



Universitatea de Medicină și Farmacie “Victor Babeș” din Timișoara  
Facultatea de Farmacie  
Catedra de Botanică farmaceutică

## MEMORIU ȘTIINȚIFIC ASUPRA TEZEI DE DOCTORAT

### EVALUAREA POTENȚIALULUI BIOLOGIC AL UNOR EXTRACTE DIN FRUNZELE DE COACĂZ NEGRU (*RIBES NIGRUM*) ÎN LUPTA CU ADENOCARCINOMUL COLORECTAL UMAN

Doctorand: Farm. Partenie Oana Adla (căs. Coman)

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

#### Motivarea cercetării

Regnul vegetal sintetizează o diversitate de molecule bioactive, capacitate care face ca plantele să fie o sursă de neegalat pentru identificarea de medicamente. De-a lungul secolelor, extractele vegetale (tincturi, ceaiuri, macerate uleioase) au fost utilizate în tratamentul afecțiunilor umane; cele mai eficiente au fost reținute în patrimoniul fitoterapeutic tradițional. În prezent, noile tehnici permit obținerea unor produse extractive capabile să concentreze substanțele active într-un mod inovator. Dispunem de asemenea de teste de laborator cu ajutorul cărora să evidențiem, într-un cadru controlat și reproductibil, proprietățile medicinale ale metaboliților vegetali.

În această ordine de idei, doctoranda și-a propus studiul frunzelor de coacăz negru (*Ribes nigrum*). Acest produs vegetal este recunoscut în fitoterapia tradițională românească și europeană pentru eficiența sa în tratarea durerilor articulare și a afecțiunilor urinare. Valoarea sa medicinală este atestată de includerea în Farmacopeea Europeană, unde îi este dedicată monografia *Ribis nigri folium*. Cu toate acestea, majoritatea cercetărilor actuale sunt axate pe fructe, datorită conținutului ridicat de antociani și vitamine al acestora, în timp ce frunzele sunt mai puțin explorate din punct de vedere fitochimic și terapeutic. Se impune, așadar, o aprofundare a studiilor privind compoziția



frunzelor de coacăz negru, precum și investigarea unor noi acțiuni farmacologice, dincolo de utilizările tradiționale. Această abordare este esențială pentru a alinia cunoștințele despre acest produs vegetal cu standardele științifice moderne, impuse de evoluția metodelor de analiză fitochimică și de evaluare a bioactivității.

Cancerul colorectal reprezintă o problemă majoră de sănătate publică, fiind al treilea cel mai răspândit tip de cancer și a patra cauză de deces prin neoplazii la nivel global. Riscul de a dezvolta această afecțiune pe parcursul vieții este de 4-5%, fiind influențat direct de vârstă, stilul de viață și istoricul medical personal. Creșterea numărului de cazuri de cancer colorectal impune identificarea de noi agenți terapeutici, cu efecte adverse cât mai limitate. În acest sens, cercetările actuale evidențiază potențialul produșilor naturali. Studiile efectuate pe diverse linii celulare tumorale, inclusiv de cancer colorectal (HT29, HCT-116, CaCo-2), col uterin (HeLa), adenocarcinom gastric (AGS) și prostată (PC-3), demonstrează activitatea citotoxică remarcabilă a extractelor din fructe de coacăz negru. Ele exercită un puternic efect antiproliferativ, reușind să blocheze multiplicarea celulară și să reducă semnificativ viabilitatea celulelor maligne.

În altă ordine de idei, rezistența bacteriană la antibioticele clasice constituie una dintre problemele majore ale medicinei moderne. Agenți patogeni precum *Staphylococcus aureus* metilino-rezistent sau tulpinile de *Escherichia coli* rezistente la beta-lactamine, multiplică riscul de infecții greu de tratat, reducând eficiența terapiilor standard. Plantele medicinale reprezintă o sursă de cercetare cu potențial deosebit, având în vedere că speciile vegetale dispun de propriile substanțe antimicrobiene sintetizate în cadrul metabolismului lor secundar. Uleiurile volatile și compușii polifenolici prezenți în frunzele de coacăz au potențialul de a furniza produse antimicrobiene eficiente împotriva agenților patogeni prin mecanisme moleculare diferite de cele ale antibioticelor convenționale, studiul lor fiind astfel de mare interes pentru găsirea de noi medicamente.

Motivația principală a alegerii frunzelor de coacăz negru ca obiect de studiu rezultă din nevoia de a identifica produse naturale cu activitate antitumorală și antimicrobiană, în contextul limitărilor terapiilor convenționale. Deși în literatura de specialitate există date parțiale privind diferite efecte ale coacăzului, cele mai multe studii s-au axat pe extracte din fructe, compuși izolați sau pe extracții preliminare, fără a evalua în același timp profilul fitochimic detaliat al extractelor



rezultate dintr-o fracționare sistematică, activitatea antibacteriană, antioxidantă și efectele citotoxice asupra celulelor tumorale DLD-1 de cancer colorectal.

Abordarea integrată oferă o perspectivă inovatoare asupra potențialului terapeutic al frunzelor de coacăz negru, aducând o contribuție proprie în domeniul studiului produselor naturale de interes farmaceutic.

### **Obiective specifice și contribuții**

#### **Obiectivele cercetării**

1. Obținerea unor extracte vegetale: prepararea extractului etanolic total din frunze de coacăz negru, urmat de fracționarea sa cu ajutorul unor solvenți având polaritate crescândă: eter de petrol, dietil eter, acetat de etil, n-butanol și apă.
2. Caracterizarea fitochimică a extractului brut și fracțiilor prin metode spectroscopice: spectroscopie în infraroșu (FT-IR), cromatografie de înaltă performanță (HPLC).
3. Evaluarea bioactivității fracțiilor cu polaritate joasă și medie (solubile în eter de petrol, dietil eter și acetat de etil): activitate antioxidantă, antimicrobiană și citotoxică
4. Evaluarea bioactivității fracțiilor cu polaritate crescută (solubile în n-butanol și apă): activitate antioxidantă, antimicrobiană și citotoxică

#### **Contribuțiile cercetării**

- Stabilirea unei baze științifice solide privind potențialul terapeutic al frunzelor de coacăz negru, în corelație cu solventul folosit la extracție și compoziția fitochimică.
- Dezvoltarea de fracțiuni active cu aplicații în combaterea infecțiilor și cancerului colorectal.
- Furnizarea de date originale pentru continuarea cercetărilor în domeniul produselor naturale bioactive din România.



### Lista publicațiilor științifice care fac parte integrantă din teza de doctorat

Caracterul original al tezei de doctorat este susținut de 3 lucrări științifice publicate *in extenso* în reviste BDI și ISI.

1. **O.A. Coman**, A. Smeu, D. Muntean, A.M. Vlase, L. Vlase, S. Toth, A. Vădan, A. Stoica, S. Liga, A. Moacă, A. Ciurba, D.S. Tchiakpe-Antal. *Comparative analysis of Ribes nigrum leaf extracts in different solvents: antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity*. Farmacia (2025), 73(5), 1164-1174. <https://doi.org/10.31925/farmacia.2025.5.10> (F.I. = 1.3)
2. **O. Coman**, C.A.M. Cobzariu Dan, M. Boța, L. Vlaia, D.S. Tchiakpe-Antal, I. Ioniță, I. Predescu, A. Smeu. *Recent advances regarding the phytochemical and therapeutic uses of Ribes nigrum leaves*. Medicine in Evolution (2025), 31(1), 113-119. <https://doi.org/10.70921/medev.v31i1.1294>
3. **O.A. Coman**, A. Smeu, A. Moacă, D. Muntean, A.M. Vlase, L. Vlase, S. Toth, A. Vădan, A. Stoica, S. Liga, D.S. Tchiakpe-Antal. *Phytochemical Characterization and Biological Evaluation of Ribes nigrum Leaf Extracts: A Study of Aqueous and Butanolic Fractions*. Medicine in Evolution (2025), 31(3), 269-280. <https://doi.org/10.70921/medev.v31i3.1314>

De asemenea, doctoranda a participat la o conferință internațională:

**Coman OA**, Muntean D, Tchiakpe-Antal DS. Evaluarea efectului antibacterian al frunzelor de coacăz negru (*Ribes nigri folium*). 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. 324-325, ISBN 978-9975-3619-8-9.

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

Obiectul studiului tezei de doctorat este reprezentat de frunzele de coacăz negru, *Ribes nigrum*, un produs farmaceutic cu îndelungă utilizare, dar actualmente mai puțin cercetat decât fructele care sunt considerate alimente funcționale. Pornind de la dezideratul lărgirii spectrului de



utilizare a frunzelor de coacăz negru ca adjuvant în tratamentul antimicrobian și antitumoral, teza s-a conturat ca o investigare sistematică a diferitelor fracții a unui extract total etanolic. Prin prepararea inițială a extractului total s-a extras o plajă largă de compuși activi. Apoi, extractul total a fost supus fracționării, compușii activi migrând în solvenți mai puțin polari (eter de petrol, dietil eter), cu polaritate medie (acetat de etil) și crescută (n-butanol, apă). Această abordare a permis ulterior o analiză fitochimică comparativă riguroasă și identificarea celui mai activ sub-extract. Doctoranda a caracterizat extractele cu ajutorul cromatografiei de înaltă presiune cuplată cu spectroscopia de masă, identificând 13 polifenoli, dintre care 8 au putut fi cuantificați: acizii p-cumaric, protocatehuic și galic, epigallocatechina, izoquercitrina, quercitrina, rutozida și hiperozida. Compușii majoritari au fost glicozidele quercetinei: hiperozida, izoquercitrina, rutozida și quercitrina. Cea mai bogată fracție în flavonozide s-a dovedit a fi cea solubilă în acetat de etil, în timp ce sub-extractul cu profilul fitochimic cel mai divers a fost cel solubil în dietil eter. Frația apoasă, cea mai reprezentativă pentru utilizarea uzuală a frunzelor de coacăz negru (infuzia) conține în ordine descrescătoare a concentrației: rutozidă, izoquercitrină și epigallocatechină.

Următorul pas a fost analiza efectului antioxidant al fracțiilor obținute. Cel mai intens efect a fost determinat în cazul fracției solubile în acetat de etil, urmată de cea care concentrează substanțe hidrosolubile. În ceea ce privește efectul antimicrobian, acesta include doar bacteriile Gram-pozitive. Bacteria cea mai sensibilă, *Streptococcus pyogenes*, a fost susceptibilă atât față de fracția apoasă cât și față de cea solubilă în dietil eter (concentrații minime inhibitorii de 10 mg/mL pentru ambele). Frațiile testate au fost inactive pe germenii Gram-negativi și pe ciuperca *Candida parapsilosis*.

Cea mai relevantă etapă a tezei a fost investigarea efectului citotoxic asupra celulelor de adenocarcinom colorectal DLD-1, și corelarea intensității efectului cu polaritatea și compoziția fracțiilor. Subextractul solubil în dietil eter (RN-DEE) a prezentat cel mai intens efect cu un  $IC_{50}=43,6 \mu\text{g/mL}$ , urmată de subextractul solubil în acetat de etil (RN-EtOAc) cu  $IC_{50}=127,6 \mu\text{g/mL}$ , cel solubil în butanol (RN-BuOH) cu  $IC_{50}=137,9 \mu\text{g/mL}$ , în eter de petrol (RN-EP) cu  $IC_{50}=218,9 \mu\text{g/mL}$ , iar fracția hidrosolubilă (RN-H<sub>2</sub>O) a avut cel mai slab efect cu  $IC_{50}=278,4 \mu\text{g/mL}$ . Activitatea citotoxică semnificativ mai intensă a fracției solubile în dietil eter, în



comparație cu celelalte sub-extracte, a fost corelată cu prezența acizilor protocatehuic (distribuit preferențial în această fracție) și p-cumaric (identificat doar în această fracție).

În cadrul doctoratului, doamna farmacist Partenie (căs. Coman) a realizat în plus un studiu bibliografic temeinic asupra speciei *Ribes nigrum*, publicat în revista *Medicine in Evolution* (2025), 31(1), 113-119 <https://doi.org/10.70921/meDEV.v31i1.1294>.

Datele științifice obținute de doctorandă au evidențiat cât de importantă este alegerea solventului pentru a obține un extract vegetal cu activitate țintită: fracția solubilă în dietil eter are cel mai intens efect citotoxic, fracția hidrosolubilă are cel mai important efect antibacterian iar fracția solubilă în acetat de etil prezintă cea mai mare capacitate antioxidantă. Având în vedere activitatea fracției solubile în apă pe germeni precum *Streptococcus pyogenes* și *Staphylococcus aureus*, utilizarea adjuvantă a extractelor apoase din frunze de coacăz (gargarisme) în faringita bacteriană (cauzată frecvent de streptococul piogen) este susținută de datele din teză.

Lucrarea de doctorat pune bazele unor viitoare cercetări. Pe de o parte, se pot evalua țintit substanțele cu polaritate scăzută din fracția RN-DEE în cancerul colorectal, cu extinderea cercetării pe alte linii celulare și pe efecte sinergice cu chimioterapice. Pe de altă parte, este relevantă continuarea investigării extractului apos și formularea de produse farmaceutice topice cu efect antibacterian pe streptococul piogen și stafilococul auriu.

Doctorand: Farm. Partenie Oana Adla (căs. Coman)

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