

Universitatea de Medicină și Farmacie Victor Babeș Timișoara
Facultatea de Farmacie
Disciplina de Botanică farmaceutică

MEMORIU ȘTIINȚIFIC ASUPRA TEZEI DE DOCTORAT

Pharmacobotanical studies on Coffea arabica and some extracts from green seeds

Doctorand: Asist. univ. farm. Petrușe Grațiana (căs. Ruse)

Coordonator: Prof.univ.dr.habil.farm. Tchiakpe-Antal Diana-Simona

Motivarea cercetării

În ultimele decenii, interesul pentru produsele naturale ca surse de compuși bioactivi a cunoscut o creștere semnificativă, în contextul tendinței globale de a identifica alternative sigure, eficiente și sustenabile pentru terapiile convenționale. Printre plantele cu relevanță biomedicală și dermato-cosmetică, *Coffea arabica* L. se distinge printr-un profil fitochimic complex și printr-o versatilitate demonstrată atât în nutriție, cât și în aplicații farmaceutice și cosmetice.

Studiile existente evidențiază faptul că semințele verzi și torefiate, frunzele, reziduul rămas după percolare (zațul) și uleiul gras extras din semințele din *Coffea arabica* conțin un spectru larg de compuși bioactivi – în principal alcaloizi (cafeină, trigonelină), acizi fenolici (în special acid clorogenic), flavonoide, lipide și proteine – care conferă proprietăți antioxidante, antiinflamatorii, antibacteriene, anti-îmbătrânire și regeneratoare. În plus, complexitatea genetică a speciei (alotetraploidă, derivată din hibridizarea *Coffea canephora* și *Coffea eugenioides*) este corelată cu o diversitate biochimică ce justifică explorarea detaliată a extractelor în vederea valorificării biomedicale.

Un argument suplimentar pentru alegerea acestei direcții de cercetare este reprezentat de interesul emergent în oncologie, în special în contextul melanomului – una dintre cele mai agresive forme de cancer cutanat, caracterizat prin incidență în creștere, mortalitate ridicată și opțiuni terapeutice limitate în stadiile avansate. Identificarea de agenți naturali cu potențial chemopreventiv sau adjuvant constituie, prin urmare, o prioritate în cercetarea oncologică.

Coffea arabica este o sursă bogată de compuși bioactivi, precum acizii clorogenici, flavonoidele și terpenele, cu proprietăți antioxidante și antiinflamatorii bine documentate. Studii

preclinice au demonstrat că acești metaboliți secundari pot reduce stresul oxidativ, modula răspunsuri inflamatorii, induce apoptoza și suprima proliferarea celulară în diverse modele tumorale. În mod particular, acidul clorogenic s-a asociat cu mecanisme de protecție genomică și efecte antiproliferative.

Un mecanism suplimentar de interes este inhibarea tirozinazei, enzimă-cheie în melanogeneză, care sugerează posibile implicații pentru tumorile pigmentare, deși relevanța sa oncologică directă necesită validare. În plus, efectele cumulative rezultate din interacțiunile sinergice ale compușilor din *Coffea arabica* sunt insuficient caracterizate, dar potențial relevante pentru oncogeneză.

În prezent, datele directe asupra melanomului uman sunt limitate și neconcludente, ceea ce subliniază noutatea și importanța cercetării propuse. Investigarea sistematică a extractelor de *Coffea arabica* prin modele *in vitro* și *in vivo* poate oferi fundament științific solid pentru dezvoltarea unor strategii preventive sau terapeutice adjuvante împotriva melanomului.

Un alt motiv central al cercetării îl constituie lipsa studiilor comparative detaliate privind influența diferiților solvenți de extracție (polari și nepolari) asupra profilului fitochimic și bioactivității extractelor de semințe verzi de *Coffea arabica*. Majoritatea cercetărilor anterioare se concentrează pe cafeaua prăjită sau pe fracțiuni limitate, ceea ce lasă descoperită o zonă importantă a cercetării aplicative. Optimizarea proceselor de extracție este esențială pentru maximizarea randamentului compușilor bioactivi, iar evaluarea preliminară a bioactivității extractelor (antioxidantă, antimicrobiană, antitumorală) reprezintă un pas obligatoriu pentru validarea utilizării lor biomedicale.

În plus, introducerea unor teste de biosecuritate, precum HET-CAM (Hen's Egg Test on the Chorioallantoic Membrane), constituie o dimensiune de originalitate a acestei teze. Această metodă alternativă de testare, recunoscută pentru capacitatea sa de a evalua reacțiile inflamatorii și iritative, permite validarea preliminară a siguranței extractelor obținute, înaintea unor aplicații *in vivo* complexe. Astfel, cercetarea răspunde și unei nevoi stringente de conformitate cu directivele internaționale privind reducerea utilizării animalelor de laborator.

În concluzie, motivarea acestei cercetări se sprijină pe:

- potențialul biomedical și dermato-cosmetic ridicat al *Coffea arabica*, datorită compoziției fitochimice complexe;
- necesitatea identificării de noi adjuvanți naturali în terapia melanomului, cu accent pe mecanisme antioxidante și antiinflamatorii;
- lipsa datelor experimentale directe asupra liniilor celulare de melanom și asupra efectelor comparative ale diferitelor extracte;
- oportunitatea dezvoltării unor produse inovatoare, sustenabile și sigure, cu aplicabilitate imediată în domeniul farmaceutic și cosmetic;
- introducerea unor metode moderne de screening biologic și biosecuritate, care conferă un caracter de noutate și originalitate lucrării.

Astfel, cercetarea de față răspunde unei nevoi științifice reale și actuale, contribuind atât la avansul cunoașterii fundamentale, cât și la crearea unor premise practice pentru valorificarea *Coffea arabica* ca resursă naturală cu impact în medicina modernă și în industria dermato-cosmetică.

Lista publicațiilor științifice care fac parte integrantă din teza de doctorat

Datele prezentate în teza de doctorat, au făcut obiectul a trei articole științifice, cu doctoranda prim autor, din care 2 articole indexate ISI, cu factor cumulat de impact de 5.7, publicate în jurnalele Pharmaceuticals (MDPI) și Farmacia (România), respectiv un articol indexat BDI și PubMed, publicat în jurnalul Medicine and Pharmacy Reports (România).

1. Ruse G, Tchiakpe-Antal DS, Moacă EA, Semenescu AD, Vlase AM, Muntean D, Ardelean F, Jojic AA, Voicu M, Chevereșan A, Hegheș A. Evaluation of anti-melanoma, antibacterial and antioxidant effects of a phytochemically characterized water-soluble fraction from green coffee seeds. *Farmacia Journal*. **2024**; 72(6):1261-1272, <https://doi.org/10.31925/farmacia.2024.6.4> (IF=1.4)

2. Ruse G, Jîjie A-R, Moacă E-A, Pătrașcu D, Ardelean F, Jojic A-A, Ardelean S, Tchiakpe-Antal DS. *Coffea arabica*: An Emerging Active Ingredient in Dermato-Cosmetic Applications.

Pharmaceuticals. **2025**; 18;171. <https://doi.org/10.3390/ph18020171> (IF= 4.3) —

3. **Ruse G**, Avram Ș, Jijie AR, Vlase AM, Pătrașcu D, Dumitru R, Drăghici G, Jojic AA, Ardelean F, Tchiakpe-Antal DS. Phytochemical profile and a preliminary *in ovo* screening of the ethanolic extract of *Coffea arabica* green seeds. *Med Pharm Rep*. **2025**; 98(2):239-251. <https://doi.org/10.15386/mpr-2837>

Congrese și conferințe la care s-au prezentat date din teza de doctorat

Rezultatele obținute în cadrul acestei teze au fost prezentate în cadrul mai multor manifestări științifice pe plan local, național și internațional:

- **Ruse G**, Antal DS. Obtaining and evaluating the bioactivity of some products for external use derived from the leaves and seed oil of the coffee plant (*Coffea arabica*), Manifestarea științifică **“Plante Medicinale între Natură și Sănătate/Plants between Nature and Health” în cadrul proiectului CNFIS-FDI-2021-0498**, Volum de rezumate, p. 30, Editura “Victor Babeș” Timișoara, 2021, ISBN 978-606-786-253-9
- **Ruse G**, Tchiakpe-Antal DS. Coffee seeds as sources of innovative dermato-cosmetic products. Manifestarea științifică **“New trends in pharmaceutical research”**. Timișoara, **31 martie 2023**, Volum de rezumate, pp.79-80, Editura “Victor Babeș” Timișoara, 2023.
- **Ruse G**, Avram Ș, Tchiakpe-Antal DS. Planta de cafea (*Coffea arabica*): studiu microchimic și evaluarea *in ovo* a siguranței extractului din cafea netorefiată. **Congresul Național de Farmacie, Ediția a XIX-a, Farmacia azi: de la tradiție la interdisciplinaritate și inteligență artificială, 27-29.09. 2023, Cluj-Napoca**, Volum de rezumate, p. 100, ISBN 978-606-075-203-5
- **Ruse G**, Avram S, Tchiakpe-Antal DS. Evaluation of the irritant potential of green coffee (*Coffea arabica*) seed extracts by the HET-CAM assay. **Congresul farmaciștilor din Republica Moldova cu participare internațională “Facultatea de Farmacie–Șase decenii de inovație și progres”**, Chișinău (Republica Moldova), **22-23 noiembrie 2024**, Volumul de rezumate p. 340-341, ISBN 978-9975-3619-8-9
- **Ruse G**, Moacă EA, Semenescu AD, Avram Ș, Milan A, Jijie AR, Tchiakpe-Antal DS. Evaluarea *in vitro* și *in ovo* a extractului hidrosolubil din semințe de *Coffea arabica* verde

- o perspectivă fitoterapeutică în oncologia cutanată/*In vitro* and *in ovo* evaluation of water-soluble extract from *Coffea arabica* green seeds - a phytotherapeutic perspective in cutaneous oncology. **Conferința internațională privind abordările interdisciplinare și tendințele emergente în cercetarea doctorală farmaceutică, 7–9 iulie 2025, Timișoara.**

Aceste participări au permis diseminarea rezultatelor preliminare și integrarea lor în contextul cercetării farmaceutice actuale.

Aprecierea conducătorului de doctorat în ceea ce privește datele științifice din teza coordonată

Teza de doctorat explorează aspecte inovative în domeniul fitochimiei aplicate, farmacologiei experimentale și biologiei celulare, având ca obiect de studiu semințele verzi de *Coffea arabica*, investigate ca sursă de compuși bioactivi cu potențial antioxidant, antimicrobian, antitumoral și cu posibile aplicații dermato-cosmetice.

Deși semințele de cafea sunt cunoscute cu precădere pentru importanța alimentară, în cadrul tezei de doctorat a fost realizată o cercetare cu implicații în științele farmaceutice. Lucrarea are un marcat caracter interdisciplinar, și multe rezultate care pot fi exploatate în practică.

Contribuțiile personale ale doctorandei pot fi grupate în patru direcții majore: (1) caracterizarea microscopică și histochimică a țesuturilor vegetale; (2) dezvoltarea și optimizarea tehnicilor de extracție și screening fitochimic; (3) evaluarea antimicrobiană și antioxidantă a extractelor; (4) investigarea preliminară a efectelor antitumorale și de biosecuritate *in vitro* și *in ovo*.

În cadrul caracterizării microchimice, au fost puse în evidență localizarea tisulară a principalelor grupe de substanțe active (polifenoli, terpenoide). Pasul următor a fost reprezentat de obținerea extractelor pentru studiul experimental: a fost realizat un extract brut din semințe netorefiate, folosind ca solvent etanol. După aducere la sec, extractul a fost supus partiției lichid-lichid, separând fracții solubile în solvenți cu polaritate crescândă: eter de petrol, dietil eter, acetat de etil, n-butanol și apă. Aceste fracții au fost apoi supuse unei caracterizări fitochimice prin

spectroscopie în infraroșu, cromatografie de înaltă performanță cuplată cu spectroscopie de masă, precum și spectrofotometrie.

Analiza fitochimică a fost urmată de studiul bioactivității. A fost determinată activitatea antioxidantă (DPPH), efectul antimicrobian asupra unor bacterii Gram-pozitive, Gram-negative și unei specii fungice. Cercetarea a fost urmată prin investigarea efectului antitumoral. Frația apoasă a indus o reducere a viabilității celulelor de melanom A375, a redus numărul celulelor dar și confluința lor. Extractul a afectat integritatea membranelor a celulelor canceroase și a avut un efect pro-apoptotic. Extractul alcoolic a prezentat un efect anti-iritativ pe membrana corioalantoidă. Importanța cercetării este subliniată de articolele publicate din teză, cu doctoranda prim-autor, având un factor cumulat de impact de 5,7.

Lucrarea de doctorat demonstrează, prin contribuțiile personale prezentate, că semințele verzi de *Coffea arabica* reprezintă o resursă naturală valoroasă pentru obținerea de extracte cu activități biologice multiple – antioxidante, antimicrobiene și antitumorale. Studiile realizate acoperă întregul traseu de la analiza histochimică a țesuturilor vegetale la screening fitochimic comparativ, evaluare biologică *in vitro* și validare *in ovo*, creând o bază științifică solidă pentru dezvoltarea unor formulări farmaceutice și cosmetice inovatoare.

Cercetările din cadrul tezei au un important potențial de continuare în cadrul unor studii post-doctorale, prin evaluarea bioactivității pe alte linii celulare tumorale a celor șase extracte caracterizate fitochimic. Disponibilitatea fracțiilor de polaritate se află la baza unor posibile izolări bioghidate a substanțelor active.

Doctorand: Asist. univ. farm. Petrușe Grațiana (căs. Ruse)



Coordonator: Prof. univ. dr. habil. farm. Tchiakpe-Antal Diana-Simona

