROESSNER, U. A historical overview of natural products in drug discovery. In: *Metabolites*. 2012, nr 2(2), pp. 303–336. ISSN 2218-1989
39. DJORDJEVIC, S.M . From Medicinal Plant Raw Material to Herbal Remedies. In: *EL-SHEMY, H. Aromatic and Medicinal Plants - Back to Nature*. IntechOpen, 2017, p. 269-288. ISBN 978-953-51-2977-6
40. DORDEVIC, S., DICKOV, A., PAVKOV, S., TADIĆ, V., ARSIĆ, I., ŽUGIĆ, A. Manufacturing process of high quality phytopreparation on example of herbal sedative. In: *Medicinski Pregled*. 2013, nr 66(3–4), pp.170–176. ISSN: 0025-8105
41. ELSHAFIE, H.S., ARMENTANO, M.F., CARMOSINO, M., BUFO, S.A., DE FEO ,V., CAMELE I. Cytotoxic Activity of *Origanum Vulgare* L. on Hepatocellular Carcinoma cell Line HepG2 and, Evaluation of its Biological Activity. In: *Molecules*. 2017, nr 22(9), pp. E1435. ISSN · 1420-3049.
42. ELSOHLY, M.A., RADWAN, M.M., GUL, W., CHANDRA, S., GALAL, A. Phytochemistry of *Cannabis sativa* L. In: *Progress in Chemistry of Organic and Natural Products*. 2017, nr.103, pp.1-36. ISSN: 2191-7043.
43. ENGELBRECHT, A.M., MATTHEYSE, M., ELLIS, B., LOOS, B., et al. Proanthocyanidin from grape seeds inactivates the PI3kinase/PKB pathway and induces apoptosis in a colon cancer cell line. In: *Cancer Letter*. 2007, nr.258, pp.144–153. ISSN: 0304-3835..
44. ERDEMLI, M.E., AKGUL, H., EGE, B., AKSUNGUR, Z., BAG, H.G., SELAMOGLU, Z. The effects of grapeseed extract and low level laser therapy administration on the liver in experimentally fractured mandible. In: *Journal of Turgut Ozal Medical Center*. 2017, nr.24, pp.127–133. ISSN:1300-1744.
45. FARSAK, M., ÖZDAĞLI, G., ÖZMÜŞ, D., ÇÖMELEKOĞLU, Ü., YALIN, S., BOZDOĞAN ARPACI, R., GEN, R., KANIK, A., ÜMIT TALAS, D. Effects of *Hypericum perforatum* on an Experimentally Induced Diabetic Wound in a Rat Model. In: *Wounds*. 2017, nr.29(2), pp. E10-E17. ISSN:1742-481X

46. FARZANEH, V., CARVALHO, I. S. (2015). A review of the health benefit potentials of herbal plant infusions and their mechanism of actions. In: *Industrial Crops and Products*, 2015, nr 65, pp. 247–258. ISSN 0926-6690
47. FATHI, E., MAJDI, M, DASTAN, D., MAROUFI, A. The spatio-temporal expression of some genes involved in the biosynthetic pathways of terpenes/phenylpropanoids in yarrow (*Achillea millefolium*). In: *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019, nr 142, pp.43-52. ISSN: 0981-9428.
48. FINAMORE, A., PALMERY, M., BENSEHAILA, S., PELUSO, I. Antioxidant, Immunomodulating, and Microbial-Modulating Activities of the Sustainable and Ecofriendly *Spirulina*. In: *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017, nr.2017, pp.3247528. ISSN, 1942-0900.
49. FRAMPTON, J.E. Crofelemer: a review of its use in the management of non-infectious diarrhoea in adult patients with HIV/AIDS on antiretroviral therapy. In: *Drugs*. 2013, nr 73(10), pp.1121-9. ISSN: 0012-6667
50. GADES, N.M., JACOBSON, D.J., MCGREE, M.E., et al. Longitudinal evaluation of sexual function in a male cohort: the Olmsted County Study of Urinary Symptoms and Health Status among Men. In: *Journal of Sexual Medicine*. 2009, nr. 6(9), pp.2455-2466. ISSN: 1743-6095.
51. GAO, C., SHEN, J. (2017). Metabolic Factors and Adult Neurogenesis: Impacts of Chinese Herbal Medicine on Brain Repair in Neurological Diseases. In: ZENG, B-Y., ZHAO, K. *Neurobiology of Chinese Herb Medicine*, India: Academic Press, 2015, pp.117–147. ISBN: 9780128117798
52. GARCÍA-LOMILLO, J., GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M.L., DEL PINO-GARCÍA, R., RIVERO-PÉREZ, M.D., MUÑIZ-RODRÍGUEZ, P. Antioxidant and antimicrobial properties of wine byproducts and their potential uses in the food industry. In: *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2014, nr.62, pp.12595–12602. ISSN 0021-8561
53. GERTSCH, J (2011) Botanical drugs, synergy, and network pharmacology: forth and back to intelligent mixtures. In: *Plant Medicine*. 2011, nr. 77, pp.1086–1098. ISSN 0032-0943
54. GHALI, E., MAURYA, D.K., MERIGA, B. Radioprotective Properties of *Pterocarpus santalinus* Chloroform Extract in Murine Splenic Lymphocytes and Possible Mechanism. In: *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*. 2018, nr 33(10), pp.427-437. ISSN: 1084-9785

55. GHORBANI, A., ESMAEILIZADEH, M. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. In: *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2017, nr 7(4):433-440. ISSN:2474-1361.
56. GIACOPPO, S., BRAMANTI, P., MAZZON, E. Sativex in the management of multiple sclerosis-related spasticity: An overview of the last decade of clinical evaluation. In: *Multiple Sclerosis Related Disorders*. 2017, nr 17, pp.22-31. ISSN: 2211-0348.
57. GREENWELL, M., RAHMAN, P.K.S.M. Medicinal plants: their use in anticancer treatment. In: *International Journal of Pharmaceutical Sciences Research*, 2015, nr 6 (10), pp. 4103-4112. ISSN: 2394-1502
58. HAMZA, A.A., AMIN, A.. *Apium graveolens* modulates sodium valproate-induced reproductive toxicity in rats. In: *Journal of Experimental Zoology Part A Ecological Genetics and Physiology*. 2007, nr.307, pp.199–206. ISSN: 2471-5638
59. HANAZAWA, T., KAMIJO, Y., YOSHIZAWA T., FUJITA, Y., USUI, K., HAGA, Y. Acute cholinergic syndrome in a patient with Alzheimer's disease taking the prescribed dose of galantamine. In: *Psychogeriatrics*. 2018, nr 18(5), pp. 434-435. ISSN:1479-8301
60. HENN, J.G., STEFFENS, L., DE MOURA SPEROTTO, N.D., DE SOUZA PONCE, B., VERISSIMO, R.M. et al. Toxicological evaluation of a standardized hydroethanolic extract from leaves of *Plantago australis* and its major compound, verbascoside. In: *Journal of Ethnopharmacology*. 2019, nr 229, pp.145-156. ISSN: 0378-8741.
61. HOFFMAN, F., KISHTER, S.R. Botanical new drug applications - The Final Frontier. In: *HerbalGram*. 2013, nr 99, pp.66–69. ISSN: 1943-491X.
62. HOSSEINZADEH, H., NASSIRI-ASL, M. Pharmacological Effects of *Glycyrrhiza* spp. and Its Bioactive Constituents: Update and Review. In: *Phytotherapy Research*. 2015, nr 29(12), pp. 1868-1886. ISSN:1099-1573
63. IMAM, H. Sweet flag (*Acorus calamus* linn.): an incredible medicinal herb. In: *International Journal of Green Pharmacy*. 2013, nr 7(4), pp. 288–296. ISSN - 0973-8258
64. JAHANBAN-ESFAHLAN, A., AMAROWICZ, R. Walnut (*Juglans regia* L.) shell pyroligneous acid: Chemical constituents and functional applications. In: *RSC Advances*. 2018, nr.8, pp.22376–22391. ISSN 2046-2069.
65. JAHANBAN-ESFAHLAN, A., OSTADRAHIMI, A., TABIBIAZAR, M., AMAROWICZ, R. A Comprehensive Review on the Chemical Constituents and Functional Uses of Walnut (*Juglans* spp.) Husk. In: *International Journal of Molecular Sciences*. 2019, nr.20(16), pp.E3920. ISSN · 1422-0067..

66. JENNER, P., KATZENSCHLAGER, R. Apomorphine - pharmacological properties and clinical trials in Parkinson's disease. In: *Parkinsonism and related Disorders*. 2016, nr 33 (Suppl 1), pp. S13-S21. ISSN: 1873-5126
67. JOHANNES, C.B., ARAUJO, A.B., FELDMAN, H.A., *et al.* Incidence of erectile dysfunction in men 40-69 years old: longitudinal results from the Massachusetts Male Aging Study. In: *The Journal of Urology*. 2000, nr 163(2), pp. 460-463. ISSN: 0022-5347.
68. KANTAWONG, F., SINGHATONG, S., SRILAMAY, A., BOONYUEN, K., MOOTI, N., WANACHANTARARAK, P., KUBOKI, T. Properties of macerated herbal oil. In: *Bioimpacts* 2017, nr 7(1), pp. 13-23. ISSN: 2228-5652.
69. KARAMAĆ, M., GAI, F., LONGATO, E., MEINER, G., JANIĆ, M.A., AMAROWICZ, R., PEIRETTI, P.G. Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Amaranth (*Amaranthus caudatus*) during Plant Growth. In: *Antioxidants (Basel)*. 2019, nr.8(6), pp.E173. ISSN 2076-3921.
70. KARGOZAR, R., AZIZI, H., SALARI, R. A review of effective herbal medicines in controlling menopausal symptoms. In: *Electronic Physician*. 2017, nr. 9(11), pp. 5826–5833. ISSN: 2008-5842
71. KATOCH, M., PHULL, S., VAID, S., SINGH, S.. Diversity, Phylogeny, anticancer and antimicrobial potential of fungal endophytes associated with *Monarda citriodora* L. In: *BMC Microbiology*. 2017, nr. 17(1), pp.44. ISSN: 1471-2180 .
72. KAZAZIS, C., VALLIANOU, N.G. Silimarin and Cancer. In: *Anticancer Agents in Medicinal Chemistry*. 2018, nr 18(14), pp.1970-1974. ISSN: 1871-5206.
73. KESER, S., CELIK, S., TURKOGLU, S. Total phenolic contents and free-radical scavenging activities of grape (*Vitis vinifera* L.) and grape products. In: *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2013, nr.64, pp.210–216. ISSN 1465-3478
74. KESHAVARZ, M., BIDMESHKIPOUR, A., MOSTAFAIE, A., MANSOURI, K., MOHAMMADI-MOTLAGH, H.R. Antitumor activity of *Salvia officinalis* is due to its anti-angiogenic, anti-migratory and anti-proliferative effects. In: *Cell Journal*. 2011, nr.12, pp.477–482. ISSN: 0092-8674
75. KHAN, M., KHAN, S.T., KHAN, M., MOUSA, A.A., MAHMOOD, A., ALKHATHAN, H.Z. Chemical diversity in leaf and stem essential oils of *Origanum vulgare* L. and their effects on microbicidal activities. In: *AMB Express*. 2019, nr. 9(1), pp.176. ISSN: 2191-0855.
76. KHWAIRAKPAM, A.D., DAMAYENTI, Y.D., DEKA, A., MONISHA, J., ROY, N.K., PADMAVATHI, G., KUNNUMAKKARA, A.B. *Acorus calamus*: a bio-reserve of

- medicinal values. In: *Journal of Basic Clinical Physiology and Pharmacology*. 2018, nr 29(2), pp.107-122. ISSN 2191-0286
77. KIM, K.-I., JUN, J. H., BAEK, H., KIM, J.-H., LEE, B.-J., & JUNG, H.-J. Oral administration of herbal medicines for radiation pneumonitis in lung cancer patients: A systematic review and meta-analysis. In: *PLOS ONE*, 2018, nr.13(5), pp. e0198015. ISSN · 1932-6203
  78. KINGSTON, D.G.I. Modern natural products drug discovery and its relevance to biodiversity cConservation. In: *Journal of Natural Products*. 2011, nr 74, pp.496–511. ISSN 0163-3864
  79. KLAUNIG, J.E. Oxidative Stress and Cancer. In: *Current Pharmaceutical Design*. 2018, nr 24(40), pp.4771-4778. ISSN: 1381-6128.
  80. KOOTI, W., DARAEI, N. A Review of the Antioxidant Activity of Celery ( *Apium graveolens* L). In: *Journal of Evidence-Based Complementary Alternative Medicine*. 2017, nr.22(4), pp.1029-1034. ISSN: 1741-427X.
  81. KOOTI, W., MORADI, M., PEYRO, K., SHARGHI, M., et al. The effect of celery (*Apium graveolens* L.) on fertility: A systematic review. In: *Journal of Complementary and Integrative Medicine*. 2017, nr.15(2), pp.345-360. ISSN: 1553-3840.
  82. KWON, Y.J., SON, D.H., CHUNG, T.H., LEE, Y.J. A Review of the Pharmacological Efficacy and Safety of Licorice Root from Corroborative Clinical Trial Findings. In: *Journal of Medicinal Food*. 2020, nr.23(1), pp.12-20. ISSN: 1096-620X.
  83. LAAVOLA, M., NIEMINEN, R., PEPPANEN, T., ECKERMAN, C., HOLMBOM, B., MOILANEN, E. Pinosylvin and monomethylpinosylvin, constituents of an extract from the knot of *Pinus sylvestris*, reduce inflammatory gene expression and inflammatory responses in vivo. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2015, nr 63(13), pp. 3445-53. ISSN, 1520-5118.
  84. LAMOTTKE, K., RIPOLL, C., WALCZAK, R. The roots of innovation. In: *European Biopharmaceutical Review*. 2011, nr 15, pp.52–56. ISSN 1369-0663
  85. LANDMESSER, U., DIKALOV, S., PRICE, S.R., MCCANN, L., FUKAI, T., HOLLAND, S.M., et al. Oxidation of tetrahydrobiopterin leads to uncoupling of endothelial cell nitric oxide synthase in hypertension. In: *The Journal of Clinical Investigations*. 2003, nr 11(8), pp. ISSN: 0021-9738.
  86. LI, Y., LIU, Y., TAN, H., ZHANG, Y., YUE, M. Use of Walnut Shell Powder to Inhibit Expression of Fe(2+)-Oxidizing Genes of *Acidithiobacillus Ferrooxidans*. In:

- International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2016, nr.13(5), pp. E461. SSN 1660-4601.
87. LI, Y.; ZHANG, J.J.; XU, D.P.; ZHOU, T.; ZHOU, Y.; LI, S.; LI, H.B. Bioactivities and health benefits of wild fruits. In: *International Journal Molecular Sciences*. 2016, nr 17, p.1258. ISSN 1422-0067.
  88. LIMA, F. A. V., JOVENTINO, I. P., JOVENTINO, F. P., DE ALMEIDA, A. C., et al. (2017). Neuroprotective Activities of *Spirulina platensis* in the 6-OHDA Model of Parkinson's Disease Are Related to Its Anti-Inflammatory Effects. In: *Neurochemical Research*. 2017, nr 42(12), pp. 3390–3400. ISSN: 0364-3190
  89. LIU, Y., JOVCEVSKI, B., PUKALA, T.L. C-Phycocyanin from *Spirulina* Inhibits  $\alpha$ -Synuclein and Amyloid- $\beta$  Fibril Formation but Not Amorphous Aggregation. In: *Journal of Natural Products*. 2019, nr.82(1), pp.66-73. ISSN 0163-3864.
  90. MA, X.H., ZHENG, C.J., HAN, L.Y., XIE, B., JIA, J., CAO, Z.W., CHEN, Y.Z. (2009) Synergistic therapeutic actions of herbal ingredients and their mechanisms from molecular interaction and network perspectives. In: *Drug Discovery Today*. 2009, nr 14, pp.579–588. ISSN: 1359-6446
  91. MAGALHAES, M., SEGUNDO, M.A., REIS, S., LIMA, J.L. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. In: *Analytica chimica acta*. 2008, nr 613(1), pp. 1–19. ISSN. 0003-2670
  92. MAIORINO, M. I., BELLASTELLA, G., GIUGLIANO, D., ESPOSITO, K. From inflammation to sexual dysfunctions: a journey through diabetes, obesity, and metabolic syndrome. In: *Journal of Endocrinological Investigation*. 2018, nr 41(11), pp. 1249-1258. ISSN · 0391-4097
  93. MARCOCCI, L., MAGUIRE, J.J., DROY-LEFAIX, M.T., PACKER, L.. The nitric oxide-scavenging properties of *Ginkgo biloba* extract Egb 761. In: *Biochemical Biophysical Research Communications*. 1994, nr.201(2), pp.748-55. ISSN: 0006-291X
  94. MATIAS, E.F.F., ALVES, E.F., SANTOS, B.S, et al. Biological activities and chemical characterization of *Cordia verbenacea* DC as tool to validate the ethnobiological usage. In: *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013, nr 2013, pp:164215. ISSN: 1741-4288
  95. MATOS, J., CARDOSO, C., BANDARRA, N.M., AFONSO, C. Microalgae as healthy ingredients for functional food: a review. In: *Food and Function*. 2017, nr 8(8), pp.2672-2685. ISSN: 2042-6496

96. MCCABE, M. P., SHARLIP, I. D., LEWIS, R., ATALLA, E., BALON, R., FISHER, A. D., SEGRAVES R. T. Risk Factors for Sexual Dysfunction Among Women and Men: A Consensus Statement From the Fourth International Consultation on Sexual Medicine 2015. In: *The Journal of Sexual Medicine*, 2016, nr 13(2), pp. 153–167. ISSN: 1743-6095.
97. MCCABE, M. P., SHARLIP, I. D., LEWIS, R., ATALLA, E., BALON, R., FISHER, A. D., SEGRAVES, R. T. Incidence and Prevalence of Sexual Dysfunction in Women and Men: A Consensus Statement from the Fourth International Consultation on Sexual Medicine 2015. In: *The Journal of Sexual Medicine*, 2016, 13(2), pp.144–152. ISSN: 1743-6095.
98. MCKAY, D.L., BLUMBERG, J.B. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). In: *Phytotherapy Research*. 2006, nr 20(8), pp.619-633. ISSN:1099-1573
99. MENCHERINI, T., CAU, A., BIANCO, G., LOGGI, R.D., AQUINO, R. An extract of *Apium graveolens* var. dulce leaves: Structure of the major constituent, apiin, and its anti-inflammatory properties. In: *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2007, nr.59, pp.:891–897. ISSN:2042-7158
100. MOHAMED, W.A., ISMAIL, S.A., EL-HAKIM, Y.M.A. *Spirulina platensis* ameliorative effect against GSM 900-MHz cellular phone radiation-induced genotoxicity in male Sprague-Dawley rats. In: *Comparative Clinical Pathology*. 2014, nr. 23, pp. 1719–1726. ISSN: 1618-5641
101. MOTIEJŪNAITE, O, PECIULYTE, D. Fungicidal properties of *Pinus sylvestris* L. for improvement of air quality. In: *Medicina (Kaunas)*. 2004, nr 40(8), pp.787-794. ISSN 1010-660X
102. MUSLIWA-KURDZIEL, B., SOLYMOSI, K. Phycobilins and Phycobiliproteins Used in Food Industry and Medicine. In: *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 2017, nr.17(13), pp.1173-1193. ISSN 1389-5575.
103. MUTHURAMAN, A., SINGH, N. Acute and sub-acute oral toxicity profile of *Acorus calamus* (Sweet flag) in rodents. In: *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2012, nr 2(2), pp.S1017–S1023. ISSN 2221-1691
104. NEWMAN, D.J., CRAGG, G.M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. In: *Journal of Natural Products*. 2016, nr 79(3), pp.629-61. ISSN 0163-3864.
105. NGO, L.T., OKOGUN, J.I., FOLK, W.R. 21st century natural product research and drug development and traditional medicines. In: *Natural Product Reports*. 2013, nr 30, pp. 584–592. ISSN · 0265-0568

106. NICOLETTI, M. (2012) Nutraceuticals and botanicals: overview and perspectives. In: *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2012, nr 63, pp. 2–6. ISSN: 0963-7486
107. NIRUMAND, M., HAJIALYANI, M., RAHIMI, R., FARZAEI, M., et al. Dietary Plants for the Prevention and Management of Kidney Stones: Preclinical and Clinical Evidence and Molecular Mechanisms. In: *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, nr.19(3),pp. 765. ISSN · 1422-0067
108. OHNISHI, S., TAKEDA, H. (2015). Herbal medicines for the treatment of cancer chemotherapy-induced side effects. In: *Frontiers in Pharmacology*, 2015, nr. 6.(14), ISSN: 1663-9812
109. OVANDO, C. A., CARVALHO, J. C. DE VINÍCIUS DE MELO PEREIRA, G., JACQUES, P., SOCCOL, V. T., SOCCOL, C. R. Functional properties and health benefits of bioactive peptides derived from Spirulina: A review. In: *Food Reviews International*. 2016, nr 34(1), pp. 34–51. ISSN: 8755-9129
110. PATHANIA, A.S., GURU, S.K., VERMA, M.K., SHARMA, C., et al. Disruption of the PI3K/AKT/mTOR signaling casxade and induction of apoptosis in HL-60 cells by an essential oil from *Monarda citriodora*. In: *Food and Chemical Toxicology*. 2013, nr. 62, pp.246–254. ISSN, 02786915.
111. PENG, C.; WANG, X.; CHEN, J.; JIAO, R.; WANG, L.; LI, Y.M.; ZUO, Y.; LIU, Y.; et al. Biology of ageing and role of dietary antioxidants. In: *BioMed Research International*. 2014, nr 2014, p. 831841. ISSN · 2314-6133.
112. PERINI, J.A., ANGELI-GAMBA, T., ALESSANDRA-PERINI, J., FERREIRA, L.C., NASCIUTTI, L.E., MACHADO, D.E. Topical application of Acheflan on rat skin injury accelerates wound healing: a histopathological, immunohistochemical and biochemical study. In: *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2015,nr 15, pp.:203. ISSN: 2662-7671
113. POLLASTRO, F., MINASSI, A., FRESUL, L.G.Cannabis Phenolics and their Bioactivities. In: *Current Medical Chemistry*. 2018, nr.25(10), pp.1160-1185. ISSN: 0929-8673 .
114. POSADZKI, P., WATSON, L., ERNST, E. Herbdug interactions: an overview of systematic reviews. In: *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2013, nr 75(3), pp.603-18. ISSN: 0306-5251
115. POTRICH, F.B., ALLEMAND, A., DA SILVA, L.M., DOS SANTOS, A.C., et al. Antiulcerogenic activity of hydroalcoholic extract of *Achillea millefolium* L.: involvement



- of the antioxidant system. In: *Journal of Ethnopharmacology*. 2010, nr 130(1), p.85-92. ISSN: 0378-8741.
116. PRIETO, P., PINEDA, M., AQUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. In: *Analytical Biochemistry*. 1999, nr 269, pp. 337-341. ISSN: 0003-2697
  117. RAISSY, H.H., KELLY, H.W. Tiotropium Bromide in Children and Adolescents with Asthma. In: *Paediatric Drugs*. 2017, nr 19(6), pp. 533-538. ISSN: 1174-5878.
  118. RASTOGI, A., SHUKLA, S. Amaranth: A new millennium crop of nutraceutical values. In: *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*. 2013, nr 53, pp.109–125. ISSN: 0099-0248
  119. RE, R., PELLEGRINI N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A, YANG, M., RICE-EVANS C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. In: *Free Radical Biology & Medicine*. 1999, nr 10, pp. 1231-1237. ISSN: 0891-5849
  120. RIBNICKY, D.M., POULEV, A., SCHMIDT. B. et al. Evaluation of botanicals for improving human health. In: *American Journal of Clinical Nutrition*. 2008, nr 87, pp. 472S–475S. ISSN: 0002-9165.
  121. RIGANO, D., FORMISANO, C., SENATORE, F., PIACENTE, S., PAGANO, E., CAPASSO, R., BORRELLI, F., IZZO, A.A. Intestinal antispasmodic effects of *Helichrysum italicum* (Roth) Don ssp. *italicum* and chemical identification of the active ingredients. In: *Journal of Ethnopharmacology*. 2013, nr.150(3), pp.:901-906. ISSN: 0378-8741.
  122. RODRIGUES, M.R., KANAZAWA, L.K., DAS NEVES, T.L. Antinociceptive and anti-inflammatory potential of extract and isolated compounds from the leaves of *Salvia officinalis* in mice. In: *Journal of Ethnopharmacology*. 2012, nr.139, pp.519–526. ISSN: 0378-8741
  123. RODRIGUEZ-SOLANA, R., VAZQUEZ-ARAUJO, L., SALGADO, J., DOMINGUEZ, J.M., CORTES-DIEGUEZ, S. Optimization of the process of aromatic and medicinal plant maceration in grape marc distillates to obtain herbal liqueurs and spirits. In: *Journal of the Sciences of Food and Agriculture*. 2016, nr 96(14), pp. 4760-4771. ISSN: 0022-5142.
  124. ROESSNER, U., NAHID, A., CHAPMAN, B., HUNTER, A., BELLGARD, M. Metabolomics – The combination of analytical chemistry, biology and informatics. In: Murray, M-Y. (ed) *Comprehensive Biotechnology*. 2011, 2nd edn. Springer, Heidelberg, Germany, pp.447-459. ISBN:9780444533524

125. ROTH, B.D. The discovery and development of atorvastatin, a potent novel hypolipidemic agent. In: *Progress in Medical Chemistry*. 2002, nr 40, pp.11-22. ISSN: 0079-6468
126. RUSSO, E., SCICCHITANO, F., WHALLEY, B.J., MAZZITELLO, C., CIRIACO, M., ESPOSITO, S., PATANÈ, M., UPTON, R., PUGLIESE, M., CHIMIRRI, S., MAMMÌ, M., PALLERIA, C., DE SARRO, G. Hypericum perforatum: pharmacokinetic, mechanism of action, tolerability, and clinical drug-drug interactions. In: *Phytotherapy Research*. 2014, nr 28(5), pp.643-55. ISSN:1099-1573.
127. RUSSO, P., FRUSTACI, A., DEL BUFALO, A., FINI, M., CESARIO, A. From traditional European medicine to discovery of new drug candidates for the treatment of dementia and Alzheimer's disease: acetylcholinesterase inhibitors. In: *Current Medical Chemistry*. 2013, nr.20, pp.976–983. ISSN: 0929-8673
128. SAAD, B., ZAID, H., SHANAK, S., KADAN, S. Antidiabetic Medicinal Plants. In: SAAD, B., ZAID, H., SHANAK, S., KADAN, S. *Anti-diabetes and Anti-obesity Medicinal Plants and Phytochemicals*. Cham: Springer, 2017, pp.59-93. ISBN 978-3-319-54102-0
129. SAAD, B., ZAID, H., SHANAK, S., KADAN, S. Hypoglycemic and Anti-obesity Polyherbal Mixtures. In: SAAD, B., ZAID, H., SHANAK, S., KADAN, S. *Anti-diabetes and Anti-obesity Medicinal Plants and Phytochemicals*. Cham: Springer, 2017, pp.217-251. ISBN 978-3-319-54102-0
130. SANSONE, A., JANNINI, E. A., ROMANELLI, F. Antioxidants in Male Sexual Dysfunctions. In: *Trends in Andrology and Sexual Medicine*, 2016, nr 71–79. ISSN: 2367-0088
131. SARJAN, H.N. The protective effect of the vacha rhizome extract on chronic stress-induced immunodeficiency in rat. In: *Pharmaceutical Biology*. 2017, nr 55(1), pp. 1358–1367. ISSN: 1388-0209
132. SCHOFER, H., TATTI, S., LYNDE, C.W., SKERLEV, M., HERCOGOVA, K., ROTARU, M., BALLESTEROS, J., CALZAVARA-PINTON, P. Sinecatechins and imiquimod as proactive sequential therapy of external genital and perianal warts in adults. In: *International Journal of STD and AIDS*. 2017, nr 28(14), pp.1433-1443. ISSN: 0956-4624
133. SERAFINI, M., PELUSO, I. Functional Foods for Health: The Interrelated Antioxidant and Anti-Inflammatory Role of Fruits, Vegetables, Herbs, Spices and Cocoa in Humans. In: *Current Pharmaceutical Design*. 2016, nr 22(44), pp. 6701-6715. ISSN: 1381-6128.

134. SHARIFI, M., VARONI EM IRITI, M., MARTORELL, M., SETZER, W.N., et al. Carvacrol and human health: A comprehensive review. In: *Phytotherapy Research*. 2018, nr 32(9), pp.1675-1687. ISSN:1099-1573.
135. SINGH, J. Maceration, Percolation and Infusion Techniques for the Extraction of Medicinal and Aromatic Plants. In: *HANDA, S.S., KHANUJA, S.P.S., LONGO, G., RAKESH, D.D. (eds). Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International centre for science and high technology, Trieste, 2008, P. 67-84.*
136. SINGH, R. Pharmacological properties and ayurvedic value of Indian buch plant. (*Acorus calamus*): a short review. In: *Journal of Biological Research*. 2011, nr 5(3), pp.145–154. ISSN: 2241-5793
137. SINGLETON, V. L., ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. In: *American Journal of Enology and Viticulture*. 1965, nr 16, pp. 144-158. ISSN 0002-9254
138. SINHA, N., DABLA, P.K. Oxidative stress and antioxidants in hypertension-a current review. In: *Current Hypertension Reviews*. 2015, nr 11(2), pp.132-42. ISSN: 1573-4021
139. STOIKO, L., KURYLO, K. Development of optimal technology of alcohol extract *Centaurium erythraea* RAFN. herb. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2018, nr 53(4), pp. 523-528. ISSN: 1584-9244.
140. SUCHER, N. J., CARLES, M. C. A pharmacological basis of herbal medicines for epilepsy. In: *Epilepsy and Behavior*, 2015. nr.52, pp.308–318. ISSN · 1525-5050
141. SUZEN, A., TEKIN, L., ERDEMLI, M.E., ERTURK, N., AKSUNGUR, Z., AKTAS, S. Protective Effects of Hypericum perforatum and Quercetin in a Rat Model of Ischemia/Reperfusion Injury of Testes. In: *European Journal of Pediatric Surgery*. 2018, nr 28(1), pp. 96-100. ISSN: 0939-7248
142. SZEJK, M., KOLODZIEJCZYK-CZEPAS, J., ZBIKOWSKA, H.M. Radioprotectors in radiotherapy - advances in the potential application of phytochemicals. In: *Postepy Higieny I medycyny doswiadczalnei*. 2016, nr 70(0), pp.722-34. ISSN: 1732-2693.
143. TANG, E.L., RAJARAJESWARAN, J., FUNG, S., KANTHIMATHI. M.S. Petroselinum crispum has antioxidant properties, protects against DNA damage and inhibits proliferation and migration of cancer cells. In: *Journal of Sciences of Food Agriculture*. 2015, nr.95(13), pp.2763-2771. ISSN:1097-0010.
144. TARDUGNO, R., PELLATI, F., ISEPPI, R., BONDI, M., BRUZZESI, G., BENVENUTI, S. Phytochemical composition and in vitro screening of the antimicrobial activity of

- essential oils on oral pathogenic bacteria. In: *Natural Products Research*. 2018, nr.32, pp.544–551. ISSN, 1478-6419.
145. THANAN, R., OIKAWA, S., HIRAKU, Y., OHNISHI, S., et al. (2015). Oxidative Stress and Its Significant Roles in Neurodegenerative Diseases and Cancer. In: *International Journal of Molecular Sciences*. 2015, nr 16(1), pp.193–217. ISSN · 1422-0067
  146. THOMAS, G.L., JOHANNES C.W. Natural product-like synthetic libraries. In: *Current Opinion in Chemical Biology*. 2011, nr 15, pp.516–522. ISSN, 1367-5931
  147. TONNIES, E., TRUSHINA, E. Oxidative Stress, Synaptic Dysfunction, and Alzheimer's Disease. In: *Journal of Alzheimer s Disease*. 2017, nr 57(4), pp.1105-1121. ISSN: 4121-9744
  148. VAN DER KOOY, F., MALTESE, F., HAE CHOI, Y. et al. Quality control of herbal material and phytopharmaceuticals with MS and NMR based metabolic fingerprinting. In: *Planta Medica*. 2009, nr 75, pp. 763–775. ISSN: 0032-0943
  149. VEERESHAM, C. Natural products derived from plants as a source of drugs. In: *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 2012, nr 3(4), pp.200–211. ISSN, 0110-5558
  150. VEERESHAM, C. Natural products derived from plants as a source of drugs. In: *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 2012;nr 3(4), pp.200–201. ISSN: 2231-4040
  151. VENSKUTONIS P.R., KRAUJALIS P. Nutritional components of amaranth seeds and vegetables: A review on composition, properties, and uses. In: *Comprehensive Reviews in Food Sciences and Food Safety*. 2013, nr.12, pp.381–412. ISSN:1541-4337.
  152. VERPOORTE, R. Good Practices: the basis for evidencebased medicines. In: *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, nr 140, pp.455–457. ISSN · 0378-8741
  153. VONA, R., GAMBARDELLA, L., CITTADINI, C., STRAFACE, E., PIETRAFORTE, D. Biomarkers of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome and Associated Diseases. In: *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019, nr 2019, pp. 8267234. ISSN: 1942-0994.
  154. VORA, S.R., PATIL, R.B., PILLAI, M.M., Protective effects of *Petroselinum crispum* (Mill) Nyman ex AW Hill leaf extract on d-galactose-induced oxidative stress in mouse brain. In: *Indian Journal of Experimental Biology*. 2009, nr. 47, pp.338–342. ISSN, 0019-5189..
  155. WAGNER, H. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. In: *Fitoterapia*. 2011, nr 82, pp.34–37. ISSN: 0367-326X

156. WANG, F. The roles of preventive and curative health care in economic development. In: *PLOS ONE*, 2018, nr.13(11),pp. e0206808. ISSN · 1932-6203
157. WEI, Q., MA, X., ZHAO, Z., ZHANG, S., LIU, S. Antioxidant activities and chemical profiles of pyroligneous acids from walnut shell. In: *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2010, nr.88, pp.149–154. ISSN: 0165-2370.
158. WHAYNE, T.F., SAHA, S.P., MUKHERJEE, D. Antioxidants in the Practice of Medicine; What Should the Clinician Know? In: *Cardiovascular and Hematological Disorders - Drug Targets*. 2016, nr 16(1), pp.13-20. ISSN: 1871-529X.
159. WILLIAMSON, E.M.. Synergy and other interactions in phytomedicines. In: *Phytomedicine*. 2001, nr 8(5), pp.401-409. ISSN: 0944-7113
160. WONG, Y.K., XU, C., KALESH, K.A., HE, Y., LINQ WONG W.S.F., SHEN, H.M., WANG, J. Artemisinin as an anticancer drug: Recent advances in target profiling and mechanisms of action. In: *Medicinal Research Reviews*. 2017, nr 37(6), pp.1492-1517. ISSN: 0198-6325
161. WU, Q., LIU, L., MIRON, A., KLIMOVA, B., WAN, D., KUC, K. The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of Spirulina: an overview. In: *Archives of Toxicology*. 2016, nr.90(8), pp.1817-1840. ISSN: 0340-5761.
162. XIE, G., LI, X., LI, H. ET, A.L. Toward personalized nutrition: comprehensive phytoprofilng and metabotyping. In: *Journal of Proteome Research*. 2013, nr 12, pp.1547–1559. ISSN · 1535-3893
163. XIU, L.-J., SUN, D.-Z., JIAO, J.-P., YAN, B., et al. Anticancer effects of traditional Chinese herbs with phlegm-eliminating properties – An overview. In: *Journal of Ethnopharmacology*. 2015, nr. 172,pp. 155–161. ISSN · 0378-8741
164. YAKUBU, M. T., SUNMONU, T. O., LEWU, F. B., ASHAFA, A. O. T., et al. Medicinal Plants Used in the Management of Diabetes Mellitus 2015. In: *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, nr.2015, pp.467196. ISSN: 1741-427X
165. YANG, S., LI, G., ZHAO, Z., FENG, M., et al. The Taishan Robinia pseudoacacia polysaccharides enhance immune effects of rabbit haemorrhagic disease virus inactivated vaccines. In: *Microbiological Pathogenesis*. 2017, nr.112, pp.70-75. ISSN 0882-4010
166. YANG, Y., ZHANG. Z., LI, S., YE, X., LI, H., HE, K. Synergy effects of herb extracts: pharmacokinetics and pharmacodynamic basis. In: *Fitoterapia*. 2014, nr.92, pp.133-147. ISSN: 0367-326X.

167. YAO, H., QIAO, Y.-J., ZHAO, Y.-L., TAO, X.-F., et al. Herbal medicines and nonalcoholic fatty liver disease. In: *World Journal of Gastroenterology*. 2016, nr. 22(30),pp. 6890. ISSN 1007-9327.
168. ZHAI, M., SHI, G., WANG, Y., MAO, G., WANG, D., WANG, Z. Chemical compositions and biological activities of pyroligneous acids from walnut shell. In: *Bioresources*. 2015, nr.10, pp.1715–1729. ISSN: 1930-2126.
169. ZHANG, B., PENG, Y., ZHANG, Z. et al. GAP production of TCM herbs in China. In: *Planta Medica*. 2010, nr 76, pp. 1948–1955. ISSN: 0032-0943
170. ZHANG, H.Q., LIN, A.P., SUN, Y., DENG, Y.M. Chemo- and radio-protective effects of polysaccharide of *Spirulina platensis* on hemopoietic system of mice and dogs. In: *Acta Pharmacologica Sinica*. 2001, nr.22(12), pp.1121-1124. ISSN: 1671-4083
171. ZHANG, J.J.; LI, Y.; ZHOU, T.; XU, D.P.; ZHANG, P.; LI, S.; LI, H.B. Bioactivities and health benefits of mushrooms mainly from China. In: *Molecules* 2016, nr 21, p. 938. ISSN 1420-3049
172. ZHAO, Y., HU, X. , ZUO, X., WANG, M. Chemopreventive effects of some popular phytochemicals on human colon cancer: a review. In: *Food and Function*. 2018, nr 9(9), pp.:4548-4568. ISSN, 2042-6496
173. ZHENG, J., ZHOU, Y., LI, Y., XU, D.P., LI, S., LI, H.B. Spices for prevention and treatment of cancers. In: *Nutrients*. 2016, nr 8, p. 495. ISSN: 2072-6643
174. ZHOU, Y., LI, Y., ZHOU, T., ZHENG, J., LI, S., LI, H.B. Dietary natural products for prevention and treatment of liver cancer. In: *Nutrients* 2016, nr 8, p. 156. ISSN: 2072-6643
175. ZHOU, Y., ZHENG, J., LI, Y., XU, D.P., LI, S., CHEN, Y.M., LI, H.B. Natural polyphenols for prevention and treatment of cancer. In: *Nutrients* 2016, nr 8, p. 515. ISSN: 2072-6643

### ***În limba română***

176. **CARAUȘ, V., RUDIC, V.** Balsam cu efect afrodisiac. Brevet de invenție MD 1216 C12G 3/06. Carauș V., Ruduc V.. Nr. depozit s 2017 0050. Data depozit 12.04.2017. Publicat 31.12.2017. În BOPI 2017, nr.12.
177. **CARAUȘ, V.** Compoziție de balsam Brevet de invenție 2103 G2. C12G 3/06 (2006.01);. Carauș, V., Nr de depzit a 2002 0115. Data de deposit 2002.04.05. Publicat 2003.02.28. In: BOPI. 2003, nr 2, p. 33

178. **CARAUȘ, V.** Extracte cu proprietăți antioxidante din materii prime vegetale. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții*. 2019, nr 3(339), pp.124-129. ISSN: 1857-064X
179. **CARAUȘ, V.** Extracte din *Spirulina platensis* pentru utilizare în componența produselor curativo-profilactice. In: *Materialele Conferinței științifice a doctoranzilor „Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători”*, Ediția a VIII-a, Vol. I, 10 iunie, 2019, Chișinău, Republica Moldova, p.67-72. ISBN 978-9975-108-66-9.
180. **CARAUȘ, V.** Proprietățile radioprotective ale balsamului „Făt Frumos”. In: *Materialele Conferinței științifice a doctoranzilor „Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători”*, Ediția a VII-a, Vol. I, 10 iunie, 2019, Chișinău, Republica Moldova, p.142-146. ISBN 978-9975-108-44-7.
181. **CARAUȘ, V., CICALCHIN, S., SIMIONOV, V.** Brevet de invenție de scurtă durată 52 Z. *C12G 3/06* (2006.01);. Carauș V., Cicalchin S., Simionov V. Nr de depzit s 2009 0079. Data de deposit 2009.03.18. Publicat 2009.07.31. In: BOPI. 2009, nr 7.
182. **CARAUȘ, V., HAIDABER, P.** Compoziție de ingrediente pentru obținerea balsamului curative-profilactic. Brevet de invenție 1702 G2, *C12G 3/06* (2006.01);. Carauș, V., Haidaber P. Nr de depzit a 2000 0127. Data de deposit 2000.07.20. Publicat 2001.07.31. In: BOPI. 2001, nr 7, pp. 24-25
183. **CARAUȘ, V., MEREUȚĂ, I., SOFRONI, D.** Balsamul curativ profilactic „Făt Frumos” în profilaxia cancerului. În: *Revista științifico-practică "Info-Med"*, 2016, 2(28-2), p.231-233. ISSN: 1810-3936
184. **CARAUȘ, V., MORAR, A.** Balsam. Brevet de invenție 2775 G2. *C12G 3/06* (2006.01);. Carauș, V., Morar A. Nr de depzit a 2004 0288. Data de deposit 2004.12.10. Publicat 2005.05.31. In: BOPI. 2005, nr 5.
185. **CARAUȘ, V., MORAR, A.** Balsam. Brevet de invenție 2776 G2. *C12G 3/06* (2006.01);. Carauș, V., Morar A. Nr de depzit a 2004 0288. Data de deposit 2004.12.10. Publicat 2005.05.31. In: BOPI. 2005, nr 5.
186. **CARAUȘ, V., MORAR, A.** Balsam. Brevet de invenție 2777 G2. *C12G 3/06* (2006.01);. Carauș, V., Morar A. Nr de depzit a 2004 0288. Data de deposit 2004.12.10. Publicat 2005.05.31. In: BOPI. 2005, nr 5.

187. **CARAUȘ, V., MORAR, A., MEREUȚĂ, I.** Balsam. Brevet de invenție 2797 G2. *C12G 3/06* (2006.01);. Carauș, V., Morar A. Nr de depzit a 2004 0291. Data de deposit 2004.12.10. Publicat 2005.06.30. In: BOPI. 2005, nr 6.
188. **CARAUȘ, V., MORAR, A., MEREUȚĂ, I.** Balsam. Brevet de invenție 2798 G2. *C12G 3/06* (2006.01);. Carauș, V., Morar A. Nr de depzit a 2004 0291. Data de deposit 2004.12.10. Publicat 2005.06.30. In: BOPI. 2005, nr 6.
189. **CARAUȘ, V., TARAN, N., MEREUȚĂ, I.** Compoziție de balsam. Brevet de invenție 2384 G2. *C12G 3/06* (2006.01);. Carauș, V., Taran N. Nr de depzit a 2003 0073. Data de deposit 2003.03.05. Publicat 2004.02.29. In: BOPI. 2004, nr 2, pp.43-44
190. **CARAUȘ, V., TARAN, N., MEREUȚĂ, I.** Compoziție de balsam . Brevet de invenție 2383 G2. *C12G 3/06* (2006.01);. Carauș, V., Taran N. Nr de depzit a 2003 0072. Data de deposit 2003.03.05. Publicat 2004.02.29. In: BOPI. 2004, nr 2, pp.42-43
191. **CARAUȘ, V.; RUDIC, V.** Procedeu de obținere a preparatului din spirulină cu proprietăți antiradicalice performante. Teze: Simpozionul Științific Internațional (ediția a V-a) „Biotehnologii avansate – realizări și perspective”. 21-22 octombrie, 2019, Chișinău, Republica Moldova, p.29. ISBN 978-9975-56-695-7.
192. **CRAUȘ, V.** Natural product with aphrodisiac – like effect containing spirulina extract. The International Scientific Conference on Microbial Biotechnology, 4rd edition, October 11-12, 2018, Chisinau, Republic of Moldova, p. 46. 978-9975-3178-8-7.
193. **MEREUȚĂ, I., MD; CARAUȘ, V., MD; MORARU, A., MD; CICALCHIN, S.** **Balsam.** Brevet de invenție MD 1368 C12G 3/06. IFS. Nr. depozit s 2019 0010. Data depozit 12.02.2019. (Hotărâre de acordare a brevetului de invenție )
194. **MEREUȚĂ, I., MD; CARAUȘ, V., MD; MORARU, A., MD; CICALCHIN, S.** **Balsam.** Brevet de invenție MD 1369 C12G 3/06. IFS. Nr. depozit s 2019 0011. Data depozit 12.02.2019. (Hotărâre de acordare a brevetului de invenție )
195. **MEREUȚĂ, I., MD; CARAUȘ, V., MD; MORARU, A., MD; CICALCHIN, S.** **Balsam.** Brevet de invenție MD 1370 C12G 3/06. IFS. Nr. depozit s 2019 0012. Data depozit 12.02.2019. (Hotărâre de acordare a brevetului de invenție )
196. **MEREUȚĂ, I., MD; CARAUȘ, V., MD; MORARU, A., MD; CICALCHIN, S.** **Balsam.** Brevet de invenție MD 1377 C12G 3/06. IFS. Nr. depozit s 2019 0013. Data depozit 12.02.2019. (Hotărâre de acordare a brevetului de invenție )
197. **MEREUȚĂ, I., MD; CARAUȘ, V., MD; MORARU, A., MD; CICALCHIN, S.** **Balsam.** Brevet de invenție MD 1378 C12G 3/06. IFS. Nr. depozit s 2019 s 2019 0014. Data depozit 12.02.2019. (Hotărâre de acordare a brevetului de invenție )



198. MEREUȚĂ, I., SOFRONI, D., CARAUȘ, V., MORAR, A. Profilaxia Cancerului: Balsamurile curativ-profilactice. Chișinău: S.n., 2005. - 112p. ISBN 9975-9655-8-x
199. PARIU, S., MEREUȚĂ, I., VALICA, V., CARAUȘ, V., UNGUREANU, A., NICOLAI, E. Evaluarea toxicității acute a suspensiei "Doctor Merion" 100 ml. În: *Revista științifico-practică "Info-Med"*, 2016, 2(28-2), p.240-244. ISSN: 1810-3936
200. PARIU, S., VALICA, V., GUDUMAC, V., NACU, V., CARAUȘ, V., NICOLAI, E., UNGUREANU, A., PANTEA, V., COCIUG, A., JIAN, M. Determinarea toxicității cronice a unui nou compus medicamentos combinat. In: *Buletinul academiei de Științe a Moldovei. științe medicale*. 2016, 1(50), p.214-219. ISSN: 1857-0011
201. RUDIC, V. BioR - Studii biomedicale și clinice. 2007, Chișinău, Știința, 376 p. ISBN 978-9975-9548-8-4
202. RUDIC, V. ș.a. Ficobiotehnologie-cercetări fundamentale și realizări practice. 2007. Chișinău, Elena VI, 365 p. ISBN 978-9975-9892-5-1
203. RUDIC, V., CARAUȘ, V. Tehnologie de obținere a balsamului afrodisiac "Spirupotent". In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții*. 2019, nr 3(339), pp.129-135. ISSN: 1857-064X
204. RUDIC, V., CARAUȘ, V., MEREUȚĂ, I., CICALCHIN, S. Balsam. Brevet de invenție de scurtă durată 670 Z. C12G 3/06 (2006.01); Rudic V., Carauș V., Mereuță I., Cicalchin S. Nr de depozit s 2012 0154. Data de deposit 2012.11.06. Publicat 2013.08.31. In: BOPI. 2013, nr 8.
205. STRUTINSCHI, Tudor; TIMOȘCO, Maria. Acțiunea adaosurilor alimentare asupra macroorganismului și componenței florei microbiene intestinale. In: *Studia Universitatis (Seria Științe Reale și ale Naturii)*. 2014, nr. 1(71), pp. 52-56. ISSN 1814-3237.

### **În limba rusă**

206. ИБРАГИМОВА, Н.У. Биотехнологические основы получения новых видов крепких элитных напитков. In: *Вестник ДГТУ. Технические науки*, 2007, 12, с.125-129. ISSN: 2073-6185
207. ИСАКОВА, Т.И., ДИХТЯРЕВ, В.И., КОВАЛЕВ, В.Н., ЯКИМЕНКО, Е.И., ОБУХОВ, А.И., ГОНЧАР, С.Ф., ЖУРАВЕЛЬ, И.А., ЧЕРНЫХ, В.П., ДРОГОВОЗ, С.М., ЗУПАНЕЦ, И.А. *Композиция ингредиентов для бальзама "чаклун"* Патент

- Российской Федерации № 2031107 С1 С12G3/06, Заяв.16.06.1993. Оpubл. 20.03.1995
208. ЛЮТОВ, А.Г., ИСРАФИЛОВ, А.Г., МАГАЗОВ, Р.Ш., ЮСУПОВ, В.Г., БАТАЛОВА, Т.А *Композиция ингредиентов для лечебно-профилактической настойки-бальзама "дэрт-дэрман" (варианты)*. Patent Российской Федеоации № 2085580 С1 С12G3/06. Заяв.13.01.1995. Оpubл.27.07.1997
209. СТРУТИНСКИЙ, Ф.А.. Питание в соответствии с типом конституции. Часть I. Астенический тип. In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii*. 2017, nr. 3(333), pp. 54-64. ISSN 1857-064X.
210. СТРУТИНСКИЙ, Ф.А.; ГАРАЕВА, Светлана; ФУРДУЙ, Влада; ПОСТОЛАТИ, Галина; СТРОКОВА, Валентина; ПОЛЯКОВА, Лилия; ЧОКИНЭ, Мариана; КОВАРСКАЯ, Нина. Влияние калорийности рациона на состояние некоторых элементов антиоксидантной системы эритроцитов. In: *Studia Universitatis (Seria Ştiinţe Reale şi ale Naturii)*. 2018, nr. 1(111), pp. 36-41. ISSN 1814-3237.
211. ФУРДУЙ, Т., ЧОКИНЭ, В., ФУРДУЙ, В., VUDU, L., ВУДУ, Г., ФРУНЗЕ, Р., ŞTIRBU, E., VUDU, S., БОДРУГ, А., ПОПАНУ, Л., BEŞETEА, Т., ГЕОРГИУ, З. На пути к созданию теории санокреатологического питания. I. Современные представления о питании человека с позиции санокреатологии . In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale*. 2010, nr. 5(28), pp. 119-134. ISSN 1857-0011.
212. ФУРДУЙ, Т., ЧОКИНЭ, В., ФУРДУЙ, В., БОДРУГ, А., ПОЛЯКОВА, Л., ГЕОРГИУ, З. Детоксикация организма— одна из задач саногенного питания. In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii*. 2014, nr. 2(323), pp. 37-46. ISSN 1857-064X.
213. ФУРДУЙ, Т., ЧОКИНЭ, В.,; ФУРДУЙ, В., VUDU, L., ВУДУ, Г., ФРУНЗЕ, Р., ŞTIRBU, E., VUDU, S., БОДРУГ, А., ПОПАНУ, Л., BEŞETEА, Т., ГЕОРГИУ, З., ЖИТАРЬ, Ю. Предпосылки и основные положения санокреатологической теории питания человека. Анализ современных теории и систем питания человека с позиции санокреатологии. In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii*. 2010, nr. 3(312), pp. 4-22. ISSN 1857-064X.
214. ФУРДУЙ, Т., ШЕПТИЦКИ, В., ЧЕБАН, Л. О возможности направленного влияния с помощью диетических факторов на становление специфики функционирования системы активного транспорта глюкозы в тонкой кишке в раннем постнатальном

онтогенезе. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții*. 2014, nr. 3(324), pp. 39-48. ISSN 1857-064X.

215. ЮСУПОВ, В.Г. МАГАЗОВ, Р.Ш. АЛСЫНБАЕВ, М.М. ХИСАМУТДИНОВ, Р.А. АХМАДИЕВ, Р.Р. ЛЕБЕДЕВА, А.В. *Настойка-бальзам "тайна мудреца" (варианты)*. Патент Российской Федерации № RU 2 252 776 C1 C12G3/06, Заяв.2004.04.27. Оpubл. 2005.05.27.

# ANEXE



MD 1216 Z 2018.07.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1216** (13) **Z**  
(51) Int.Cl: *C12G 3/06* (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE  
DE SCURTĂ DURATĂ**

(21) Nr. depozit: s 2017 0050 (22) Data depozit: 2017.04.12	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2017.12.31, BOP1 nr. 12/2017
(71) Solicitanți: CARAUȘ Vladimir, MD; RUDIC Valeriu, MD (72) Inventatori: CARAUȘ Vladimir, MD; RUDIC Valeriu, MD (73) Titulari: CARAUȘ Vladimir, MD; RUDIC Valeriu, MD	

MD 1216 Z 2018.07.31

(54) **Balsam cu efect afrodisiac**

(57) **Rezumat:**

1  
Invenția se referă la industria alimentară și poate fi aplicată în farmacologia preventivă în calitate de substanță biologic activă cu efect afrodisiac.

Balsamul, conform invenției, conține macerat hidroalcoolic din materia primă vegetală: rădăcină de lemn dulce, rizomi de obligeană, partea aeriană de sunătoare, sovârf și coada-șoricelului, frunze de izmă bună, muguri de pin, flori de salcâm, rizomi de țelină

2  
cu partea aeriană de țelină, rădăcină de pătrunjel cu partea aeriană de pătrunjel, totodată balsamul mai conține extract hidroalcoolic din biomasă de *Spirulina platensis*, extract hidroalcoolic din semințe de struguri, extract alcoolic din coji și septuri de nuci, vin roșu de desert, alcool etilic și apă purificată.

Revendicări: 1



MD 1368 Y 2019.09.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1368** (13) **Y**  
(51) Int.Cl: *C12G 3/06* (2006.01)  
*A61K 36/00* (2006.01)  
*A61K 125/00* (2006.01)  
*A61K 135/00* (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE  
DE SCURTĂ DURATĂ**

<b>În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție de scurtă durată, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului</b>	
(21) Nr. depozit: s 2019 0010 (22) Data depozit: 2019.02.12	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2019.09.30, BOPI nr. 9/2019
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI SANOCREATOLOGIE, MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII AL REPUBLICII MOLDOVA, MD (72) Inventatori: MEREUȚĂ Ion, MD; CARAUȘ Vladimir, MD; MORARU Aurel, MD; CICALCHIN Serghei, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI SANOCREATOLOGIE, MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII AL REPUBLICII MOLDOVA, MD	

MD 1368 Y 2019.09.30

(54) **Balsam**

(57) **Rezumat:**

1  
Invenția se referă la industria alimentară, și anume la un balsam cu efect imunostimulator și detoxifiant.  
Balsamul, conform invenției, conține, pentru 1000 ml produs finit, macerat obținut la macerarea materiei prime vegetale în soluție hidroalcoolică, componentele fiind luate în următorul raport, în g: rădăcină de lemn dulce 3,5...4,5, rizomi de obligeană 0,10...0,16, partea aeriană de sunătoare 0,60...0,70, partea aeriană de sovârf 0,49...0,55, frunze de izmă bună 0,78...0,84, partea aeriană de coada-

2  
șoricelului 0,70...0,80, muguri de pin 0,8...1,2, partea aeriană de nemuritoare 1,5...2,5, partea aeriană de mentă decorativă 1,5...2,5, partea aeriană de salvie 1,5...2,5, totodată, balsamul mai conține vin roșu de desert cu tăria de 16% vol. 300...400 ml, alcool etilic de 96% vol. 285...289 ml, caramel 8,5...11,5 g, acid citric 0,07...0,11 g, vanilină 0,21...0,29 g și apă purificată, restul.  
Revendicări: 1



MD 1369 Y 2019.09.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1369** (13) **Y**  
(51) Int.Cl: *C12G 3/06* (2006.01)  
*A61K 36/00* (2006.01)  
*A61K 125/00* (2006.01)  
*A61K 135/00* (2006.01)  
*C07D 311/32* (2006.01)  
*C07F 9/10* (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE  
DE SCURTĂ DURATĂ

<b>În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție de scurtă durată, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului</b>	
(21) Nr. depozit: s 2019 0011 (22) Data depozit: 2019.02.12	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2019.09.30, BOPI nr. 9/2019
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI SANOCREATOLOGIE, MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII AL REPUBLICII MOLDOVA, MD (72) Inventatori: MEREUȚĂ Ion, MD; CARAUȘ Vladimir, MD; MORARU Aurel, MD; CICALCHIN Serghei, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI SANOCREATOLOGIE, MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII AL REPUBLICII MOLDOVA, MD	

MD 1369 Y 2019.09.30

(54) Balsam

(57) Rezumat:

1  
Invenția se referă la industria alimentară, și anume la un balsam cu efect imunostimulator, detoxifiant, citolitic și colestatic.

Balsamul, conform invenției, conține, pentru 1000 ml produs finit, macerat obținut la macerarea materiei prime vegetale în soluție hidroalcoolică, componentele fiind luate în următorul raport, g: rădăcină de lemn dulce 3,5...4,5, rizomi de obligeană 0,10...0,16, partea aeriană de sunătoare 0,60...0,70, partea aeriană de sovârf 0,49...0,55, frunze de izmă

2  
bună 0,78...0,84, partea aeriană de coadașoricelului 0,70...0,80, muguri de pin 0,8...1,2, totodată, balsamul mai conține vin roșu de desert cu tăria de 16% vol. 300...400 ml, alcool etilic de 96% vol. 285...289 ml, dihidroquercetină 1,2, glicină 30,0, lecitină 1,0, caramel 8,5...11,5, acid citric 0,07...0,11, vanilină 0,21...0,29 și apă purificată, restul.

Revendicări: 1



MD 1370 Y 2019.0

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1370** (13) **Y**  
(51) Int.Cl: *C12G 3/06* (2006.01)  
*A61K 36/00* (2006.01)  
*A61K 36/185* (2006.01)  
*A61K 36/21* (2006.01)  
*A61K 125/00* (2006.01)  
*A61K 131/00* (2006.01)  
*A61K 135/00* (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE  
DE SCURTĂ DURATĂ

<b>In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție de scurtă durată, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului</b>	
<p>(21) Nr. depozit: s 2019 0012 (22) Data depozit: 2019.02.12</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2019.09.30, BOPI nr. 9/2019</p>
<p>(71) Solicitant: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI SANOCREATOLOGIE, MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII AL REPUBLICII MOLDOVA, MD (72) Inventatori: MEREUȚĂ Ion, MD; CARAUȘ Vladimir, MD; MORARU Aurel, MD; CICALCHIN Serghei, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI SANOCREATOLOGIE, MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII AL REPUBLICII MOLDOVA, MD</p>	

(54) Balsam

(57) Rezumat:

1  
Invenția se referă la industria alimentară, și anume la un balsam cu efect imunostimulator și detoxifiant.

Balsamul, conform invenției, conține, pentru 1000 ml produs finit, macerat obținut la macerarea materiei prime vegetale în soluție hidroalcoolică, componentele fiind luate în următorul raport, g: rădăcină de lemn dulce 3,5...4,5, rizomi de obligeană 0,10...0,16, partea aeriană de sunătoare 0,60...0,70, partea aeriană de sovârf 0,49...0,55, frunze de izmă bună 0,78...0,84, partea aeriană de coada-șoricelului 0,70...0,80, muguri de pin

2  
0,8...1,2, praf din semințe de amarant 1,5...2,5, extract din partea aeriană a cânepei industriale, obținut prin metoda de crioextracție cu dioxid de carbon la temperatura de -48...-54°C, 1,5...2,5, totodată, balsamul mai conține vin roșu de desert cu tăria de 16% vol. 300...400 ml, alcool etilic de 96% vol. 285...289 ml, caramel 8,5...11,5 g, acid citric 0,07...0,11 g, vanilină 0,21...0,29 g și apă purificată, restul.

Revendicări: 1

MD 1370 Y 2019.09.30





MD 1377 Y 2019.10

## REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală(11) **1377** (13) **Y**  
(51) Int.Cl: *C12G 3/06* (2006.01)  
*A61K 36/00* (2006.01)  
*A61K 125/00* (2006.01)  
*A61K 131/00* (2006.01)  
*A61K 135/00* (2006.01)  
*A61K 36/185* (2006.01)  
*A61K 36/21* (2006.01)(12) BREVET DE INVENȚIE  
DE SCURTĂ DURATĂ

<b>In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție de scurtă durată, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului</b>	
(21) Nr. depozit: s 2019 0013 (22) Data depozit: 2019.02.12	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2019.10.31, BOPI nr. 10/2019
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI SANOCREATOLOGIE, MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII AL REPUBLICII MOLDOVA, MD	
(72) Inventatori: MEREUȚĂ Ion, MD; CARAUȘ Vladimir, MD; MORARU Aurel, MD; CICALCHIN Serghei, MD	
(73) Titular: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI SANOCREATOLOGIE, MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII AL REPUBLICII MOLDOVA, MD	

## (54) Balsam

## (57) Rezumat:

1

Invenția se referă la industria alimentară, și anume la un balsam cu efect imunostimulator și detoxifiant.

Balsamul, conform invenției, conține, pentru 1000 ml produs finit, macerat obținut la macerarea materiei prime vegetale în soluție hidroalcoolică, componentele fiind luate în următorul raport, g: rădăcină de lemn dulce 3,5...4,5, rizomi de obligeană 0,10...0,16, partea aeriană de sunătoare 0,60...0,70, partea aeriană de sovârf 0,49...0,55, frunze de izmă bună 0,78...0,84, partea aeriană de coadașoricelului 0,70...0,80, muguri de pin 0,8...1,2, partea aeriană de nemuritoare

2

1,5...2,5, partea aeriană de mentă decorativă 1,5...2,5, partea aeriană de salvie 1,5...2,5, praf din semințe de amarant 1,5...2,5, extract din partea aeriană a cănepei industriale, obținut prin metoda de crioextracție cu dioxid de carbon la temperatura de -48...-54°C, 1,5...2,5, totodată, balsamul mai conține vin roșu de desert cu tăria de 16% vol. 300...400 ml, alcool etilic de 96% vol. 285...289 ml, caramel 8,5...11,5 g, acid citric 0,07...0,11 g, vanilină 0,21...0,29 g și apă purificată, restul.

Revendicări: 1

MD 1377 Y 2019.10.31



MD 1378 Y 2019.10.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1378** (13) **Y**  
(51) Int.Cl: *C12G 3/06* (2006.01)  
*A61K 36/00* (2006.01)  
*A61K 125/00* (2006.01)  
*A61K 131/00* (2006.01)  
*A61K 135/00* (2006.01)  
*A61K 36/185* (2006.01)  
*A61K 36/21* (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE  
DE SCURTĂ DURATĂ**

In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție de scurtă durată, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: s 2019 0014 (22) Data depozit: 2019.02.12	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2019.10.31, BOPI nr. 10/2019
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI SANOCREATOLOGIE, MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII AL REPUBLICII MOLDOVA, MD (72) Inventatori: MEREUȚĂ Ion, MD; CARAUȘ Vladimir, MD; MORARU Aurel, MD; CICALCHIN Serghei, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI SANOCREATOLOGIE, MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII AL REPUBLICII MOLDOVA, MD	

(54) **Balsam**

(57) **Rezumat:**

1  
Invenția se referă la industria alimentară, și anume la un balsam cu efect imunostimulator și detoxifiant.

Balsamul, conform invenției, conține, pentru 1000 ml produs finit, macerat obținut la macerarea materiei prime vegetale în soluție hidroalcoolică, componentele fiind luate în următorul raport, g: rădăcină de lemn dulce 3,5...4,5, partea aeriană de sovarf 0,49...0,55, frunze de izmă bună 0,78...0,84, muguri de pin 0,8...1,2, partea aeriană de nemuritoare 1,5...2,5, partea aeriană de mentă decorativă

2  
1,5...2,5, partea aeriană de salvie 1,5...2,5, praf din semințe de amarant 1,5...2,5, extract din partea aeriană a cănepei industriale, obținut prin metoda de crioextracție la temperatura de -48...-54°C cu CO<sub>2</sub>, 1,5...2,5, totodată, balsamul mai conține vin roșu de desert cu tăria de 16% vol. 300...400 ml, alcool etilic de 96% vol. 285...289 ml, caramel 8,5...11,5 g, acid citric 0,07...0,11 g, vanilină 0,21...0,29 g și apă purificată, restul.

Revendicări: 1

MD 1378 Y 2019.10.31

MINISTERUL EDUCAȚIEI  
CULTURII ȘI CERCETĂRII  
AL REPUBLICII MOLDOVA

INSTITUTUL  
DE FIZIOLOGIE ȘI  
SANOCREATOLOGIE

str. Academiei, 1,  
or. Chișinău, MD 2028  
Tel. 72-51-55, fax: (+ 373 22) 73-71-42  
Nr. 163 din 14.11.2019  
La nr.        din



MINISTRY OF EDUCATION  
CULTURE AND RESEARCH  
OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA

INSTITUTE  
OF PHYSIOLOGY AND  
SANOCREATOLOGY

1 Academy Str.  
Kishinau, cod MD 2028  
Tel. 72-51-55, fax: (+ 373 22) 73-71-42

### ACT

de implementare a "Balsamului curativ-profilactic" în laboratorul  
Alimentație și digestie sanocreatologică, brevet de invenție acordat 1368 MD

Prezentul act a fost întocmit de comisia în componența președintelui Vrabie V., dr. șt. biol., director adjunct pe știință, președinte al comisiei metodice a Institutului de Fiziologie și Sanocreatologie și a membrilor comisiei Strutinschi T., dr. hab. șt. biol., șef al laboratorului Alimentație și digestie sanocreatologică al IFS, Poleacova L., dr. șt. biol., cercetător științific în laboratorul Alimentație și digestie sanocreatologică al IFS, Ciochină M., cercetător științific stagiar în laboratorul Alimentație și digestie sanocreatologică al IFS, Varmari N., cercetător științific secția de brevetare și relații internaționale a IFS și atestă implementarea "Balsamului curativ-profilactic", brevet de invenție acordat 1368 MD.

Eficiența balsamului natural nou a fost testată cu scopul sporirii potențialului antioxidant și fortificării sistemului imunitar al organismului. Cercetările experimentale au fost efectuate pe animale model (șobolani albi, linia Wistar). Balsamul testat conține componente naturale din materie primă vegetală autohtonă.

S-a constatat că în perioada cercetărilor experimentale efectuate, care au durat 30 zile, balsamul a avut influență pozitivă asupra activității imunostimulatorii, antioxidante, de detoxifiere.

Astfel, experimentele efectuate au demonstrat, că balsamului curativ-profilactic nou posedă activitate antioxidantă, imunostimulatoare și de detoxifiere sporită și poate fi recomandat pentru utilizare în componența rațiilor atât în calitate de ingredient de sine stătător, cât și în componența alimentației funcționale.

Reieșind din cele expuse, "Balsamul curativ-profilactic", elaborat conform brevetului de invenție acordat 1368 MD manifestă proprietăți antioxidante, este implementat în practica activității laboratorului ca element al alimentației în elaborarea noilor sisteme alimentare, în special, acesta va fi utilizat în elaborarea alimentației funcționale cu activitate oncopreventivă.

Președintele comisiei  
Membrii comisiei



dr. șt. biol. Vrabie V.  
dr. hab. șt. biol. Strutinschi T.  
dr. șt. biol., Poleacova L.  
Ciochină M., cerc. șt. st.  
Varmari N., cerc. șt.

MINISTERUL EDUCAȚIEI  
CULTURII ȘI CERCETĂRII  
AL REPUBLICII MOLDOVA



MINISTRY OF EDUCATION  
CULTURE AND RESEARCH  
OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA

INSTITUTUL  
DE FIZIOLOGIE ȘI  
SANOCREATOLOGIE

INSTITUTE  
OF PHYSIOLOGY AND  
SANOCREATOLOGY

str. Academiei, 1,  
or. Chișinău, MD 2028  
Tel. 72-51-55, fax: (+ 373 22) 73-71-42

1 Academy Str.  
Kishinau, cod MD 2028  
Tel. 72-51-55, fax: (+ 373 22) 73-71-42

Nr. 162 din 14.11.2019  
La nr.        din

### ACT

de implementare a "Balsamului curativ-profilactic" în laboratorul  
Alimentație și digestie sanocreatologică, brevet de invenție acordat 1369 MD

Prezentul act a fost întocmit de comisia în componența președintelui Vrabie V., dr. șt. biol., director adjunct pe știință, președinte al comisiei metodice a Institutului de Fiziologie și Sanocreatologie și a membrilor comisiei Strutinschi T., dr. hab. șt. biol., șef al laboratorului Alimentație și digestie sanocreatologică al IFS, Poleacova L., dr. șt. biol., cercetător științific în laboratorul Alimentație și digestie sanocreatologică al IFS, Ciochină M., cercetător științific stagiar în laboratorul Alimentație și digestie sanocreatologică al IFS, Varmari N., cercetător științific secția de brevetare și relații internaționale a IFS și atestă implementarea "Balsamului curativ-profilactic", brevet de invenție acordat 1369 MD.

Eficiența balsamului natural nou a fost testată cu scopul sporirii potențialului antioxidant și fortificării sistemului imunitar al organismului. Cercetările experimentale au fost efectuate pe animale model (șobolani albi, linia Wistar). Balsamul testat conține componente naturale din materie primă vegetală autohtonă.

S-a constatat că în perioada cercetărilor experimentale efectuate, care au durat 30 zile, balsamul a avut influență pozitivă asupra activității imunostimulatorii, antioxidante, de detoxifiere, citolitice și colestactice.

Astfel, experimentele efectuate au demonstrat, că balsamului curativ-profilactic nou posedă activitate antioxidantă, imunostimulatoare, de detoxifiere, citolitică și colestatică sporită și poate fi recomandat pentru utilizare în componența rațiilor atât în calitate de ingredient de sine stătător, cât și în componența alimentației funcționale.

Reieșind din cele expuse, "Balsamul curativ-profilactic", elaborat conform brevetului de invenție acordat 1369, manifestă proprietăți antioxidante, imunostimulatoare, de detoxifiere, citolitice și colestactice și este implementat în practica activității laboratorului ca element al alimentației în elaborarea noilor sisteme alimentare, în special, acesta va fi utilizat în elaborarea alimentației funcționale cu activitate oncopreventivă.

Președintele comisiei  
Membrii comisiei



dr. șt. biol. Vrabie V.  
dr. hab. șt. biol. Strutinschi T  
dr. șt. biol., Poleacova L.  
Ciochină M., cerc. șt. st.  
Varmari N., cerc. șt.



MINISTERUL EDUCAȚIEI  
CULTURII ȘI CERCETĂRII  
AL REPUBLICII MOLDOVA



MINISTRY OF EDUCATION  
CULTURE AND RESEARCH  
OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA

INSTITUTUL  
DE FIZIOLOGIE ȘI  
SANOCREATOLOGIE

str. Academiei, 1,  
or. Chișinău, MD 2028  
Tel. 72-51-55, fax: (+ 373 22) 73-71-42

Nr. 161 din 14.11.2019  
La nr. din

INSTITUTE  
OF PHYSIOLOGY AND  
SANOCREATOLOGY

1 Academy Str.  
Kishinau, cod MD 2028  
Tel. 72-51-55, fax: (+ 373 22) 73-71-42

### ACT

de implementare a "Balsamului curativ-profilactic" în laboratorul  
Alimentație și digestie sanocreatologică, brevet de invenție acordat 1370 MD

Prezentul act a fost întocmit de comisia în componența președintelui Vrabie V., dr. șt. biol., director adjunct pe știință, președinte al comisiei metodice a Institutului de Fiziologie și Sanocreatologie și a membrilor comisiei Strutinschi T., dr. hab. șt. biol., șef al laboratorului Alimentație și digestie sanocreatologică al IFS, Poleacova L., dr. șt. biol., cercetător științific în laboratorul Alimentație și digestie sanocreatologică al IFS, Ciochină M., cercetător științific stagiar în laboratorul Alimentație și digestie sanocreatologică al IFS, Varmari N., cercetător științific secția de brevetare și relații internaționale a IFS și atestă implementarea "Balsamului curativ-profilactic", brevet de invenție acordat 1370 MD.

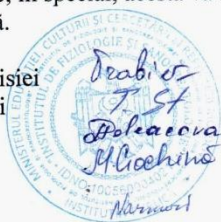
Eficiența balsamului natural nou a fost testată cu scopul sporirii potențialului antioxidant și fortificării sistemului imunitar al organismului. Cercetările experimentale au fost efectuate pe animale model (șobolani albi, linia Wistar). Balsamul testat conține componente naturale din materie primă vegetală autohtonă.

S-a constatat că în perioada cercetărilor experimentale efectuate, care au durat 30 zile, balsamul a avut influență pozitivă asupra activității imunostimulatorii, antioxidante, de detoxifiere.

Astfel, experimentele efectuate au demonstrat, că balsamului curativ-profilactic nou posedă activitate antioxidantă, imunostimulatoare și de detoxifiere sporită și poate fi recomandat pentru utilizare în componența rațiilor atât în calitate de ingredient de sine stătător, cât și în componența alimentației funcționale.

Reieșind din cele expuse, "Balsamul curativ-profilactic", elaborat conform brevetului de invenție acordat 1370 manifestă proprietăți antioxidante, imunostimulatoare, de detoxifiere și este implementat în practica activității laboratorului ca element al alimentației în elaborarea noilor sisteme alimentare, în special, acesta va fi utilizat în elaborarea alimentației funcționale cu activitate oncopreventivă.

Președintele comisiei  
Membrii comisiei



dr. șt. biol. Vrabie V.  
dr. hab. șt. biol. Strutinschi T.  
dr. șt. biol., Poleacova L.  
Ciochină M., cerc. șt. st.  
Varmari N., cerc. șt.

MINISTERUL EDUCAȚIEI  
CULTURII ȘI CERCETĂRII  
AL REPUBLICII MOLDOVA

MINISTRY OF EDUCATION  
CULTURE AND RESEARCH  
OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA

INSTITUTUL  
DE FIZIOLOGIE ȘI  
SANOCREATOLOGIE



INSTITUTE  
OF PHYSIOLOGY AND  
SANOCREATOLOGY

str. Academiei, 1,  
or. Chișinău, MD 2028  
Tel. 72-51-55, fax: (+ 373 22) 73-71-42

1 Academy Str.  
Kishinau, cod MD 2028  
Tel. 72-51-55, fax: (+ 373 22) 73-71-42

Nr. 160 din 14.11.2019  
La nr.            din

### ACT

de implementare a "Balsamului curativ-profilactic" în laboratorul  
Alimentație și digestie sanocreatologică, brevet de invenție acordat 1377 MD

Prezentul act a fost întocmit de comisia în componența președintelui Vrabie V., dr. șt. biol., director adjunct pe știință, președinte al comisiei metodice a Institutului de Fiziologie și Sanocreatologie și a membrilor comisiei Strutinschi T., dr. hab. șt. biol., șef al laboratorului Alimentație și digestie sanocreatologică al IFS, Poleacova L., dr. șt. biol., cercetător științific în laboratorul Alimentație și digestie sanocreatologică al IFS, Ciochină M., cercetător științific stagiar în laboratorul Alimentație și digestie sanocreatologică al IFS, Varmari N., cercetător științific secția de brevetare și relații internaționale a IFS și atestă implementarea "Balsamului curativ-profilactic", brevet de invenție acordat 1377 MD.

Eficiența balsamului natural nou a fost testată cu scopul sporirii potențialului antioxidant și fortificării sistemului imunitar al organismului. Cercetările experimentale au fost efectuate pe animale model (șobolani albi, linia Wistar). Balsamul testat conține componente naturale din materie primă vegetală autohtonă.

S-a constatat că în perioada cercetărilor experimentale efectuate, care au durat 30 zile, balsamul a avut influență pozitivă asupra activității imunostimulatorii, antioxidante, de detoxifiere.

Astfel, experimentele efectuate au demonstrat, că balsamului curativ-profilactic nou posedă activitate antioxidantă, imunostimulatoare și de detoxifiere sporită și poate fi recomandat pentru utilizare în componența rațiilor atât în calitate de ingredient de sine stătător, cât și în componența alimentației funcționale.

Reieșind din cele expuse, "Balsamul curativ-profilactic", elaborat conform brevetului de invenție acordat 1377 manifestă proprietăți antioxidante, imunostimulatoare, de detoxifiere și este implementat în practica activității laboratorului ca element al alimentației în elaborarea noilor sisteme alimentare, în special, acesta va fi utilizat în elaborarea alimentației funcționale cu activitate oncopreventivă.

Președintele comisiei  
Membrii comisiei



dr.șt. biol. Vrabie V.  
dr. hab. șt. biol. Strutinschi T  
dr. șt. biol., Poleacova L.  
Ciochină M., cerc. șt.st.  
Varmari N., cerc.șt.



MINISTERUL EDUCAȚIEI  
CULTURII ȘI CERCETĂRII  
AL REPUBLICII MOLDOVA



MINISTRY OF EDUCATION  
CULTURE AND RESEARCH  
OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA

INSTITUTUL  
DE FIZIOLOGIE ȘI  
SANOCREATOLOGIE

INSTITUTE  
OF PHYSIOLOGY AND  
SANOCREATOLOGY

str. Academiei, 1,  
or. Chișinău, MD 2028  
Tel. 72-51-55, fax: (+ 373 22) 73-71-42  
Nr. 159 a din 14.11.2019  
La nr.        din

1 Academy Str.  
Kishinau, cod MD 2028  
Tel. 72-51-55, fax: (+ 373 22) 73-71-42

ACT

de implementare a "Balsamului curativ-profilactic" în laboratorul  
Alimentație și digestie sanocreatologică, brevet de invenție acordat 1378 MD

Prezentul act a fost întocmit de comisia în componența președintelui Vrabie V., dr. șt. biol., director adjunct pe știință, președinte al comisiei metodice a Institutului de Fiziologie și Sanocreatologie și a membrilor comisiei Strutinschi T., dr. hab. șt. biol., șef al laboratorului Alimentație și digestie sanocreatologică al IFS, Poleacova L., dr. șt. biol., cercetător științific în laboratorul Alimentație și digestie sanocreatologică al IFS, Ciochină M., cercetător științific stagiar în laboratorul Alimentație și digestie sanocreatologică al IFS, Varmari N., cercetător științific secția de brevetare și relații internaționale a IFS și atestă implementarea "Balsamului curativ-profilactic", brevet de invenție acordat 1378 MD.

Eficiența balsamului natural nou a fost testată cu scopul sporirii potențialului antioxidant și fortificării sistemului imunitar al organismului. Cercetările experimentale au fost efectuate pe animale model (șobolani albi, linia Wistar). Balsamul testat conține componente naturale din materie primă vegetală autohtonă.

S-a constatat că în perioada cercetărilor experimentale efectuate, care au durat 30 zile, balsamul a avut influență pozitivă asupra activității imunostimulatorii, antioxidante, de detoxifiere.

Astfel, experimentele efectuate au demonstrat, că balsamului curativ-profilactic nou posedă activitate antioxidantă, imunostimulatoare și de detoxifiere sporită și poate fi recomandat pentru utilizare în componența rațiilor atât în calitate de ingredient de sine stătător, cât și în componența alimentației funcționale.

Reieșind din cele expuse, "Balsamul curativ-profilactic", elaborat conform brevetului de invenție acordat 1378 manifestă proprietăți antioxidante, imunostimulatoare, de detoxifiere și este implementat în practica activității laboratorului ca element al alimentației în elaborarea noilor sisteme alimentare, în special, acesta va fi utilizat în elaborarea alimentației funcționale cu activitate oncopreventivă.

Președintele comisiei  
Membrii comisiei



dr. șt. biol. Vrabie V.  
dr. hab. șt. biol. Strutinschi T  
dr. șt. biol., Poleacova L.  
Ciochină M., cerc. șt. st.  
Varmari N., cerc. șt.

## NOTĂ INFORMATIVĂ

Prin prezenta «Maurt» SRL confirmă producerea seriilor experimentale a suplimentelor alimentare - Balsam (brevete de invenții NrNr MD 1368, 1369, 1370, 1377, 1378 250 ml), conform contractului de licență cu Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie din 24.03.2019. Vă relatăm următoarele informații:

1. Data începerii producerii produsului susnumit, 2019.
2. Cantitatea fabricată în perioada 2019:
  - Balsam MD 1368 - 50 sticle 250 ml.
  - Balsam MD 1369 – 50 sticle 250 ml.
  - Balsam MD 1370 – 50 sticle 250 ml.
  - Balsam MD 1377 – 50 sticle 250 ml.
  - Balsam MD 1378 – 50 sticle 250 ml.

Produsele date au fost fabricate pentru efectuarea investigațiilor științifice (fără drept de comercializare), cu ulterioara înregistrare a lor în Registrul de Stat a suplimentelor alimentare din RM de către IFS, ca detinator de certificat de înregistrare, și SRL «Maurt», ca producător de produs.

Anexa:

1. Copia contractului de licență.

Director  
SRL «Maurt»



Aurel MORAR





**AGEPI**  
AGENTIA DE STAT  
PENTRU PROPRIETATEA  
INTELECTUALA  
A REPUBLICII MOLDOVA

Expoziția Internațională Specializată

**„INFOINVENT”**

Ediția a XVI-a

**DIPLOMĂ**

**MEDALIA DE AUR**

se acordă

**ION MEREUȚĂ, VLADIMIR CARAUȘ,  
AUREL MORAR, SERGHEI CICALCHIN**

pentru

**BALSAMURI NATURALE NOI (CICLU DIN 5 INVENȚII)**

PREȘEDINTELE  
COMITETULUI ORGANIZATORIC

PREȘEDINTELE JURIULUI

20-23 noiembrie 2019,  
Chișinău, Republica Moldova



# Diploma of Excellence

## MEDAL INVENTICA 2019

Offered to

**MEREUȚĂ ION, CARAUȘ VLADIMIR, MORAR AUREL,  
CICALCHIN SERGHEI**

The Institute of Physiology and Sanocreatology

**NEW NATURAL BALSAMS  
(CYCLE OF 5 INVENTIONS)**

in recognition of high scientific contribution and loyalty to  
the XXIII-th INTERNATIONAL EXHIBITION OF INVENTICS

## INVENTICA 2019

Iasi, Romania

26-28 June 2019

GENERAL MANAGER  
NATIONAL INSTITUTE OF INVENTICS  
Prof. Neculai SEGHEIDIN PhD



МЕЂУНАРОДНИ ФЕСТИВАЛ ИНОВАЦИЈА, ЗНАЊА И СТВАРАЛАШТВА  
INTERNATIONAL FESTIVAL OF INNOVATION, KNOWLEDGE AND CREATIONS

# ТЕСЛА ФЕСТ

додељује

## ДИПЛОМУ ЗЛАТНА ПЛАКЕТА

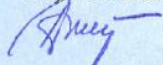
VALERIU RUDIC  
VLADIMIR CARAUS

MOLDOVA

BALSAM SPIRUPOTENT AFRODISIAC

Нови Сад, СРБИЈА 15.10.2017.

Тесла фест,  
председник  
Анђелко Главашевић



Међународни жири  
председник  
Проф. Др Мирослав Ламбић





# CAI Award Invention & Innovation

Presented to

*Vladimir Corauș  
Valeriu Rudic*

in recognition of the outstanding performance and idea  
demonstrated by the invention

exhibited at

*Balsam Spiruculent Afrodisiac*

潘雲鶴

President Mr. Pan Yunhe  
China Association of Inventions (CAI)



International Specialized Exhibiton  
**“INFOINVENT”**

**DIPLOMA**

**GOLD MEDAL**

is awarded to

CARAUȘ VLADIMIR, RUDIC VALERIU

for

BALSAM NATURAL AFRODIZIAC SPIRU POTENT

*L. D. D. D.*  
*Dighe:1.*

CHAIRMAN OF THE  
ORGANIZING COMMITTEE

CHAIRMAN OF THE  
INTERNATIONAL JURY

15-18 November 2017,  
Chisinau, Republic of Moldova



## Certificat de înregistrare a balsamului Spirupotent de către MS al RM

<p>Ministerul Sănătății al Republicii Moldova</p> <p><b>CERTIFICAT DE ÎNREGISTRARE</b></p> <p>Nr. <b>0 9 8 4</b></p> <p>28.09.2017</p> <p>În baza procesului verbal a Comisiei de înregistrare a Suplimentelor Alimentare, (nr. 46 din 12.09.2017) și ordinului Ministerului Sănătății (nr.721 din 28.09.2017), se decide, că</p> <p><b>Produsul: SPIRUPOTENT AFRODIZIAC, soluție produsător: ÎM Farmaco SA, Chișinău, Moldova deținătorul certificatului: SC CSK Grup Plus SRL</b></p> <p>poate fi folosit pe teritoriul Republicii Moldova în condițiile stabilite prin Hotărârea Guvernului nr.538 din 02.09.2009 pentru aprobarea Regulamentului sanitar privind suplimentele alimentare.</p> <p>Parametrii de calitate ai produsului sînt cei prevăzuți în documentele care au stat la baza eliberării prezentului certificat.</p> <p>Orice modificare a compoziției sau a calității acestuia, duce în mod automat la anularea certificatului de înregistrare.</p> <p><b>Președintele Comisiei</b></p> <p><i>Iurie PÎNZARU</i></p>	<p>Ministry of Health of the Republic of Moldova</p> <p><b>REGISTRATION CERTIFICATE</b></p> <p>Nr. <b>0 9 8 4</b></p> <p>28.09.2017</p> <p>In accordance with protocol of the commission for registration of food supplements, the National Center for Public Health (nr. 46 dated 12.09.2017) and the order of the MoH (nr.721 dated 28.09.2017), the Ministry of Health of the Republic of Moldova has decided that, the</p> <p><b>Product: SPIRUPOTENT AFRODIZIAC, solution producer: ÎM Farmaco SA, Chișinău, Moldova certificate holder: SC CSK Grup Plus SRL</b></p> <p>can be used in the Republic of Moldova on the conditions regulated under GD nr.538 from 02.09.2009 for the approval of Sanitary Regulations food supplements.</p> <p>The quality of the product is which it is stipulated by the documentations which were the basis for giving this particular certificate.</p> <p>Any modification of the composition or quality of the product automatically nullifies the registration certificate.</p> <p><b>Head of the Commission</b></p> <p><i>Iurie PÎNZARU</i></p>
---	--



Certificat de înregistrare a mărcii Făt-Frumos, Moldova

REPUBLICA MOLDOVA



Agentia de Stat pentru  
Proprietatea Intelectuală

**CERTIFICAT**  
DE ÎNREGISTRARE  
A MĂRCII

**Nr. 24744**

În temeiul Legii privind protecția mărcilor  
nr. 38-XVI/2008, marca de pe verso a fost înregistrată  
în Registrul Național al Mărcilor și a obținut  
protecția pe teritoriul Republicii Moldova  
pe termen de 10 ani



Director General

CHIȘINĂU

(111) **24744**  
(151) 2013.10.25  
(181) 2022.10.05  
(210) 031888  
(220) 2012.10.05  
(730) **CARAUȘ Vladimir, MD**  
Str. Independenței nr. 24, bloc 2, ap. 60, MD-2060, Chișinău, Republica Moldova  
(540)

## FĂT-FRUMOS

(511) NCL(10)  
33 - băuturi alcoolice (cu excepția berii).

L.Ș.



Director Departament Mărci, Modele și Desene Industriale

**AGEPI**  
DEPARTAMENTUL MĂRCI,  
MODELE ȘI DESENE  
INDUSTRIALE



Certificat de înregistrare a mărcii Făt-Frumos, România

ROMÂNIA



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI

Certificat de înregistrare  
a mărcii

Nr. 130609

Acordat în temeiul Legii nr 84/1998 privind mărcile și indicațiile geografice(republicată), pentru marca:

**FĂT-FRUMOS**

Durata de protecție a mărcii este de zece ani cu începere de la data de **26.03.2013**, cu posibilitatea de reînnoire.

Marca este înregistrată pentru clasele de produse/servicii înscrise în fila din Registrul Mărcilor.

Prezentul certificat este valid numai însoțit de fila din Registrul Mărcilor corespunzătoare mărcii înregistrate.

Confirm cele de mai sus  
prin semnarea și aplicarea sigilului

DIRECTOR-GENERAL



<b>NUME DE MARCĂ</b>	<b>SOLICITANT</b>	<b>MANDATAR</b>
FĂT-FRUMOS	VLADIMIR CARAUȘ Str. Independenței nr. 24, bl. 2, ap. 60, CHIȘINĂU, REPUBLICA MOLDOVA	CABINET ENPORA INTELLECTUAL PROPERTY SRL Str. George Calinescu nr. 52A, ap. 1, sector 1, 11694 BUCUREȘTI
<b>NUMĂR REGISTRATURĂ</b>		
M2013/002076		
<b>DATA REGISTRATURĂ</b>		
26.03.2013		
<b>REPRODUCERE MARCĂ</b>	<b>NUMĂR DEPOZIT</b>	<b>PRIORITATE</b>
	M 2013 02076	
	<b>DATA DEPOZIT</b>	
	26.03.2013	
	<b>NUMĂR MARCĂ</b>	
	130609	
<b>TIPUL MĂRCII</b>	<b>DESCRIERE MARCĂ</b>	<b>CULORI REVENDICATE</b>
Verbală <input checked="" type="checkbox"/>		
Figurativă <input type="checkbox"/>		
Combinată <input type="checkbox"/>		
Tridimensională <input type="checkbox"/>		
Individuală <input checked="" type="checkbox"/>		
Colectivă <input type="checkbox"/>		
De certificare <input type="checkbox"/>		
Indicatie geografica <input type="checkbox"/>		
<b>AVIZ DE PUBLICARE LA DATA</b>	<b>BOPI NR</b>	<b>TITULAR</b>
P 08.08.2013 P 08.08.2013	P1 3/2013 P 7/2014	VLADIMIR CARAUȘ Str. Independenței nr. 24, bl. 2, ap. 60, CHIȘINĂU, REPUBLICĂ MOLDOVA
	<b>DATA EXPIRĂRII</b>	
	26.03.2023	

### **Declarația privind asumarea răspunderii**

Subsemnatul, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Numele, prenumele: Carauș Vladimir

Semnătura

Data

## INFORMAȚII PERSONALE CARAUȘ Vladimir



📍 str. Independenței, 24/2, ap.60, MD 2060, Chișinău, Republica Moldova.

📞 + 373 69-10-88-78 📠 + 373 22-76-34-17 📠 + 373 22-76-34-17 📠 + 373 78-88-40-80

✉ caraus\_vadim@mail.ru

Sexul Masculin | Data nașterii 15 Aug 1965 | Naționalitatea moldovean

## EXPERIENȚA PROFESIONALĂ

17/04/2019 – present Cercetător științific Centrul de studii a Medicamentului USMF N. Testemițanu 0,25

01/01/2019 – present Cercetător științific Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie MECC RM, 0,75 salariu

18/07/2018 – 01/01/2019 Consultant științific SC "CSK GRUP PLUS" SRL, RM

11/06/2018 – 18/07/2018 Director general IM "Farmaco" SA

30/01/2006–05/05/2018 Vicedirector ÎM "Farmaco" SA

15/08/2002–30/01/2006 Farmacist diriginte S.R.L "Hacaci-Farm"

30/12/2001–14/08/2002 Vicedirector - S.R.L. „Speranța - Farm”

03/05/1993–02/11/2001 Șef farmacie - Farmacia nr.343 din mun. Chișinău (SRL„Odolean”)

07/12/1992–03/05/1993 Șef- adjunct - Direcția principală a aplicării în practică a medicamentelor și tehnici medicale noi - MS Republica Moldova

14/11/1988–07/12/1992 Șef farmacie - Farmacia nr.449 SCM Nr.1 din mun. Chișinău

03/08/1987–14/11/1988 Inspector- farmacist - Direcția farmaceutică generală a MS RSSM

## EDUCAȚIE ȘI FORMARE

1982–1987 Farmacist, diploma PV nr.609348 din 25 iunie 1987.

Superioară

Institutul de Stat de Medicină din Chișinău, Republica Moldova.

Studii superioare. Farmacist, categoria superioară.

2016 - prezent Universitatea AȘM, Școala doctorală, Științe Biologice, student – doctorand.

2011 Conferința științifico-practică internațională /Drama Pneumonia – cine sunt actorii cheie/, Chișinău, Moldova.

2012 Conferința științifico-practică /Dimensiunile științifico-practice ale activității farmaceutice,

- 2013 Chișinău, Moldova.  
Congresul VII al Farmaciștilor din RM.
- 2014 Vice-redactor revistei «INFOMED».
- 2015 Conferința ȘP /Medicamentul de la idee la farmacie/, Chișinău, Moldova.  
Studii de perfecționare “Standarde de lucru persoanei calificate”, compania “Vialek”.  
Certificat Nr. 1/10/2015 – 5 din 23.10.2015
- 2016 Curs de instruire pentru investigatori «Bazele bunelor practice in studiul clinic - GCP»  
26-27 aprilie 2016, Chișinău, Republica Moldova.
- 2016 Simpozion Național de Oncologie cu participare internațională /Vigilența oncologică în activitatea medical, depistarea precoce și tratamentul tumorilor/, Chișinău, Moldova.
- 2016 Universitatea AȘM, Școala doctorală – Științe Biologice – student – doctorand anul 1.  
Absolviți cursul: Formare auditori interni în domeniul calității, conform ISO 19011:2011 și referențiatului ISO 9001:2015 – Sisteme de Management al Calității. Cerințe. Chișinău, 22 martie – 04 aprilie a. 2017. Certificat Nr. 001149.
- 2017 Curs de instruire /Practica de implementare GDP/ Certificat Nr. 18/10/2017/002/Vialek/.
- 2018 Particularitățile formării modulelor 1-5 dosarului de autorizare în format CTD /Certificat 22/06/2018 – 0161/Vialek/.
- 2018 Standarde de lucru persoanei calificate conform GMP/GDP /Certificat 2018/001/ Vialek/
- 2018 Auditul furnizorilor de materii prime și auxiliare /Certificat 22/06/2018 – 0162/Vialek/.
- 2018 Conferința științifico-practică cu genericul “Principii și direcții de dezvoltare a farmaciei moderne”, Chișinău, 12.09.2018, certificat Nr. 1125, s. FMX XVIII.
- 2018 Conferința științifică internațională “Biotehnologii microbiologice”, 4 ed., AȘM RM, Chișinău, 11.10.2018.
- 2018 Conferința Națională de Demografie Medicală «Tendențele fenomenelor demografice din RM și păstrarea genofondului țării», Cert. seria MMX cod. XVIII nr. 18768 din 26.10.18.
- 2018 Curs de instruire/ Metode de lucru în domeniul neconformităților și încălcărilor.  
Efectuarea îndeplinirii obligațiilor în corectarea și prevenirea acțiunilor (CAPA) – 04.12.2018, RM.
- 2019 Curs de instruire /Standarde de lucru Persoanei calificate – 13.02.2019, RM.  
Expoziția internațională ed. 11, EuroInvent, 18.05.2019, România, Iași.
- 2019 Conferința internațională ed. VII cu genericul Întrebări actuale a reabilitării în medicină și sport, Federația Rusă, Centrul Internațional Reșma, regiunea Ivanovo/, 23 – 24.05.2019.

## COMPETENȚE PERSONALE

Limba maternă	română				
Alte limbi străine cunoscute	ÎNTELEGERE		VORBIRE		SCRIERE
	Ascultare	Citire	Participare la conversație	Discurs oral	
rusă	C2	C2	C2	C2	C2
franceză	A2	B1	A2	A2	B1

Niveluri: A1/A2: Utilizator elementar - B1/B2: Utilizator independent - C1/C2: Utilizator experimentat  
[Cadru european comun de referință pentru limbi străine](#)

Competențe de comunicare Bune abilități de comunicare dobândite în urma experienței

Competențe organizaționale/manageriale Leadership (în prezent, sunt responsabil de o echipă de 100 și mai multe persoane)

Competențe dobândite la locul de muncă Dobândite în cursul vieții și carierei dar care nu sunt recunoscute neapărat printr-un certificat sau



diplomă

#### Competențe informatice

Windows, (MS Word, MS Excel, Power Point), Internet Explorer

#### INFORMAȚII SUPLIMENTARE

##### INVENȚII, MEDICAMENTE ELABORATE, DIPLOME, MONOGRAFII

##### Invenții

- Medicamentul Balsam buvabil "Fat- Frumos", înregistrat în RM;
- Supliment alimentar biologic activ Balsam „Spirupotent Afrodisiac”, notificat în România;
- Supliment alimentar biologic activ Balsam "Făt - Frumos", notificat în România;
- Dezinfectant Efect-forte MC - 20% , înregistrat în RM;
- Antiseptic pentru mâini DM&CSK înregistrat în RM;
- Metoda de tratament a nevrozelor la judecători (Certificat de Inovator nr.4595 din 28.02.2008 MS RM);
- Remediu pentru proflaxia și tratamentul precancerilor și cancerului incipient. (Certificat de Inovator Nr. 5270 din 06.11.2013 MS RM);
- Balsam cu efect aphrodisiac, brevet s 2017 0050;
- Ciclul de invenții - Balsamuri naturale noi – brevet 1378 MD, 1377 MD, 1370 MD, 1369 MD, 1368 MD - 2019.

Brevete de invenție deținute: **36**

##### Diplome

- AGEPI, Invenția anului 2005, locul I
- AGEPI, Inventatorul anului 2007, locul I
- AGEPI, Invenția anului 2008 (Remediu dezinfectant)
- AGEPI, Inventatorul anului 2009, locul 1
- Diploma și medalia de argint la expoziția INVENTICA, București, România, 2014
- Diploma și medalia de argint la expoziția tehnologiilor inovative EURECA, Brussels, 2014
- Diploma și ordinul în grad de CAVALER «Labor improbus Omnia Vincit», Nr. 14801, Brussels EUREKA – 2014
- Salonul internațional de invenții , Geneva 2015, medalia de bronz
- Salonul internațional de invenții, Inventica 2015, Iași, România, medalie de aur
- EIS Infoinvent 2015, Chișinău, Moldova, 2 medalii de aur
- SII PRO INVENT, ediția a XIV-a, 2016, Cluj-Napoca, România – medalia de aur cu mențiune specială. Diplomă de excelență.
- Diplomă și medalia de aur INVENTICA 2016, Iași, România, 29 iunie – 01 iulie 2016.
- Diploma și medalia de aur Tesla Fest, Serbia, 15.10.2017.
- Diploma și medalia de excelență CAI Award Invention&Innovation, 2017.
- Diploma și medalia de aur ISE Infoinvent XV-th Edition, Chisinau ,2017.
- Diploma și medalia de aur la EuroInvent ,11 ed., Iași, România, 18.05.2019.
- AGEPI – INFOINVENT 2019 – diploma și medalia de aur, Chisinau, 23.10.2019.

##### Monografii

1. Coautor al monografiei științifice "Profilaxia cancerului-balsamurile curative profilactice", mun. Chișinău, 2005;
2. Coautor al monografiei științifice "Actualități în tratamentul și profilaxia infecțiilor virale", mun. Chișinău 2012.
3. Coautor al monografiei științifice "Hepatita virală C în grupurile cu risc sporit de infectare", Chișinău, 2016.

##### Activitate pedagogică

2006-2016 - Colegiul Național de Medicină și Farmacie - profesor netitular "Tehnologia medicamentelor industriale".

Coordonator și conducător al practicilor de producere în tehnologia medicamentelor industriale studenților facultății farmacie anului V al USMF "N. Testemițanu".

