



**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "CAROL
DAVILA", BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ**

***COMPUȘI NATURALI ACTIVI GUSTATIV ȘI
POTENȚIALUL LOR BIOLOGIC***

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. Gîlcă-Vasile Marilena

Student doctorand:

Oțlea (Grădinaru) Teodora-Cristiana

BUCUREȘTI

2024

Cuprins

Lista cu lucrările științifice.....	5
Lista cu abrevieri	7
Introducere.....	8
I. PARTEA GENERALĂ	11
1. Receptorii gustativi, canale ionice implicate în detecția gusturilor sau orosenzațiilor și compuși naturali activi gustativ	11
1.1.Receptori și canale ionice implicate în detecția gustului/orosenzațiilor	11
1.2. Compuși naturali activi gustativ.....	14
2. Receptorii gustului amar (TAS2R), compuși naturali amari, agoniști ai receptorilor gustului amar, roluri în inflamație și cancer	16
2.1. Structura, tipurile și semnalizarea asociată receptorilor gustului amar	16
2.2. Localizarea extraorală receptorilor gustativi pentru gustul amar și funcții potențiale ale acestora	19
2.3. Compuși naturali amari, agoniști ai receptorilor gustului amar (TAS2R).....	20
2.4.Compuși naturali amari și receptori ai gustului amar în inflamație	22
2.5.Compuși naturali amari și receptori ai gustului amar în cancer	25
3. Compuși naturali amari, receptori ai gustului amar (TAS2R) și pielea	28
3.1.Receptori ai gustului amar (TAS2R) și pielea	28
3.2.Compuși naturali amari, agoniști ai receptorilor gustului amar și pielea	32
II. CONTRIBUȚII PERSONALE	36
4. Ipoteza de lucru și obiectivele generale.....	36
5. Metodologia generală a cercetării	37
6. PlantMolecularTasteDB – o bază de date inovatoare	39
6.1. Introducere	39
6.2. Material și metodă	40
6.3. Rezultate – Prezentarea PlantMolecularTasteDB	43
6.4. Discuții	55
6.5. Concluzii.....	57
7. Evaluarea impactului gustului și impactului clasei chimice asupra activității antiinflamatoare a fitocompușilor prin data mining în PlantMolecularTasteDB	59
7.1. Introducere	59
7.2. Material și metodă	61
7.3. Rezultate	68
7.4. Discuții	77

7.5. Concluzii.....	80
8. Evaluarea impactului gustului și impactului clasei chimice asupra activității anticancer a fitocompușilor și a posibilei relații între activitatea anticancer și activitatea antiinflamatoare a fitocompușilor prin data mining în PlantMolecularTasteDB.....	82
8.1. Introducere.....	82
8.2 Material și metodă.....	84
8.3. Rezultate.....	97
8.4. Discuții.....	126
8.5. Concluzii.....	130
9. Concluzii și contribuții personale.....	132
9.1. Concluzii.....	132
9.2. Contribuții personale.....	134
Bibliografie.....	136

Lista cu lucrările științifice

Articole publicate în reviste de specialitate

1. **Gradinaru TC** #, Petran M #, Dragos D #, Gilca M. PlantMolecularTasteDB: A Database of Taste Active Phytochemicals. Front Pharmacol. 2022 Jan 12;12:751712.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2021.751712>.(# Contribuție egală)
Factor de Impact 2022=5.6 (*Capitolul 6*)
2. Dragoș D #, Petran M #, **Gradinaru TC** #, Gilca M. Phytochemicals and Inflammation: Is Bitter Better? Plants (Basel, Switzerland). 2022 Nov;11(21).
<https://doi.org/10.3390/plants11212991>.(# Contribuție egală)
Factor de Impact 2022=4.5; *Articolul a fost premiat UEFISCDI; (Capitolul 7)*
3. **Grădinaru TC**, Gilca M, Vlad A, Dragoș D. Relevance of Phytochemical Taste for Anti-Cancer Activity: A Statistical Inquiry. Int J Mol Sci. 2023 Nov 12;24(22):16227
<https://doi.org/10.3390/ijms242216227>.
Factor de Impact 2022=5.6 (*Capitolul 8*)
4. **Grădinaru TC**, Vlad A, Gilca M. Bitter Phytochemicals as Novel Candidates for Skin Disease Treatment. Curr Issues Mol Biol. 2023 Dec 30;46(1):299–326.
<https://doi.org/10.3390/cimb46010020>.
Factor de Impact 2022=3.1 (*Capitolul 3*)

Participări la Conferințe, Congrese

1. **Grădinaru TC**, Petran M, Dragoș D, Gîlcă M. Anticancer mechanisms of natural compounds. In: International Summer School FOOD SAFETY AND HEALTHY LIVING. Bucharest, 3-6 September 2023 – prezentare orală
2. **Grădinaru TC**, Petran M, Dragoș D, Gilca M. TOP 20 OF INFLAMMATION-RELATED MOLECULAR TARGETS OF BITTER TASTANTS. In: 22nd International Congress of International Society for Ethnopharmacology & 10th International Congress of Society for Ethnopharmacology. Imphal, Manipur, India, 24-26 February 2023; - poster și prezentarea posterului
3. Dragoș D, **Grădinaru TC**, Petran M, Gilca M. PLANTMOLECULARTASTEDB: A NEW TOOL IN CHEMOSENSORIAL APPROACH. In: 21st International Congress of the International Society for Ethnopharmacology, 28-31 May 2022, Taichung, Taiwan,. – poster premiat în cadrul Congresului
4. **Grădinaru TC**, Gilca M. CODE OF TASTE IN TRADITIONAL CHINESE MEDICINE- A GENETIC KEY? In: 20th International Congress of the International Society for Ethnopharmacology, 18- 20 april 2021, Salonic, Grecia. - poster premiat în cadrul Congresului
5. Dragoș D, Petran M, **Grădinaru TC**, Gilca M. DO BITTER PHYTOCOMPOUNDS TARGET INFLAMMATION-RELATED MOLECULES? In: 20th International Congress of the International Society for Ethnopharmacology, 18-20 april 2021, Salonic, Grecia. – poster

Particularități

1. Obținerea certificatului Benelux Office for Intellectual Property (BOIP) (**i-DEPOT cu numărul 122867**) pentru conceptul PMTDB (**PlantMolecularTasteDB**) (Marilena-Gîlcă Vasile, Dorin Dragoș, **Teodora-Cristiana Grădinaru**, Mădălina Petran)
2. Obținerea unui premiu din cele 6 oferite de Giract's European FlavorPhD Research Awards 2019–2020 pentru cele mai bune proiecte de cercetare din primul an de doctorat, premiu obținut la data de 20 decembrie 2019

Introducere

Prezentarea domeniului tezei de doctorat

Această teză de doctorat are un caracter multidisciplinar, situându-se la confluența mai multor domenii: biochimie, farmacognozie, etnofarmacologie, biologie.

Deși utilizate de milenii în tratamentul variatelor afecțiuni, plantele medicinale încă reprezintă un domeniu de interes pentru cercetători, fiind un rezervor uriaș de compuși cu o mare diversitate structurală înzestrați cu potențial biologic [1,2].

Marea majoritate a fitocompușilor se caracterizează printr-un anumit profil gustativ orosenzorial [3]. Dat fiind că receptorii gustativi au fost identificați și extraoral, se presupune că gustul ar putea avea și alte roluri fiziologice decât cel senzorial [4,5].

Scopul tezei de doctorat

Scopul acestei lucrări de doctorat este de a realiza o bază de date accesibilă online gratuit care să cuprindă fitocompuși activi gustativ/orosenzorial și de a investiga impactul gusturilor/orosenzațiilor acestor fitocompuși, precum și impactul claselor chimice ale fitocompușilor în ceea ce privește prezența activității antiinflamatoare, respectiv anticancer.

Conținutul tezei de doctorat

Această teză de doctorat este organizată pe două secțiuni, și anume: o parte generală care cuprinde *Capitolele 1, 2 și 3* și o parte specială care include *Capitolele 4,5,6,7, 8 și 9*.

În *Capitolul 1* sunt descrise informații generale despre canale ionice, receptori gustativi implicați în percepția gusturilor sau senzațiilor gustative. De asemenea, sunt dați ca exemplu compuși activi gustativ.

Capitolul 2 cuprinde descrierea în detaliu a receptorilor gustului amar (TAS2R), fiind atinse următoarele aspecte: structura TAS2R, tipurile de receptori, semnalizarea asociată acestora, exprimarea și localizarea lor, rolurile potențiale ale acestora, urmate de descrierea agoniștilor naturali ai TAS2R. *Capitolul 2* se mai concentrează asupra implicării compușilor naturali amari în inflamație și cancer, precum și pe implicarea TAS2R în aceleași procese.

Capitolul 3 include datele obținute în realizarea unui studiu de tip revizuire a literaturii de specialitate în ceea ce privește existența receptorilor gustului amar la nivelul structurilor pielii. În acest capitol sunt descrise roluri potențiale ale receptorilor amari în piele sau la nivelul celulelor pielii, precum și modificări ale exprimării acestor receptori la nivelul pielii sau al celulelor pielii în variate condiții. Tot aici sunt detaliate câteva exemple de fitocompuși, agoniști ai TAS2R, cu roluri benefice în modele experimentale de boli dermatologice.

Capitolul 4 ilustrează ipoteza de lucru și obiectivele generale care au fost urmărite.

Capitolul 5 conține metodologia generală a cercetării (parcursul cercetării pentru atingerea obiectivelor, conceptul de data mining, mijloace de analiza statistică).

Capitolul 6 conține prezentarea bazei de date accesibilă online, numită PlantMolecularTasteDB (<https://plantmoleculartastedb.org/index.php>), o premieră națională și internațională, întrucât aceasta cuprinde un număr vast de fitocompuși activi gustativ (peste 1500 itemi) care sunt descriși în detaliu în ceea ce privește identificatorii corespunzători din baze de date internaționale, formule moleculare, structuri chimice, SMILES, clasificarea organoleptică, receptorii gustativi pe care acționează și alte date senzoriale, clasele și subclasele chimice de care aparțin, precum și activitatea antiinflamatoare a acestor compuși care este documentată din trei baze de date consacrate

international, toate aceste informații fiind susținute de referințe bibliografice. Mai mult decât atât, studiile privind activitatea antiinflamatoare a fitocompușilor sunt însoțite de menționarea modelului experimental pe care s-a realizat respectiva cercetare (*in vitro*, studii pe model animal sau studii clinice). Rezultatul acestui proiect – PlantMolecularTasteDB, a cărui realizare a presupus un efort de echipă îndelungat (întins pe mai mulți ani), reprezintă fundamentul tezei de doctorat întrucât următoarele două studii au avut ca punct de plecare această bază de date.

Capitolul 7 evaluează impactul gusturilor/senzațiilor gustative ale fitocompușilor asupra activității antiinflamatoare a acestora prin data mining în PlantMolecularTasteDB. Tot în acest capitol se evaluează existența unor asocieri între clasa chimică de apartenență a fitocompușilor și activitatea antiinflamatoare.

În *Capitolul 8* se evaluează impactul gusturilor sau senzațiilor gustative ale fitocompușilor asupra activității anticancer prin data mining în PlantMolecularTasteDB. De asemenea, sunt ilustrate asocieri între clasele chimice ale fitocompușilor și activitatea anticancer. Tot aici se arată și faptul că există o asociere puternică între efectul antiinflamator și efectul anticancer al fitocompușilor.

Capitolul 9 redă concluziile rezultate în urma acestui studiu doctoral, precum și contribuțiile personale din cadrul acestui proiect.

1. Receptori gustativi, canale ionice implicate în detecția gusturilor sau orosenzațiilor și compuși naturali activi gustativ

Prin integrarea datelor din știința modernă a gustului și a informațiilor din Medicina Tradițională Chineză și Ayurveda rezultă următoarele tipuri de gusturi - acru, dulce, sărat, umami și amar - și senzații orosenzoriale trigeminale - astringent, picant [6–8].

S-a folosit termenul ”compus activ gustativ” în lucrarea de față pentru a desemna un compus care produce o orosenzație (inclusiv senzația de picant sau astringent; picant sau astringent fiind considerate de fapt senzații trigeminale, spre deosebire de gusturile clasice care sunt orosenzații mediate de nervii cranieni VII, IX, X) [9].

În detecția gusturilor/orosenzațiilor sunt implicați atât receptori, cât și canale ionice.

Fitocompuși au reprezentanți în multe clase chimice, precum: flavonoide [10], alcaloizi [11], terpenoide [12], cumarine [13], etc

2. Receptorii gustului amar (TAS2R), compuși naturali amari, agoniști ai receptorilor gustului amar, roluri în inflamație și cancer

Receptorii gustului amar (TAS2R) sunt prezenți atât la nivelul cavității orale, cât și în multiple locații extraorale [4].

Unii receptori pot lega o diversitate impresionantă de compuși, iar alții pot prezenta o oarecare selectivitate în acest sens [14].

TAS2R sunt exprimați la nivelul unor variate sisteme (de exemplu la nivelul pielii [15,16], la nivelul sistemului muscular [17], la nivel pulmonar [18,19]).

Compuși naturali amari, agoniști ai receptorilor gustului amar

Deși sunt descriși până în prezent doar 26 de tipuri de receptori ai gustului amar, există o varietate impresionantă de compuși amari care se pot lega la acești receptori (există aproximativ 270 liganzi și în jur de 800 de interacțiuni ligand-receptor) [20].

Unii compuși sunt capabili de a se lega la mai mulți TAS2R. Un exemplu în acest sens este reprezentat de amarogentina care este capabilă de a activa șapte receptori ai gustului amar [14].

Compuși naturali amari și receptori ai gustului amar în inflamație

Potențiala implicare a TAS2R în procesul inflamator a fost emisă și de către Maria Ekoff și colaboratorii care au arătat faptul că agoniști specifici ai TAS2R au determinat inhibarea eliberării de mediatori proinflamatori (histamină, PGD₂) de la nivel mastocitelor preactivate (mastocite derivate din sângele de la nivelul cordonului ombilical) [21].

Într-un studiu realizat pe probe de mucoasă nazală prelevate de la pacienții cu rinosinuzită cronică a relevat faptul că în aceste probe există o exprimare a receptorilor TAS2R38 mai crescută comparativ cu mucoasa nazală a subiecților fără rinosinuzită cronică [22].

Fitocompuși amari aparținând anumitor clase chimice au fost citați mai frecvent ca având activitate antiinflamatoare (de exemplu fitocompuși aparținând clasei flavonoidelor [23]).

Compuși naturali amari și receptori ai gustului amar în cancer

Într-un studiu publicat în anul 2019, noscapina, prin intermediul TAS2R, poate afecta supraviețuirea celulară în cazul celulelor tumorale ovariene prin inducerea apoptozei [24].

Conform concluziilor mai multor cercetători care au revizuit integral informația disponibilă legată de exprimarea receptorilor gustului amar în cancer, există în majoritatea cazurilor, cu puține excepții, o tendință de scădere a ARNm și a exprimării proteinelor TAS2R la nivelul celulelor canceroase comparative cu celule normale [25,26].

Sunt numeroase studii în literatura de specialitate privind beneficiile agenților care sunt amari în cancer, atât prin modele experimentale *in vitro*, cât și *in vivo* [27–30].

Fitocompuși amari aparținând anumitor clase chimice au fost citați mai frecvent ca având activitate anticancer (de exemplu din clasa flavonoidelor [31]).

În ce măsură medierea efectelor anticancer ale agoniștilor amari are loc prin implicarea directă a TAS2R și a căilor de semnalizare asociate acestora rămâne așadar o direcție de cercetare viitoare.

3. Compuși naturali amari, receptori ai gustului amar (TAS2R) și pielea

Exprimarea receptorilor gustului amar la nivelul pielii prezintă variații intraindividuale, precum și interindividuale. Această diferență în exprimarea receptorilor gustului amar la nivelul pielii se datorează unor factori, cum ar fi vârsta, sexul, expunerea la soare, precum și localizarea zonelor pe harta corporală [15,32].

Se poate afirma faptul că receptorii gustului amar sunt exprimați la toate cele 3 straturi ale pielii, întrucât exprimarea acestora a fost detectată la nivelul keratinocitelor [33–35], adipocitelor [36], fibroblastelor[34], limfocitelor [37].

Au fost propuse următoarele roluri ale TAS2R la nivelul pielii: funcție de chemosenzori [35], modularea creșterii părului [38], modularea migrării limfocitelor la nivel cutanat [37], etc.

Numeroși fitocompuși amari, au roluri benefice în ceea ce privește inflamația, precum și în carcinogeneza de la nivel cutanat.

Un exemplu este reprezentat de apigenină care este un cunoscut agonist al TAS2R14, TAS2R39 [39]. Într-un model de psoriazis indus la șoarece, apigenina a redus eritemul, scuamele, a redus exprimarea proteinelor IL-1 β , IL-6, TNF- α de la nivelul pielii [40].

Având în vedere prezența genelor și a receptorilor de gust amar în piele, funcționalitatea TAS2R la acest nivel, precum și implicarea diverșilor fitocompuși amari, agoniști ai acestor receptori, în anumite modele experimentale de patologii (de exemplu dermatită atopică, psoriazis, carcinoma scuamocelular), potențialul farmacologic al compușilor amari merită studiat în viitor, deoarece poate avea implicații terapeutice nebănuite în afecțiunile dermatologice.

4. Ipoteza de lucru si obiectivele generale

Ipoteza generală a acestei teze de doctorat se poate formula succint astfel: Gustul (fito)compușilor și/sau clasele chimice pot juca rolul de descriptori farmacologici și pot avea un potențial predictiv al acțiunilor biologice (antiinflamatoare, anticancer).

Obiectivele generale au fost reprezentate de:

- construirea unei baze de date cu fitocompuși care să fie activi gustativ și care să conțină informații despre structura lor chimică, clasa chimică de care aparțin, receptori gustativi activați, activitate antiinflamatoare
- investigarea bazei de date dezvoltate în etapa anterioară în ceea ce privește potențialele asocieri: gust/orosenzație fitocompus și activitate biologică (antiinflamatoare, anticancer), precum și clasa chimică a fitocompușilor și activitate biologică (antiinflamatoare, anticancer),

5. Metodologia generală a cercetării

În acest capitol am descris parcursul acestui proiect de doctorat, precum și metodele generale care au condus la îndeplinirea obiectivelor din prezenta lucrare de doctorat.

Data mining reprezintă procesul de căutare și analiză a unui lot mare de date brute pentru a identifica tipare și a extrage informații utile [41].

Analiza statistică a datelor din studiile prezentate în *Capitolul 7* și în *Capitolul 8* a fost realizată folosind limbajul și mediul de programare R al Fundației R pentru statistică, versiunea 4.0.3.

Rezultatele au fost considerate semnificative statistic în cazul în care valoarea p a fost sub 0.05 (prag universal acceptat). În cazul în care mai multe comparații au fost utilizate, s-a aplicat corecția Bonferroni, care a determinat apariția unui nou nivel de semnificație statistică reprezentat de împărțirea valorii de 0.05 la numărul de comparații utilizate [42].

A fost utilizat termenul asociere statistică pentru a descrie relația statistică dintre două variabile.

6. PlantMolecularTasteDB – o bază de date inovatoare

6.1. Introducere

Primul obiectiv din cadrul studiilor doctorale l-a reprezentat crearea unei baze de date, care să conțină fitocompuși citați în literatura de specialitate ca fiind activi gustativ, informații legate de structura chimică, proprietăți orosenzoriale, receptori gustativi asociați, precum și informații despre potențialul lor antiinflamator.

6.2. Material și Metodă

Colectarea datelor despre fitocompuși s-a realizat atât prin interogarea sistematică a resurselor electronice, cât și prin consultarea de documente în format fizic (cărți).

Crearea listei de fitocompuși activi gustativ s-a realizat într-o primă etapă prin identificarea și preluarea lor din baze de date recunoscute international: BitterDB [20,43], FoodDB [44], PhytoMolTasteDB [3], PubChem [45], SuperSweetDB [46]. Lista obținută astfel a fost îmbogățită ulterior prin căutarea cu cuvinte cheie în alte baze de date recunoscute international: ScienceDirect, PubMed și Google Scholar.

Sintagmele de căutare au fost: “(phytochemical) AND (taste)”, “(specific phytochemical name) AND (taste)”, “(phytochemical) AND (astringent OR bitter OR pungent OR salty OR sour OR sweet OR umami)”, “(specific phytochemical name) AND (specific taste)”, “(phytochemical) AND (specific taste receptor/chemosensor name)” [47].

După această căutare electronică, ori de câte ori a fost nevoie, a avut loc și o căutare manuală, mai ales pentru descrieri senzoriale sau pentru structuri chimice ale compușilor care nu erau disponibili în bazele de date menționate).

Pentru includerea în această bază de date, compușii naturali au trebuit să îndeplinească două condiții:

- Disponibilitatea structurilor chimice în PubChem[45], HMDB[48], FooDB [44], ChEMBL [49] sau în studii/articole
- Fitocompușii să fie descriși ca fiind activi gustativ (senzorial sau experimental – teste de afinitate de tip ligand – receptor)

Repartizarea pe clase chimice a compușilor naturali constituenți s-a realizat prin căutarea fitocompușilor în PubChem[45], FooDB[44], HMDB[48].

Pentru evaluarea potențialului antiinflamator, s-a realizat căutarea sistematică în trei

baze de date recunoscute internațional (PubMed, GoogleScholar, ScienceDirect) folosind următoarea sintagmă cheie: “[specific phytochemical name] AND (antiinflammatory OR anti-inflammatory OR inflammation)” [47], de exemplu: (Apigenin) AND (antiinflammatory OR anti-inflammatory OR inflammation) .

”Gustul molecular al plantelor” sau ”gustul fitomolecular” reprezintă profilul virtual gustativ pentru o anumită plantă care este alcătuit din toate gusturile/senzațiile gustative date de principalii compuși activi gustativ/orosenzorial care intră în compoziția plantei de interes [50]. Gustul fitomolecular este un concept original introdus recent [50]. Acesta poate fi generat în baza de date sub forma unui grafic de tip placintă (în engleză - pie) pentru o anumită plantă de interes. Se ține cont de contribuția fiecărui gust al fitocompușilor constituenți majori ai plantei respective.

6.3. Rezultate

PlantMolecularTasteDB este o bază de date unică la nivel național și internațional, pentru unicitate și originalitatea acestui concept a fost obținut certificatul Benelux Office for Intellectual Property (BOIP) i-DEPOT cu numărul 122867. Această bază de date este și accesibilă online gratuit (<https://plantmoleculartastedb.org/index.php>, accesată la data de 01.04.2024).

PlantMolecularTasteDB conține 1527 compuși naturali derivați din plante activi gustativi. Există compuși care prezintă mai multe gusturi/senzații gustative (înregistrați cu mai multe gusturi/senzații gustative). În ceea ce privește numărul înregistrărilor fitocompușilor din fiecare gust/senzație gustativă, acestea sunt: 1114 înregistrări cu gust amar, 263 – cu gust dulce, 224 – cu gust picant, 189 – cu gust astringent, 61 – cu gust acru, 25 – cu gust umami, 7 – cu gust sărat (Figura 6.1).

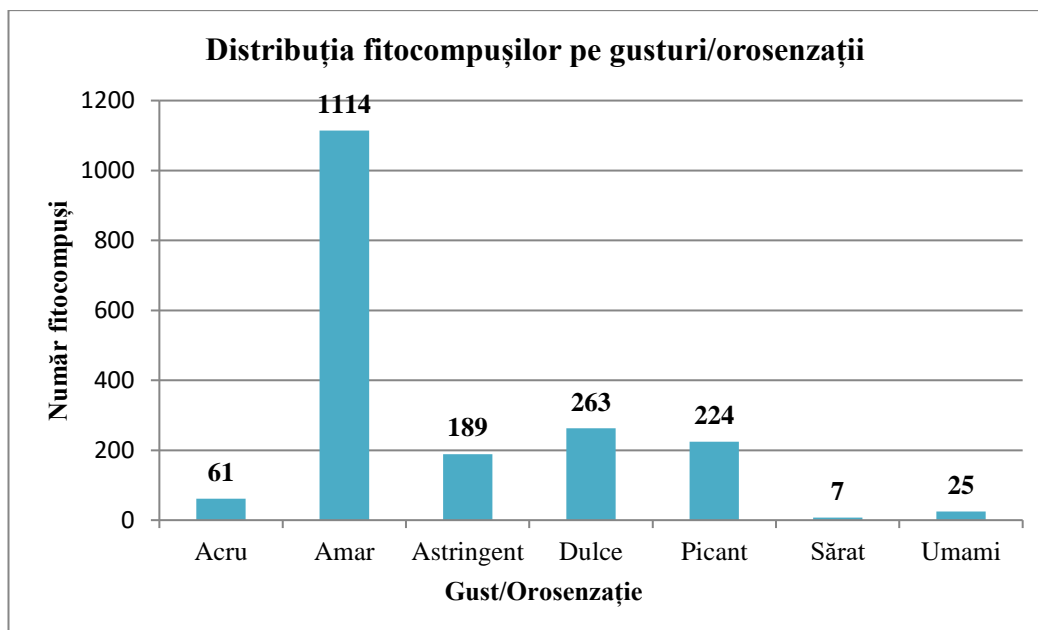


Figura 6.1. Distribuția fitocompușilor pe gusturi/senzații gustative

Din punct de vedere al claselor chimice reprezentate în această bază de date, cele mai bine reprezentate trei clase chimice sunt clasa alcaloizilor, clasa terpenoidelor și a glicozidelor.

6.4. Discuții

Deși la data lansării PlantMolecularTasteDB mai erau disponibile online și alte baze de date consacrate compușilor activi gustativ, PlantMolecularTasteDB prezintă mai multe elemente care au reprezentat o premieră internațională.

PlantMolecularTasteDB este inovativă prin informațiile conținute (include profilul gustativ complet al fiecărui fitocompus, activitate farmacologică – activitate antiinflamatoare); mai mult decât atât include doar compuși naturali din plante [47]. Un alt element de noutate este generarea gustului fitomolecular pentru o planta de interes.

SuperSweetDB este alcătuită numai din compuși cu gust dulce (atât sintetici, cât și naturali) [46].

BitterDB cuprinde doar compuși cu gust amar, atât naturali, cât și de sinteză [20,43].

FlavorDB include compuși care sunt caracterizați din punct de vedere sensorial fără a se face distincția între gust și miros și sunt disponibile date despre proprietăți fizicochimice, date despre grupările funcționale [51].

6.5. Concluzii

PlantMolecularTasteDB este o bază de date unică, ce include fitocompuși activi gustativi din toate categoriile de gusturi/orosenzații.

În prezent este baza de date care conține cel mai mare număr de compuși naturali (derivați din plante) activi gustativ, care descrie profilul gustativ complet al fitocompușilor și care aduce laolaltă informații fizico-chimice, date calitative și/sau cantitative, activitate biologică (potential antiinflamator).

PlantMolecularTasteDB reprezintă elemental fundamental al tezei de doctorat întrucât următoarele studii au fost realizate utilizând ca loc de selecție ansamblul de fitocompuși prezenți în această bază de date.

7. Evaluarea impactului gustului și impactului clasei chimice asupra efectului antiinflamator al fitocompușilor prin data mining în PlantMolecularTasteDB

7.1. Introducere

Obiective

Obiectivul principal al acestei cercetări a fost să verificăm dacă gustul/orosenzația fitocompusului sau clasa chimică ar putea prezenta putere predictivă a activității antiinflamatoare sau nu.

Alte obiective legate de cercetarea de față sunt reprezentate de: evaluarea unei potențiale asocieri dintre apartenența fitocompușilor la o anumită clasă chimică și activitatea antiinflamatoare a acestora; evaluarea unei potențiale asocieri dintre gusturile/orosenzațiile generate de fitocompuși și activitatea antiinflamatoare a acestora; stabilirea superiorității în ceea ce privește capacitatea de predicție a activității antiinflamatoare luând în considerare cele două proprietăți ale fitocompușilor (gust/orosenzație, respectiv clasa chimică de apartenență), evaluarea implicării gusturilor/orosenzațiilor induse de fitocompuși în relația dintre asocierea presupusă a clasei chimice de apartenență a fitocompușilor și activitatea antiinflamatoare a acestora, evaluarea unei potențiale asocieri dintre gusturile/orosenzațiile determinate de fitocompuși și interacțiunea lor cu ținte moleculare implicate în inflamație.

7.2. Material și Metodă

Baza de date construită anterior (PlantMolecularTasteDB) a constituit sursa din care au fost selectați fitocompușii investigați în acest studiu [47].

Pentru a ne asigura de faptul că fitocompușii luați în statistică în cercetarea prezentă au fost în prealabil suficient de studiați, inclusiv din punct de vedere al rolului în inflamație, un prag de minimum 40 de studii la căutarea numelui fitocompusului în PubMed a fost aplicat în procesul de selecție.

Astfel, criteriile de includere pentru fitocompușii considerați au fost reprezentate de: existența lor în PlantMolecularTasteDB și existența unui număr minim de 40 de articole în PubMed folosind ca sintagmă de căutare numele compusului natural.

Pentru ca un compus să fie considerat ca având activitate antiinflamatoare în literatura de specialitate, am considerat ca dovadă pozitivă existența a cel puțin a unui studiu (*in vitro*, pe model animal sau studiu clinic).

A doua parte esențială a prezentei cercetări a fost reprezentată de validarea datelor obținute din prima căutare. Pentru acest deziderat s-a utilizat programul online SwissTargetPrediction [52]. Acest instrument bioinformatic realizează o predicție a țintelor moleculare ale moleculelor bioactive investigate. Predicția se bazează pe adăugarea în acest program a caracterelor de tip SMILES pentru itemul de analizat. Patru baze de date internaționale au servit ca suport de căutare a țintelor moleculare indicate prin programul anterior. Acestea sunt National Library of Medicine/Protein [53], PubChem [45], The Human Protein Atlas [54], UniProt [55]. Acest lucru a fost necesar pentru a valida implicarea acelor ținte moleculare în procesul inflamator. Căutarea din această etapă a presupus utilizarea numelui țintei moleculare și a cuvintelor cheie care au în structura lor "inflammat" (de exemplu, "inflammation", "inflammatory", "anti-inflammatory/anti-inflammatory", "proinflammatory/pro-inflammatory").

Clasele chimice luate în calculul statistic au fost: acizi alifatici cu lanț scurt, acizi fenolici, alcaloizi, aminoacizi, compuși cu sulf, cumarine, diterpenoide, alte fenilpropanoide* (altele decât clasele principale ale acizilor hidroxicinamici, cumarinelor, (iso)flavonoidelor, lignanilor, stilbenilor), flavonoide, glicozide ale flavonoidelor, glicozide ale monoterpenoidelor, glicozide ale steroizilor, monoterpenoide, sescviterpenoide, taninuri, triterpenoide, zaharide.

Din punct de vedere al mijloacelor statistice folosite în generarea rezultatelor, acestea au fost testul Chi-pătrat, testul Fisher exact, testul Mann-Whitney și corecția Bonferroni.

7.3.Rezultate

Din cei 1527 de compuși conținuți în baza de date PlantMolecularTasteDB, 592 au îndeplinit criteriul de a avea peste 40 de studii la căutarea fiecăruia dintre ei în PubMed.

Din acești 592 de fitocompuși, majoritatea (452, reprezentând 76,35%) au îndeplinit criteriul de a avea cel puțin un studiu referitor la efectul antiinflamator. 140 de fitocompuși, reprezentând 23,64%, nu au avut studii referitoare la efectul antiinflamator conform procesului de căutare.

Conform corecției Bonferroni, rezultatele semnificative statistic au fost pentru asocierile amar și activitate antiinflamatoare, zaharide și lipsa acțiunii antiinflamatoare.

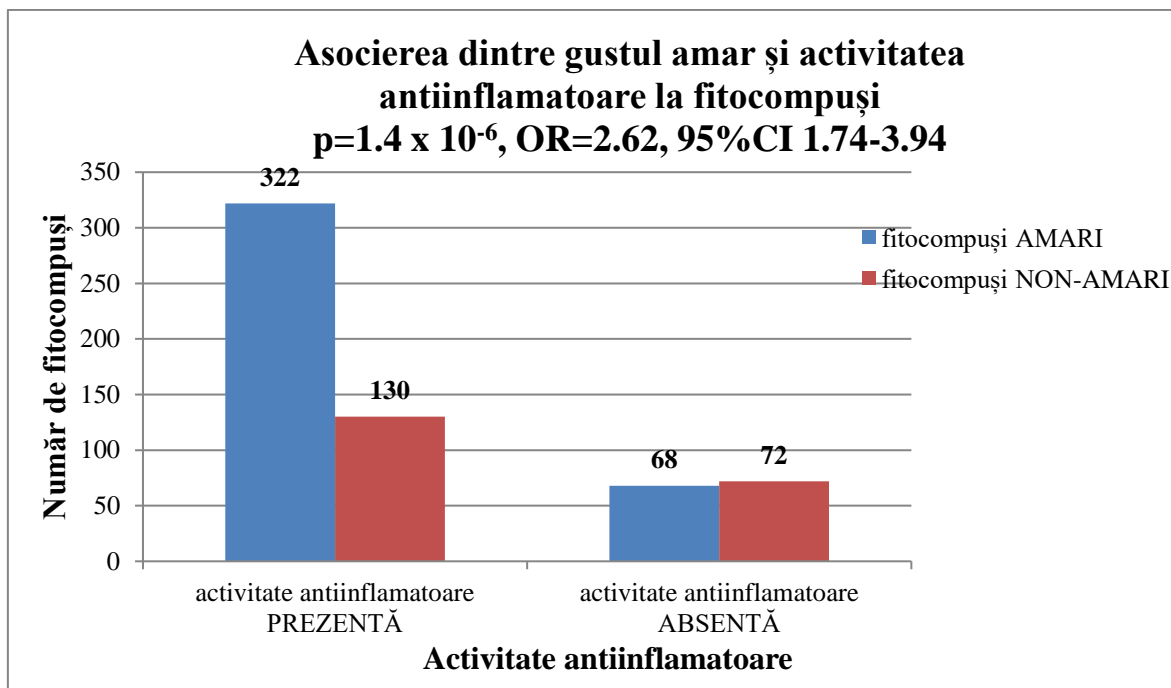


Figura 7.1. Asocierea dintre gustul amar și activitatea antiinflamatoare la fitocompuși

Zaharidele au o asociere negativă cu acțiunea antiinflamatoare, afirmație susținută de o valoare a p de 0.0003, un OR (Odds Ratio) de 0.25 și 95% CI (Confidence Interval) de 0.11-0.56 (nu include valoarea 1).

Flavonoidele au avut valoarea p (test Fisher exact) de 0.003, OR de 3.35, 95%CI 1.41-9.7, deci o asociere pozitivă semnificativă cu activitatea antiinflamatoare, dar aplicând corecția Bonferroni nivelul de semnificație statistică a coborât la 0.002.

Pentru cei 548 de compuși pentru care a putut fi realizată căutarea referitoare la țintele lor moleculare, au rezultat 1836 de posibile ținte. Dintre acestea, 363 sunt legate de procesul inflamator, 1245 nu sunt legate de procesul inflamator, iar pentru restul de 228 ținte nu se poate afirma cu exactitate legătura cu procesul inflamator.

Fitocompușii amari au un număr mai mare de ținte moleculare legate de inflamație comparativ cu fitocompușii care nu au gust amar.

7.4. Discuții

Gustul este un predictor mai bun pentru activitatea antiinflamatoare a fitocompușilor decât apartenența la o anumită clasă chimică. Cel mai relevant exemplu din cercetarea prezentă este legat de gustul amar al fitocompușilor care este un predictor mai important decât oricare clasă chimică luată în considerare, inclusiv clasa flavonoidelor.

Există în literatura de specialitate, studii *in vitro*, *in vivo* care arată că fitocompușii amari din diverse clase chimice prezintă efecte antiinflamatoare (de exemplu, modularea secreției unor citokine implicate în inflamație) [56–59].

O posibilă explicație a asocierii activității antiinflamatoare cu o anumită clasă s-ar putea datora și activării receptorilor gustativi corespondenți. Există un studiu care sugerează faptul că polifenolii (cea mai reprezentativă clasă sunt flavonoidele) se leagă de TAS2R orali și extraorali care modulează căile de semnalizare care sunt implicate în procesele antiinflamatoare, demonstrând astfel efecte benefice [60].

Într-un alt studiu se arată că deși anumiți compuși cu gust amar (de exemplu: cofeina, teobromina) împărtășesc similitudini structurale, ei pot avea profiluri de promiscuitate diferite [61]. Astfel pentru completa caracterizare a activităților biologice ale unor compuși naturali din plante, structura chimică a acestora pare a nu fi suficientă.

Asocierea negativă între activitatea antiinflamatoare și gustul dulce este susținută și de alte cercetări care au arătat faptul că o dietă cu cantități mari de zaharuri (fructoză, sucroză) se asociază cu inflamația cronică [62–65]. Există însă fitocompuși cu gust dulce care prezintă proprietăți antiinflamatoare [66,67].

7.5. Concluzii

Gustul fitocompușilor este o variabilă mai puternic asociată cu rolul antiinflamator decât clasa chimică a fitocompușilor.

Gustul amar are o asociere pozitivă semnificativă statistic cu activitatea antiinflamatoare.

Fitocompușii cu gust dulce și fitocompușii cu gust acru au o asociere negativă semnificativă statistic cu activitatea antiinflamatoare

Zaharidele prezintă o asociere negativă semnificativă statistic cu activitatea antiinflamatoare.

8. Evaluarea impactului gustului și impactului clasei chimice asupra activității anticancer a fitocompușilor și a posibilei relații dintre activitate anticancer și activitate antiinflamatoare a fitocompușilor prin data miming în PlantMolecularTasteDB

8.1. Introducere

Obiective

Obiectivul general al studiului actual a fost identificarea existenței unei asocieri între gusturile/orosenzațiile fitocompușilor și activitatea lor anticancer, precum și între clasa chimică a fitocompușilor și activitatea anticancer.

Identificarea unei potențiale asocieri între acțiunea antiinflamatoare a fitocompușilor activi gustativ și acțiunea anticancer a acestora, găsirea unei potențiale implicări a diferitelor gusturi/orosenzații generate de fitocompuși în ceea ce privește asocierea activitate antiinflamatoare – activitate anticancer, identificarea unei potențiale implicări diferențiate a claselor chimice de apartenență ale fitocompușilor în ceea ce privește asocierea acțiune antiinflamatoare – acțiune anticancer, identificarea unei superiorități în ceea ce privește impactul gustului sau clasei chimice în activitatea anticancer și găsirea raportului ierarhic dintre variabila gust/orosenzație și clasa chimică de apartenență a fitocompușilor în ceea ce privește asocierea acțiune antiinflamatoare – acțiune anticancer sunt alte obiective pe care ni le-am propus în studiul de față.

8.2. Material și Metodă

PlantMolecularTasteDB (<https://plantmoleculartastedb.org/index.php>, accesată la data de 01.02.2023) a servit ca loc de selecție al compușilor luați în calculul statistic [47].

Aplicând aceeași metodologie de selecție a fitocompușilor ca și în studiul precedent, un număr de minimum 40 de articole găsite la căutarea numelui compusului în PubMed a fost necesar pentru un anumit fitocompus pentru a fi inclus în studio [68].

Astfel, criteriile de includere în acest studiu au fost: prezența fitocompusului în PlantMolecularTasteDB și criteriul de existență a minimum 40 de studii la căutarea specifică a numelui fiecărui fitocompus din această bază de date.

Pentru investigarea prezenței de studii în literatura de specialitate referitoare la efectele anticancer, s-a realizat căutarea fiecărui fitocompus care a îndeplinit criteriile de includere în trei baze de date recunoscute internațional, respectiv PubMed, Science Direct, Google Scholar.

Pentru ca variabila timp să nu influențeze rezultatele statistice, o nouă căutare în ceea ce privește activitatea antiinflamatoare a fitocompușilor a fost realizată. S-au respectat criteriile enunțate în studiul anterior.

Pentru activitatea anticancer, sintagmele de căutare pentru fiecare fitocompus care a îndeplinit criteriile de includere considerate au inclus numele fitocompusului și cuvinte cheie precum, "antiproliferative", "cancer", "chemopreventive", "chemotherapy", "cytotoxic", "neoplastic", "tumor".

A fost considerată dovadă pozitivă pentru efect farmacologic investigat existența în literatura de specialitate a cel puțin un studiu (*in vitro*, pe model animal sau clinic) pentru fitocompusul respectiv.

Clasele chimice luate în calculul statistic au fost: acizi alifatici cu lanț scurt, acizi fenolici, acizi grași, alcaloizi, alte fenilpropanoide * (altele decât clasele (izo)flavonoidelor, derivaților ai acizilor hidroxicinamici - amide, ester-, esterilor acizilor cinamici, cumarinelor, lignanilor, metoxifenolilor, stilbenilor), alți compuși fenolici (alți compuși fenolici în afară de acizi fenolici, esterii ai acizilor fenolici, amide ai acizilor fenolici), aminoacizi, compuși cu sulf, cumarine, diterpenoide, esterii ai acizilor fenolici, flavonoide, glicozide ale flavonoidelor, glicozide ale steroizilor, glicozide ale triterpenoidelor, glicozide ale monoterpenoidelor, monoterpenoide, sescviterpenoide, taninuri, triterpenoide, zaharide.

8.3.Rezultate

Din totalul de 1527, doar 624 de fitocompuși au fost incluși în analiza statistică. De remarcat că un fitocompus poate avea mai multe gusturi/senzații gustative (Figura 8.1.)

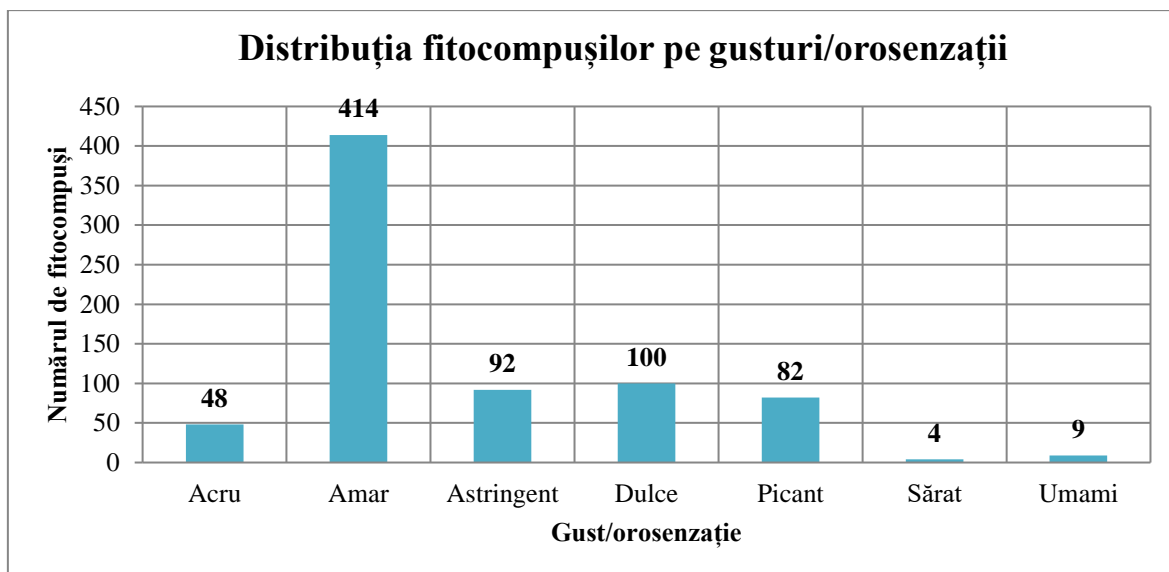


Figura 8.1. Distribuția fitocompușilor pe gusturi/orosenzații

O asociere pozitivă semnificativă statistic a fost găsită între gustul amar și activitatea anticancer, afirmație susținută de o valoare a p de 7×10^{-4} , OR 1.92 și 95% CI 1.32-2.77 (Figura 8.2). Tot o asociere pozitivă semnificativă statistic a fost găsită pentru fitocompușii cu gust amar și efect antiinflamator, afirmație susținută de o valoare p de 0.003, OR 1.9 și 95% CI 1.32-2.77.

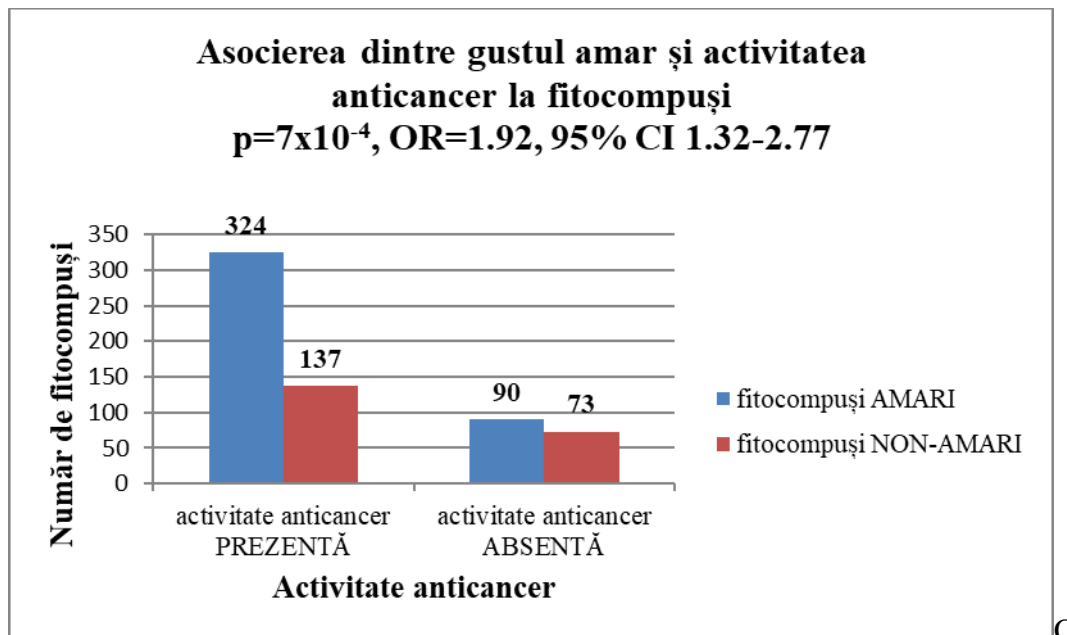


Figura 8.2. Asocierea dintre gustul amar și activitatea anticancer la fitocompuși

O asociere negativă a fost găsită între gustul dulce și activitatea anticancer, afirmație susținută de o valoare a p de 10^{-5} , OR 0.36 și 95% CI 0.23-0.56 (Figura 8.3.) Există o tendință negativă de asociere între gustul dulce și efectul antiinflamator, deoarece valoarea

p în acest caz (0.016) nu a îndeplinit pragul nou de semnificație statistică luând în considerare corecția Bonferroni (valoarea prag de 0.0035).

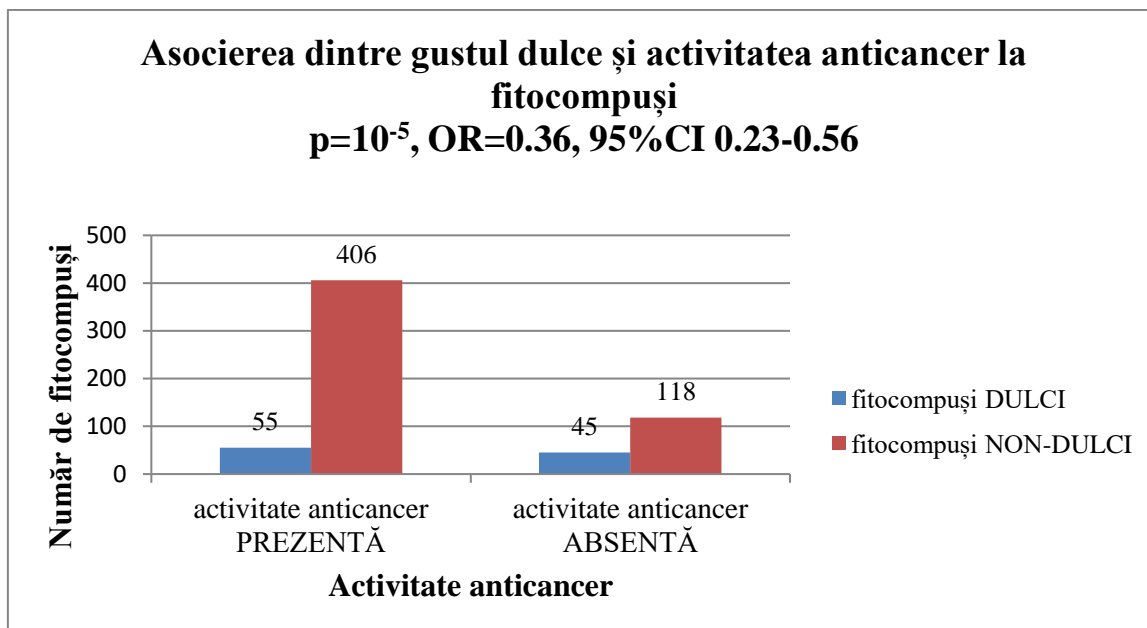


Figura 8.3. Asocierea dintre gustul dulce și activitatea anticancer la fitocompuși

Flavonoidele prezintă o asociere pozitivă semnificativă statistic cu efectul anticancer, afirmație susținută printr-o valoare p de 7×10^{-7} , OR 12.48 și 95% CI 3.58-76.76 (Figura 8.4). În ceea ce privește aceeași clasă chimică de fitocompuși și efectul antiinflamator, există o asociere pozitivă semnificativă statistic, afirmație susținută de o valoare a p de 5×10^{-5} , OR 15.72 și 95% CI 3.03-324.34.

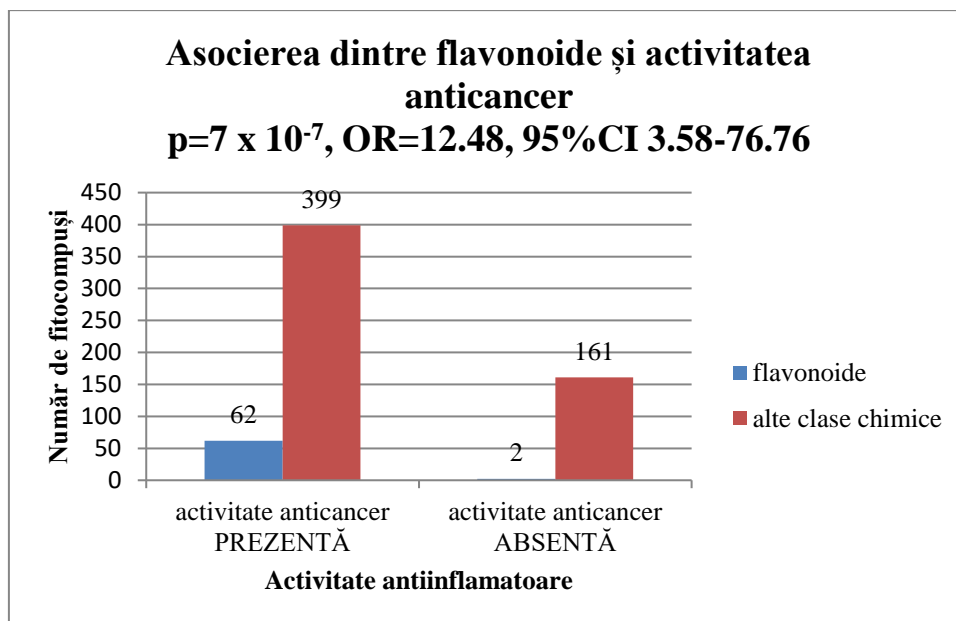


Figura 8.4. Asocierea dintre flavonoide și activitatea anticancer

O asociere negativă semnificativă statistic a fost găsită la zaharide și efectul anticancer, afirmație susținută de o valoare p de 0.0002, OR 0.25 și 95% CI 0.12-0.52. Asociere negativă semnificativă statistic a fost găsită tot pentru grupul zaharidelor, dar de data aceasta cu efectul antiinflamator, susținută de o valoare p de 2×10^{-5} , un OR de 0.2 și un 95% CI de 0.09-0.41.

Asociere negativă semnificativă statistic a fost găsită între alcaloizi și efectul antiinflamator (valoare p 0.0003, OR 0.41 și 95% CI de 0.25-0.66).

O asociere negativă semnificativă din punct de vedere statistic a fost găsită între aminoacizi și activitatea anticancer (valoare p 3×10^{-7} , OR 0.14 și 95% CI 0.06-0.3).

Aceste asocieri semnificative static s-au păstrat și în cazul regrupării claselor chimice.

Există o asociere puternică între activitatea anticancer și activitatea antiinflamatoare a fitocompușilor pentru toate gusturile și toate clasele chimice (cu excepția aminoacizilor).

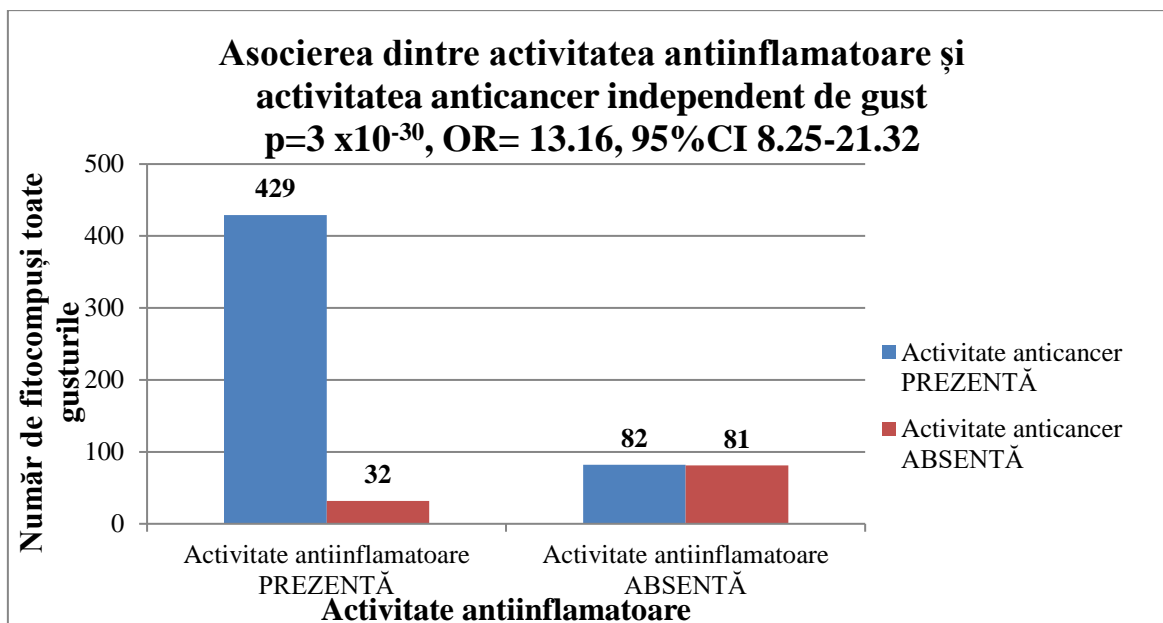


Figura 8.5 Asocierea dintre activitatea antiinflamatoare și activitatea anticancer independent de gust

8.4. Discuții

În studiul anterior, fitocompușii cu gust amar aveau o probabilitate mai ridicată de a îndeplini efecte antiinflamatoare comparativ cu fitocompușii care nu au gust amar [68]. Tot în studiul anterior, fitocompușii cu gust dulce aveau o probabilitate mai scăzută de a avea acțiuni antiinflamatoare comparative cu compușii care nu sunt dulci [68]. Aceste tendințe se păstrează și în studiul actual.

Se cunoaște faptul că există agenți antiinflamatori care au și efecte benefice legate de carcinogeneză. Un exemplu în acest sens este reprezentat de antiinflamatoarele nonsteroidiene care în studii experimentale, precum și în studii epidemiologice, dar și în studii clinice randomizate au avut un efect de chimioprevenție [69–78].

Asocierea pozitivă gust amar – activitate anticancer nu este neașteptată, întrucât o fitocompușii amari prezintă numeroase efecte anticancer [27–30].

O altă constatare este faptul că o gustul dulce prezintă asociere negativă cu activitatea antiinflamatoare și o asociere negativă semnificativă cu activitatea anticancer. Conform unei meta-analize, există o asociere pozitivă semnificativă între consumul mai mare de suc de fructe și riscul de cancer de prostată [79]. Același studiu arată există o asociere pozitivă semnificativă statistic între consumul mai mare de băuturi îndulcite cu zahăr și incidența cancerului de prostată, precum și o asociere pozitivă semnificativă statistic între consumul

mai mare de băuturi îndulcite cu zahăr și incidența cancerului de sân [79].

O altă observație majoră reieșită din prezentul studiu este faptul că gustul/orosenzația unui fitocompus este un predictor mai important al efectelor biologice ale acestuia decât clasa chimică din care acesta face parte. Acest rezultat este în aceeași linie cu cercetarea precedentă, în care gustul/orosenzația fitocompusului ca și variabilă era mai puternic asociată efectului antiinflamator al fitocompusului decât apartenența la o anumită categorie de clasă chimică [68].

8.5. Concluzii

Fitocompușii cu gust amar au o probabilitate mai mare de a avea activitate anticancer, respectiv antiinflamatoare comparativ cu fitocompușii care nu au gust amar.

Fitocompușii cu gust dulce prezintă o probabilitate mai mare de asociere negativă cu activitatea anticancer, dar și cu activitatea antiinflamatoare comparativ cu compușii care nu sunt dulci.

Există asocieri puternic semnificative statistic între activitatea antiinflamatoare și activitatea anticancer a unui compus natural activ gustativ, cu alte cuvinte un fitocompus cu proprietăți antiinflamatoare este foarte probabil să aibă și acțiuni anticancer și reciproc, un fitocompus cu activitate anticancer este foarte probabil să prezinte și activitate antiinflamatoare. Această concluzie susține conceptul prin care țintirea proceselor inflamatorii reprezintă o strategie chimiopreventivă și chiar chimioterapeutică.

Singura clasă chimică pentru care a existat o asociere pozitivă semnificativă statistic cu fiecare din cele două acțiuni farmacologice studiate este clasa flavonoidelor. Și mai interesant este faptul că majoritatea compușilor încadrați în această clasă chimică au gust amar, cu alte cuvinte, gustul are o anumită supremație asupra clasei chimice, în ceea ce privește puterea predictivă a acțiunii biologice.

Este însă nevoie de studii experimentale pentru confirmarea concluziilor menționate mai sus.

Concluzii generale

Concluziile care reies din acest studiu de doctorat și care reflectă noutatea cercetării sunt următoarele:

- Gustul fitocompușilor este o variabilă cu o putere de predicție mai mare a activității antiinflamatoare comparativ cu clasa chimică de care aparțin fitocompușii.
- Gustul fitocompușilor este o variabilă cu o putere predictivă mai mare a activității anticancer comparativ cu clasa chimică de care aparțin fitocompușii.
- Fitocompușii cu gust amar prezintă o probabilitate mai crescută de a avea efecte antiinflamatoare comparativ cu fitocompușii care nu au gust amar.
- Fitocompușii cu gust amar au o probabilitate mai mare de a avea acțiuni anticancer comparativ cu fitocompușii care nu au gust amar.
- Fitocompușii cu gust dulce prezintă o probabilitate mai mare de a fi lipsiți de activități antiinflamatoare comparativ cu compușii care nu sunt dulci
- Fitocompușii cu gust dulce prezintă o probabilitate mai mare de a fi lipsiți de activități anticancer comparativ cu compușii care nu sunt dulci
- Dacă un fitocompus are activitate antiinflamatoare este foarte probabil ca acesta să aibă și efect anticancer și, reciproc, dacă un fitocompus are activitate anticancer este foarte probabil ca acesta să aibă și activitate antiinflamatoare, indiferent de variabila gust; este adevărat faptul că gustul ca și variabilă ar putea avea un impact asupra puterii asocierii.
- Din toate clasele chimice, clasa flavonoidelor prezintă o probabilitate mai mare de a avea acțiuni antiinflamatoare, cât și acțiuni anticancer

Perspective viitoare

Unele dintre posibilele direcții viitoare de cercetare sunt menționate mai jos:

- Utilizarea PlantMolecularTasteDB pentru a identifica liganzi noi pentru TAS2R sau pentru a identifica liganzi pentru TAS2R orfan (prin studii de molecular docking)
- Selectarea unor fitocompuși din baza de date și investigarea acestora in vitro (studii celule/linie celulară) sau pe un model animal privind etapele carcinogenezei, respectiv intervenția acestor compuși în axa inflamație cronică – cancer
- Investigarea unei potențiale corelații între gradul de activare a receptorilor de gust amar pentru diferiți fitocompuși din baza de date (EC50) și capacitatea acestora de a inhiba dezvoltarea unei clone tumorale (IC50).
- Crearea de instrumente bioinformaticice pentru estimarea profilului gustativ al unui (fito)compus sau estimarea activității antiinflamatoare sau a activității anticancer

Bibliografie selectivă

1. Petrovska B. Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacogn Rev.* 2012 Jan;6(11):1.
2. Saboon, Chaudhari SK, Arshad S, Amjad MS, Akhtar MS. Natural Compounds Extracted from Medicinal Plants and Their Applications. In: Akhtar MS, Swamy MK, Sinniah UR, editors. *Natural Bio-active Compounds*. Singapore: Springer Singapore; 2019. p. 193–207.
3. Dragos D, Gilca M. PhytoMolecularTasteDB: An integrative database on the “molecular taste” of Indian medicinal plants. *Data Br.* 2018 Aug;19:1237–41.
4. Tuzim K, Korolczuk A. An update on extra - oral bitter taste receptors. Vol. 19, *Journal of Translational Medicine*. BioMed Central; 2021. 1–33 p.
5. D'Urso O, Drago F. Pharmacological significance of extra-oral taste receptors. *Eur J Pharmacol.* 2021 Nov;910:174480.
6. Sharma R, Dash B. *Caraka Samhita*, vol. 23. Chowkhamba Sanskrit Series Office, Varanasi, India,. 2006.
7. Bensky D, Clavey S, Stöger E. *Materia medica*. 3rd ed. Chinese Herbal Medicine. Eastland press Seattle, WA, USA; 2004. 3–6 p.
8. Kurihara K. Umami the Fifth Basic Taste: History of Studies on Receptor Mechanisms and Role as a Food Flavor. *Biomed Res Int.* 2015;2015:1–10.
9. Gilca M, Dragos D. Extraoral Taste Receptor Discovery: New Light on Ayurvedic Pharmacology. *Evidence-Based Complement Altern Med.* 2017;2017:1–30.
10. Shukla R, Pandey V, Vadnere GP, Lodhi S. Chapter 18 - Role of Flavonoids in Management of Inflammatory Disorders. Watson RR, Preedy VRBTBF as DI for A and RID (Second E, editors. *Bioactive Food as Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases*. Academic Press; 2019. 293–322 p.
11. Singh AK, Singh SK, Nandi MK, Mishra G, Maurya A, Rai A, et al. Berberine: A Plant-derived Alkaloid with Therapeutic Potential to Combat Alzheimer's disease. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem.* 2019 Oct 31;19(3):154–70.
12. Behrens M, Brockhoff A, Batram C, Kuhn C, Appendino G, Meyerhof W. The human bitter taste receptor hTAS2R50 is activated by the two natural bitter terpenoids andrographolide and amarogentin. *J Agric Food Chem.* 2009 Nov;57(21):9860–6.
13. Mancuso G, Borgonovo G, Scaglioni L, Bassoli A. Phytochemicals from *Ruta graveolens* Activate TAS2R Bitter Taste Receptors and TRP Channels Involved in Gustation and Nociception. *Molecules.* 2015 Oct 16;20(10):18907–22.
14. Meyerhof W, Batram C, Kuhn C, Brockhoff A, Chudoba E, Bufe B, et al. The molecular receptive ranges of human TAS2R bitter taste receptors. *Chem Senses.* 2010 Feb;35(2):157–70.
15. Shaw L, Mansfield C, Colquitt L, Lin C, Ferreira J, Emmetsberger J, et al. Personalized expression of bitter ‘taste’ receptors in human skin. Behrens M, editor. *PLoS One.* 2018 Oct 17;13(10):e0205322.
16. Reszka E, Nowakowska-Swirta E, Kupczyk M, Dudek W, Swierczynska-Machura D, Wittczak T, et al. Expression of bitter taste receptors in the human skin in vitro. *J Clin Res Bioeth.* 2015;6(2).
17. Talmon M, Massara E, Quaregna M, De Battisti M, Boccafoschi F, Lecchi G, et al. Bitter taste receptor (TAS2R) 46 in human skeletal muscle: expression and activity. *Front Pharmacol.* 2023 Sep 12;14.
18. Grassin-Delyle S, Salvator H, Mantov N, Abrial C, Brollo M, Faisy C, et al. Bitter Taste Receptors (TAS2Rs) in Human Lung Macrophages: Receptor Expression and Inhibitory Effects of TAS2R Agonists. *Front Physiol.* 2019 Oct 2;10.
19. Barham HP, Cooper SE, Anderson CB, Tizzano M, Kingdom TT, Finger TE, et al. Solitary

- chemosensory cells and bitter taste receptor signaling in human sinonasal mucosa. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2013 Jun;3(6):450–7.
20. Dagan-Wiener A, Di Pizio A, Nissim I, Bahia MS, Dubovski N, Margulis E, et al. BitterDB: taste ligands and receptors database in 2019. *Nucleic Acids Res.* 2019 Jan;47(D1):D1179–85.
 21. Ekoff M, Choi JH, James A, Dahlén B, Nilsson G, Dahlén SE. Bitter taste receptor (TAS2R) agonists inhibit IgE-dependent mast cell activation. *J Allergy Clin Immunol.* 2014 Aug 1;134(2):475–8.
 22. Piskadło-Zborowska K, Stachowiak M, Sarnowska E, Jowik R, Dżaman K. Assessment of the effect of inflammatory changes and allergic reaction on TAS2R38 receptor expression in patients with chronic sinusitis (CRS). *Otolaryngol Pol.* 2020 May 18;74(5):17–23.
 23. Maleki SJ, Crespo JF, Cabanillas B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chem.* 2019;299:125124.
 24. Martin LTP, Nachtigal MW, Selman T, Nguyen E, Salsman J, Delleire G, et al. Bitter taste receptors are expressed in human epithelial ovarian and prostate cancers cells and noscapine stimulation impacts cell survival. *Mol Cell Biochem.* 2019;454(1):203–14.
 25. Zehentner S, Reiner AT, Grimm C, Somoza V. The Role of Bitter Taste Receptors in Cancer: A Systematic Review. *Cancers (Basel).* 2021 Nov;13(23).
 26. Costa AR, Duarte AC, Costa-Brito AR, Gonçalves I, Santos CRA. Bitter taste signaling in cancer. *Life Sci.* 2023 Feb;315:121363.
 27. Takashina M, Inoue S, Tomihara K, Tomita K, Hattori K, Zhao QL, et al. Different effect of resveratrol to induction of apoptosis depending on the type of human cancer cells. *Int J Oncol.* 2017 Mar;50(3):787–97.
 28. Kim YS, Sull JW, Sung HJ. Suppressing effect of resveratrol on the migration and invasion of human metastatic lung and cervical cancer cells. *Mol Biol Rep.* 2012 Sep 14;39(9):8709–16.
 29. Yuan L, Zhou M, Huang D, Wasan HS, Zhang K, Sun L, et al. Resveratrol inhibits the invasion and metastasis of colon cancer through reversal of epithelial- mesenchymal transition via the AKT/GSK-3 β /Snail signaling pathway. *Mol Med Rep.* 2019 Sep;20(3):2783–95.
 30. Zhu Y, Mao Y, Chen H, Lin Y, Hu Z, Wu J, et al. Apigenin promotes apoptosis, inhibits invasion and induces cell cycle arrest of T24 human bladder cancer cells. *Cancer Cell Int.* 2013 Dec 1;13(1):54.
 31. Kopustinskiene DM, Jakstas V, Savickas A, Bernatoniene J. Flavonoids as Anticancer Agents. *Nutrients.* 2020 Feb 12;12(2):457.
 32. Reszka, E; Nowakowska-Swirta, E.; Kupczyk, M.; Dudek, W.; Swierczynska-Machura, D.; Wittczak, T.; Rykała J. P. Expression of Bitter Taste Receptors in the Human Skin In Vitro. *J Clin Res Bioeth.* 2015 Jan 1;06(02).
 33. Wölfle U, Elsholz FA, Kersten A, Haarhaus B, Müller WE, Schempp CM. Expression and Functional Activity of the Bitter Taste Receptors TAS2R1 and TAS2R38 in Human Keratinocytes. *Skin Pharmacol Physiol.* 2015;28(3):137–46.
 34. Wölfle U, Elsholz F, Kersten A, Haarhaus B, Schumacher U, Schempp C. Expression and Functional Activity of the Human Bitter Taste Receptor TAS2R38 in Human Placental Tissues and JEG-3 Cells. *Molecules.* 2016 Mar 3;21(3):306.
 35. Ho HKY, Bigliardi PL, Stelmashenko O, Ramasamy S, Postlethwaite M, Bigliardi-Qi M. Functionally expressed bitter taste receptor TAS2R14 in human epidermal keratinocytes serves as a chemosensory receptor. *Exp Dermatol.* 2021 Feb 5;30(2):216–25.
 36. Canello R, Micheletto G, Meta D, Lavagno R, Bevilacqua E, Panizzo V, et al. Expanding the role of bitter taste receptor in extra oral tissues: TAS2R38 is expressed in human adipocytes. *Adipocyte.* 2020 Dec;9(1):7–15.
 37. Sakakibara M, Sumida H, Yanagida K, Miyasato S, Nakamura M, Sato S. Bitter taste receptor T2R38 is expressed on skin-infiltrating lymphocytes and regulates lymphocyte migration. *Sci Rep.*

2022 Jul 11;12(1):11790.

38. Gherardini J, Rouille T, Ferholz M, Funk W, Rodríguez-Feliz J, Bauman AJ, et al. 571 Human Hair Follicles can “Taste”: Stimulation of the Bitter Taste Receptor TAS2R4 Inhibits Hair Growth Ex Vivo by Up-Regulating TGF- β 2. *J Invest Dermatol*. 2022 Dec 1;142(12):S279.
39. Roland WSU, van Buren L, Gruppen H, Driesse M, Gouka RJ, Smit G, et al. Bitter Taste Receptor Activation by Flavonoids and Isoflavonoids: Modeled Structural Requirements for Activation of hTAS2R14 and hTAS2R39. *J Agric Food Chem*. 2013 Nov 6;61(44):10454–66.
40. Meng X, Zheng S, Yin Z, Wang X, Yang D, Zou T, et al. Apigenin ameliorates imiquimod-induced psoriasis in C57BL/6J mice by inactivating STAT3 and NF- κ B. *Food Sci Hum Wellness*. 2024 Jan;13(1):211–24.
41. Sahu H, Shurma S, Gondhalakar S. A brief overview on data mining survey. *Int J Comput Technol Electron Eng*. 2011;1(3):114–21.
42. Fleiss JL. *The Design and Analysis of Clinical Experiments*. John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA,; 1986.
43. Wiener A, Shudler M, Levit A, Niv MY. BitterDB: a database of bitter compounds. *Nucleic Acids Res*. 2012 Jan;40(D1):D413–9.
44. FooDB [Internet]. [accesat la 1 decembrie 2019]. Available from: <https://foodb.ca/>
45. Kim S, Thiessen PA, Bolton EE, Chen J, Fu G, Gindulyte A, et al. PubChem Substance and Compound databases. *Nucleic Acids Res*. 2016 Jan 4;44(D1):D1202–13.
46. Ahmed J, Preissner S, Dunkel M, Worth CL, Eckert A, Preissner R. SuperSweet-A resource on natural and artificial sweetening agents. *Nucleic Acids Res*. 2011;
47. Gradinaru TC, Petran M, Dragos D, Gilca M. PlantMolecularTasteDB: A Database of Taste Active Phytochemicals. *Front Pharmacol*. 2022;12:3804.
48. Wishart DS, Tzur D, Knox C, Eisner R, Guo AC, Young N, et al. HMDB: the Human Metabolome Database. *Nucleic Acids Res*. 2007 Jan 1;35(suppl_1):D521–6.
49. Gaulton A, Bellis LJ, Bento AP, Chambers J, Davies M, Hersey A, et al. ChEMBL: a large-scale bioactivity database for drug discovery. *Nucleic Acids Res*. 2011/09/23. 2012 Jan 1;40(D1):D1100–7.
50. Dragos D, Gilca M. Taste of phytochemicals: A better predictor for ethnopharmacological activities of medicinal plants than the phytochemical class? *J Ethnopharmacol*. 2018;
51. Garg N, Sethupathy A, Tuwani R, NK R, Dokania S, Iyer A, et al. FlavorDB: a database of flavor molecules. *Nucleic Acids Res*. 2018 Jan 4;46(D1):D1210–6.
52. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. *Nucleic Acids Res*. 2019 Jul 2;47(W1):W357–64.
53. Sayers EW, Bolton EE, Brister JR, Canese K, Chan J, Comeau DC, et al. Database resources of the national center for biotechnology information. *Nucleic Acids Res*. 2022 Jan 7;50(D1):D20–6.
54. Uhlen M, Fagerberg L, Hallstrom BM, Lindskog C, Oksvold P, Mardinoglu A, et al. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science*. 2015 Jan;347(6220):1260419.
55. UniProt Consortium. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge. *Nucleic Acids Res*. 2019 Jan 8;47(D1):D506–15.
56. Ano Y, Dohata A, Taniguchi Y, Hoshi A, Uchida K, Takashima A, et al. Iso- α -acids, Bitter Components of Beer, Prevent Inflammation and Cognitive Decline Induced in a Mouse Model of Alzheimer’s Disease. *J Biol Chem*. 2017 Mar 3;292(9):3720–8.
57. Lin WC, Lin JY. Five bitter compounds display different anti-inflammatory effects through modulating cytokine secretion using mouse primary splenocytes in vitro. *J Agric Food Chem*. 2011;59(1):184–92.

58. Sharma P, Yi R, Nayak AP, Wang N, Tang F, Knight MJ, et al. Bitter Taste Receptor Agonists Mitigate Features of Allergic Asthma in Mice. *Sci Rep.* 2017 Apr 11;7(1):46166.
59. Yang HY, Chang HK, Lee JW, Kim YS, Kim H, Lee MH, et al. Amygdalin suppresses lipopolysaccharide-induced expressions of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in mouse BV2 microglial cells. *Neurol Res.* 2007 Feb 1;29(sup1):59–64.
60. Canivenc-Lavier MC, Neiers F, Briand L. Plant polyphenols, chemoreception, taste receptors and taste management. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2019 Nov;22(6):472–8.
61. Bayer S, Mayer AI, Borgonovo G, Morini G, Di Pizio A, Bassoli A. Chemoinformatics View on Bitter Taste Receptor Agonists in Food. *J Agric Food Chem.* 2021 Nov 24;69(46):13916–24.
62. Sakamoto N, Kono S, Wakai K, Fukuda Y, Satomi M, Shimoyama T, et al. Dietary Risk Factors for Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2005 Feb;11(2):154–63.
63. Porto ML, Lirio LM, Dias AT, Batista AT, Campagnaro BP, Mill JG, et al. Increased oxidative stress and apoptosis in peripheral blood mononuclear cells of fructose-fed rats. *Toxicol Vitro Int J Publ Assoc with BIBRA.* 2015 Dec;29(8):1977–81.
64. O'Connor L, Imamura F, Brage S, Griffin SJ, Wareham NJ, Forouhi NG. Intakes and sources of dietary sugars and their association with metabolic and inflammatory markers. *Clin Nutr.* 2018 Aug;37(4):1313–22.
65. Laffin M, Fedorak R, Zalasky A, Park H, Gill A, Agrawal A, et al. A high-sugar diet rapidly enhances susceptibility to colitis via depletion of luminal short-chain fatty acids in mice. *Sci Rep.* 2019 Aug 23;9(1):12294.
66. Chung JH, Kong JN, Choi HE, Kong KH. Antioxidant, anti-inflammatory, and anti-allergic activities of the sweet-tasting protein brazzein. *Food Chem.* 2018 Nov;267:163–9.
67. Yao L, Sun T. Glycyrrhizin administration ameliorates *Streptococcus aureus*-induced acute lung injury. *Int Immunopharmacol.* 2019 May;70:504–11.
68. Dragoş D, Petran M, Gradinaru TC, Gilca M. Phytochemicals and Inflammation: Is Bitter Better? *Plants.* 2022 Nov 6;11(21):2991.
69. Zappavigna S, Cossu AM, Grimaldi A, Bocchetti M, Ferraro GA, Nicoletti GF, et al. Anti-Inflammatory Drugs as Anticancer Agents. *Int J Mol Sci.* 2020 Apr;21(7).
70. Drew DA, Cao Y, Chan AT. Aspirin and colorectal cancer: the promise of precision chemoprevention. *Nat Rev Cancer.* 2016 Mar;16(3):173–86.
71. Elwood P, Proddy M, Morgan G, Pickering J, Delon C, Watkins J. Aspirin and cancer: biological mechanisms and clinical outcomes. *Open Biol.* 2022 Sep 14;12(9):220124.
72. Burn J, Sheth H, Elliott F, Reed L, Macrae F, Mecklin JP, et al. Cancer prevention with aspirin in hereditary colorectal cancer (Lynch syndrome), 10-year follow-up and registry-based 20-year data in the CAPP2 study: a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet (London, England).* 2020 Jun;395(10240):1855–63.
73. Qiao Y, Yang T, Gan Y, Li W, Wang C, Gong Y, et al. Associations between aspirin use and the risk of cancers: a meta-analysis of observational studies. *BMC Cancer.* 2018;18(1):288.
74. Sebastian NT, Stokes WA, Behera M, Jiang R, Gutman DA, Huang Z, et al. The Association of Improved Overall Survival with NSAIDs in Non-Small Cell Lung Cancer Patients Receiving Immune Checkpoint Inhibitors. *Clin Lung Cancer.* 2023 May;24(3):287–94.
75. Rahme E, Ghosn J, Dasgupta K, Rajan R, Hudson M. Association between frequent use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and breast cancer. *BMC Cancer.* 2005 Dec;5:159.
76. Liu Y, Ren T, Xu X, Jin J. Association of aspirin and nonaspirin NSAIDs therapy with the incidence risk of hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis on cohort studies. *Eur J cancer Prev Off J Eur Cancer Prev Organ.* 2022 Jan;31(1):35–43.
77. Majidi A, Na R, Jordan SJ, DeFazio A, Obermair A, Friedlander M, et al. Common analgesics and

ovarian cancer survival: the Ovarian cancer Prognosis And Lifestyle (OPAL) Study. *J Natl Cancer Inst.* 2023 May;115(5):570–7.

78. Sasamoto N, Babic A, Vitonis AF, Titus L, Cramer DW, Trabert B, et al. Common Analgesic Use for Menstrual Pain and Ovarian Cancer Risk. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2021 Aug;14(8):795–802.
79. Llahi F, Gil-Lespinard M, Unal P, de Villasante I, Castañeda J, Zamora-Ros R. Consumption of Sweet Beverages and Cancer Risk. A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *Nutrients*. 2021 Feb;13(2).