

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
"VICTOR BABEȘ" TIMIȘOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ GENERALĂ
DEPARTAMENTUL V MEDICINĂ INTERNĂ I

LIVIA-CRISTINA AVRAM (căs. BORCAN)



TEZĂ DE DOCTORAT

STUDII ÎN DOMENIUL HIDROGENULUI SULFURAT
ȘI AL UNOR FITOCOMPUȘI CU ACȚIUNE ASUPRA
APARATULUI CARDIOVASCULAR

Conducător Științific
PROF. UNIV. DR. MIRELA CLEOPATRA TOMESCU

REZUMAT

Timișoara
2019

CUPRINS

Lista lucrărilor publicate.....	V
Lista abrevierilor	VI
Indexul Figurilor.....	IX
Indexul Tabelelor.....	XI
Mulțumiri.....	XII
INTRODUCERE	XIII
PARTEA GENERALĂ.....	1
I. ANALIZA DESCRIPTIVĂ A CUNOAȘTERII ÎN DOMENIU	1
I.1 Hidrogenul sulfurat și alți compuși gazoși ai sulfului	1
I.1.1 Generalități. Caracterizarea fizico-chimică	2
I.1.2 Surse	4
I.1.3 Impactul asupra organismului uman	5
I.1.4 Date toxicologice	11
I.2 Fitocompuși cu activitate asupra aparatului cardiovascular	15
I.2.1 Plante utilizate în diverse terapii	15
I.2.2 Principiile active din plantele medicinale	20
I.2.3 Metode de obținere a extractelor naturale.....	22
I.3 Creșterea eficienței terapeutice	25
I.3.1 Căi de administrare alternative	25
I.3.2 Încapsularea principiilor active	26
I.3.2.1 Introducere.....	26
I.3.2.2 Tipuri de nanostructuri	27

PARTEA SPECIALĂ	33
II. CONTRIBUȚII ÎN DOMENIUL EXPUNERII PRELUNGITE LA HIDROGEN SULFURAT	33
II.1 Argument	33
II.2 Obiective	34
II.3 Evaluarea sănătății unor subiecți expuși la locul de muncă	34
II.3.1 Introducere	35
II.3.2 Materiale și metode	37
II.3.3 Rezultate și discuții	38
II.3.4 Concluzii	45
II.4 Corelații între factori externi și nivelul sulfului total excretat urinar	45
II.4.1 Introducere	45
II.4.2 Materiale și metode	47
II.4.3 Rezultate și discuții	48
II.4.4 Concluzii	53
II.5 Evaluarea riscului de infarct miocardic	53
II.5.1 Generalități	53
II.5.2 Contribuții personale	57
II.6 Obținerea unei compoziții filtrante pentru protecția individuală a subiecților expuși la hidrogen sulfurat gazos	61
II.6.1 Descriere	61
II.6.2 Contribuții personale	67
II.7 Perspective de continuare a cercetării	71
III. SINTEZA ȘI CARACTERIZAREA PRELIMINARĂ A UNOR CARRIERI MEDICAMENTOȘI	72
III.1 Scopul studiilor	72
III.2 Obiective	73
III.3 Obținerea și caracterizarea unor structuri poliuretanic utilizabile ca transportori transmembranari	74

III.3.1 Transportul facilitat al unui extract de ardei iute	74
III.3.2 Încapsularea unui extract de ghimbir	85
III.3.3 Picături cu extract de usturoi sau vâsc	94
III.3.4 Extractul de mesteacăn	102
III.4 Perspective de continuare a studiilor	106
CONCLUZII	107
BIBLIOGRAFIE	111
ANEXE	I
Formular de informare privind participarea la studiu	I
Chestionar privind stilul de viață	IV
Borcan LC <i>et al.</i> Int. J. Nanomed. 2018; 13:7155-7166	VIII
Borcan F <i>et al.</i> Int. J. Nanomed. 2019; 14:3691-3703	XX

CUVINTE CHEIE:

ardei iute
ghimbir
mesteacăn
mexametrie
poliuretan
sistem de livrare de medicamente
tewametrie
usturoi
vâsc

TEZĂ DE DOCTORAT

STUDII ÎN DOMENIUL HIDROGENULUI SULFURAT ȘI AL UNOR FITOCOMPUȘI CU ACȚIUNE ASUPRA APARATULUI CARDIOVASCULAR

Rezumat

Substanțele chimice naturale și sintetice ne înconjoară permanent având un impact major asupra mediului înconjurător, dar și asupra sănătății noastre. Există substanțe chimice care ne tratează sau ameliorează diferite afecțiuni atunci când sunt utilizate rațional, dar există o mulțime de substanțe chimice care au fost catalogate ca toxice chiar și atunci când ajung în preajma omului în concentrații reduse. Substanțele toxice sunt cunoscute deja de majoritatea oamenilor. În momentul de față este necesară dezvoltarea de filtre moderne de protecție, de echipamente individuale de protecție, de sensori de siguranță și de continuarea studiilor în domeniul descoperirii unor noi soluții privind antidotul în caz de intoxicație, dar mai ales în domeniul expunerii profesionale prelungite la concentrații reduse ale toxicelor cunoscute.

În studiul afecțiunilor legate de locul de muncă, foarte multe țări nu pun un accent deosebit pe expunerea cronică a angajaților la substanțe toxice în concentrații reduse, expunere ce nu conduce la intoxicații sau alte simptome evidente imediat. Din păcate, există o mulțime de persoane care acuză stări de oboseală, un nivel crescut de stress sau prezintă simptome cardiovasculare și a căror sursă rămâne neidentificată.

Băile Herculane este stațiunea din sud-vestul României, recunoscută pe plan mondial pentru izvoarele sale cu ape sulfuroase și climă temperat-mediteraneeană. Un aspect foarte important în domeniul *Sănătății și securității muncii* îl constituie expunerea permanentă la compuși sulfuroși gazoși a angajaților din domeniul medical, care deservește bazele de tratament. Efectele toxice ale expunerilor acute la hidrogen sulfurat sunt cunoscute de zeci de ani. Cu toate acestea, numărul cercetărilor în care se investighează efectele adverse asupra sănătății datorate expunerii cronice la nivel scăzut al acestui toxic sunt limitate. Acidul sulfhidric (H_2S), cum este cunoscut de către lumea științifică hidrogenul sulfurat, este un gaz urât mirositor care provoacă iritații oculare și respiratorii la concentrații reduse și devine fatal la concentrații de aproximativ 500 ppm; deși H_2S este emis natural în unele zone geotermale și vulcanice, cea mai mare parte a expunerii umane provine de la procese industriale, precum instalațiile de tratare a apelor reziduale, fabricile de hârtie,

rafinările de petrol și gaze, respectiv de la fermele de creștere a animalelor. Nu trebuie neglijat faptul că H_2S este produs la niveluri scăzute în organismul uman și are funcții fiziologice de semnalizare. Literatura de specialitate vorbește frecvent de intoxicații acute, de accidente de muncă și chiar de cazuri de suicid cu hidrogen sulfurat, dar foarte rar apar raportate expunerile cronice. Astfel, cercetarea cu privire la efectele cognitive ale expunerii prelungite la un nivel scăzut al H_2S prezintă un interes deosebit.

În ceea ce privește tratarea sau ameliorarea unor afecțiuni cu ajutorul unor produse pe bază de plante, în momentul actual al dezvoltării economice, științifice și industriale a țărilor dezvoltate, există o împărțire evidentă a societății între încredători sau utilizatori pe de o parte și sceptici pe de altă parte. Într-o lume în care produsele farmaceutice de sinteză implică costuri enorme și perioade îndelungate de la etapa de *drug design* și până la punerea pe piață, este firesc ca promovarea acestora să se facă agresiv pentru a stimula încrederea cumpărătorilor. Nu trebuie să uităm însă că omenirea a rezistat în fața multor provocări naturale (molime), chiar și fără a avea la îndemână medicamente de sinteză. Se cunoaște faptul că plantele au fost folosite din cele mai vechi timpuri pentru proprietățile lor medicinale, încă din epoca egiptenilor (în urmă cu 3.500 ani), atunci când cepele erau folosite pentru tratamentul rănilor inflamate. Nu doar în Egiptul antic utilizarea plantelor cu scop medical era cunoscută, ci și în celelalte civilizații timpurii precum Grecia, Imperiul roman, India și China, care se bucurau de utilizarea frecventă și larg răspândită a plantelor pentru proprietățile lor medicinale.

Dezvoltarea sistemelor de livrare / transport de substanțe biologice active a devenit unul dintre cele mai interesante domenii de cercetare, situat la frontiera dintre chimiști, biologi, medici și farmaciști în ultimele două decenii. Au fost create particule cu dimensiuni cuprinse între 1-5.000 nm în funcție de receptorul țintit, cu eliberare întârziată, de tip miceli sau lipozomi, nanofibre sau nanotuburi, nanoparticule anorganice de tip hidroxiapatită, acoperite cu aur sau argint, nanoemulsii și nanogeluri, studiile continuând în fiecare an cu îmbunătățirea rezultatelor deja obținute de echipe de cercetare mixte. Mulțimea lucrărilor de cercetare publicate și trendul ascendent al numărului acestora în fiecare an, demonstrează că sistemele de livrare a medicamentelor sunt eficiente în maximizarea efectului terapeutic, reducând în același timp toxicitatea unor substanțe biologice active.

În privința compușilor naturali cu activitate biologică, pe lângă multitudinea de efecte benefice pe care o posedă, consumul de fitocompuși nu a evidențiat niciodată efecte adverse la nivelul celor înregistrate în cazul medicamentelor de sinteză. Din păcate, medicația bazată pe extracte de plante nu s-a dezvoltat suficient deoarece există multe clase de fitocompuși cu o stabilitate și solubilitate scăzute, dar aceste impedimente pot fi corectate prin realizarea de formulări biocompatibile care să păstreze proprietățile lor biologice active. În vederea stabilizării extractelor brute, în studiile prezentate în această

teză s-a recurs la încapsularea acestora în nano- și micro-structuri poliuretanică.

În ultimele patru decenii, utilizarea poliuretanului acoperă multe domenii medicale, cum ar fi: dispozitive cardiovasculare (catetere, proteze vasculare, stimulatori cardiace), materiale pentru chirurgia reconstructivă (pansamente pentru răni, implanturi mamare, proteze maxilo-faciale, alte implanturi), obstetrică și ginecologie (prezervative, bureți contraceptivi).

Prima parte a tezei, ce se întinde pe 32 pagini, prezintă în Capitolul I. *Analiza descriptivă a cunoșterii în domeniu*, un studiu de literatură în care sunt prezentate generalități legate de hidrogenul sulfurat - trecând în revistă descoperirea sa, sursele de H₂S, câteva caracteristici fizico-chimice, impactul său asupra organismului uman și câteva date toxicologice - respectiv noțiuni cu caracter general despre cei mai importanți fitocompuși cu acțiune asupra aparatului cardiovascular. Se pune accent atât pe istoricul plantelor medicinale, pe descoperirile înscrisurilor vechi din India, China sau Grecia antică, cât și pe dezvoltarea tot mai rapidă a suplimentelor alimentare, care au la bază dependența umană de materiile prime de natură vegetală cu ajutorul cărora ne menținem sănătatea și ne vindecăm sau ameliorăm o serie de afecțiuni.

Al doilea capitol conține studii asupra unui grup de indivizi, angajați ai sistemului medical care deservește bazele de tratament din stațiunea Băile Herculane, o localitate situată în sud-vestul României, în județul Caraș-Severin, zona Valea Cernei, cunoscută de-a lungul istoriei pentru factorii săi naturali (un climat depresionar intramontan, cu puternice influențe submediteraneene, ape minerale izo- și hiper-termale - între 38 și 60 °C - hipotone, cu diferite compoziții chimice: sulfuroase, clorurate, calcice, sodice), care favorizează diverse tratamente, precum aerohelioterapie, băi termale în bazin descoperit, respectiv băi termale sulfuroase și sărate în bazine acoperite, buvete pentru cură internă cu ape minerale, instalații de hidrotermoterapie (și saună), electroterapie, kinetoterapie, hidrokinetoterapie în bazine și terapie inhalatorie.

De asemenea, a reprezentat un real interes corespondența între factori externi precum parametrii meteorologici (temperatura și umiditatea mediului ambiant, presiunea atmosferică și cantitatea de precipitații) și nivelul de hidrogen sulfurat atmosferic pe de o parte, respectiv concentrația de sulf total excretat urinar, dar și influența vitaminei B12, un cunoscut antidot, utilizat în intoxicațiile cu H₂S.

Sunt prezentate succesiv relații cantitative între dietă, stilul de viață și tensiunea arterială ale acestor subiecți umani, respectiv o aplicație informatică pentru calculul riscului de infarct miocardic și o invenție care ar putea preveni expunerea pe termen lung a angajaților la diferite concentrații de hidrogen sulfurat.

Principalele contribuții proprii ale doctorandului constă în multiple corelații între stilul de viață al indivizilor evaluați pe de o parte și valorile tensiunii arteriale înainte și după expunerea zilnică la hidrogen sulfurat, respectiv între condițiile meteorologice (temperatură, presiune atmosferică, umiditate), nivelul hidrogenului sulfurat atmosferic și cel al sulfului excretat urinar pe de altă parte.

Echipa de cercetători din care face parte doctorandul are intenția de a continua studiile descrise în Capitolul II. *Contribuții în domeniul expunerii prelungite la hidrogen sulfurat* al acestei teze în următoarele direcții:

- continuarea studiilor în zona Băile Herculane prin utilizarea unui pulsoximetru;
- evaluarea proliferării celulare endoteliale la indivizi expuși la hidrogen sulfurat gazos comparativ cu un lot martor;
- dezvoltarea unui bio-senzor pentru detectarea hidrogenului sulfurat gazos;
- obținerea de compoziții filtrante pentru alți compuși sulfuroși gazoși;
- dezvoltarea de noi aplicații on-line și off-line pentru determinarea toxicității locului de muncă și a riscului de accident vascular.

În ultimul capitol sunt prezentate cercetări cu privire la obținerea unor carrieri medicamentoși de tip polimeri organici care modifică caracterul hidrofil-hidrofob al substanțelor încapsulate îmbunătățind astfel transferul transmembrantar.

De asemenea, sunt trecute în revistă o serie de tehnici folosite în caracterizarea nano- și micro-structurilor utilizabile ca transportori medicamentoși: evaluări ale solubilității produșilor obținuți în diverși solvenți, determinarea pH-ului probelor, tehnica de analiză a mărimii și stabilității particulelor coloidale (zetasizer), analize termice (calorimetria cu scanare diferențială, DSC - utilizabilă pentru descrierea comportamentului termic al probelor), tehnici spectrale (MALDI-TOF, FTIR, UV-Viz), evaluarea aspectului probelor prin microscopie electronică (SEM) și prin tehnici moderne bazate pe bombardarea probei cu neutroni (SANS), depistarea *in vivo* și *in vitro* a toxicității unor probe noi (studii de citotoxicitate și de iritabilitate cutanată) etc.

Sunt prezentate structuri poliuretanică utilizate pentru transportul unor extracte naturale de ardei iute, ghimbir, usturoi și vâsc, coajă de mesteacăn, dar și intenția de a obține în viitor transportori transmembranari utilizabili pentru substanțe medicamentoase deja consacrate în tratarea unor afecțiuni cardiovasculare.

Alături de colegii din universitatea noastră (Facultatea de Farmacie, respectiv Disciplina de Genetică medicală) și cei de la Wigner Research Centre for Physics Budapesta cu care colaborăm, avem în vedere continuarea acestor studii pentru dezvoltarea unor carrieri transmembranari utilizați pentru încapsularea de substanțe active pure (API) consacrate în tratamentul unor afecțiuni cardiovasculare.