

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
DOMENIUL FARMACIE



*„Screening farmacologic privind potențialul terapeutic  
al principiilor active extrase din Morus alba, Angelica  
archangelica, Valeriana officinalis și Passiflora  
incarnata”*

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:  
PROF. UNIV. DR. NEGREȘ SIMONA**

**Student-doctorand:  
SUCIU FELICIA**

**BUCUREȘTI**

**2025**

## Cuprins

### PARTEA GENERALĂ

Introducere	7
1. Implicațiile neurotransmisiei GABA-ergice în durere și în apariția convulsiilor	10
1.1. Implicațiile neurotransmisiei GABA-ergice în durere	10
1.1.1. Transmisia GABA-ergică	10
1.1.2. Rolul GABA în transducția și modularea durerii	11
1.1.3. Rolul receptorilor GABA în transducția și modularea durerii	12
1.1.4. Implicarea transmisiei GABA-ergice în durerea neuropată	14
1.2. Rolul sistemului GABA ergic în modularea apariției convulsiilor	15
2. Importanța terapeutică a speciilor vegetale <i>Valeriana officinalis</i> , <i>Passiflora incarnata</i> L, <i>Morus alba</i> și <i>Angelica archangelica</i>	19
2.1. <i>Morus alba</i>	19
2.1.1. Fitochimie	19
2.1.2. Acțiuni farmacologice	20
2.2. <i>Angelica archangelica</i>	22
2.2.1. Fitochimie	22
2.2.2. Acțiuni farmacologice	23
2.3. <i>Valeriana officinalis</i>	25
2.3.1. Fitochimie	25
2.3.2. Acțiuni farmacologice	26
2.4. <i>Passiflora incarnata</i> L.	28
2.4.1. Fitochimie	28
2.4.2. Acțiuni farmacologice	29
CONTRIBUȚII PERSONALE	
3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale	32
4. Metodologia generală a cercetării	33
4.1. Studii in vitro	33
4.2. Studii in vivo	33
4.2.1. Teste utilizate pentru evaluarea durerii	34
4.2.2. Teste utilizate pentru evaluarea activității motorii	38
4.2.3. Teste utilizate pentru evaluarea potențialului anticonvulsivant	38
4.3. Teste biochimice	38
4.4. Studii computaționale	38
4.4.1. Predicția țintelor moleculare	38
4.4.2. Docking molecular	39
5. Obținerea extractelor vegetale uscate de <i>Morus alba</i> radix, <i>Angelica archangelica</i> radix, <i>Valeriana officinalis</i> radix, <i>Passiflora incarnata</i> L herba. Determinarea conținutului de principii active și a efectului antioxidant.	40
5.1. Ipoteza de cercetare	40
5.2. Obținerea extractelor vegetale uscate	40
5.3. Determinarea conținutului în polifenoli totali	41
5.3.1. Principiul metodei	41
5.3.2. Mod de lucru	41
5.3.3. Rezultate și discuții	41
5.4. Determinarea conținutului în flavone totale	42
5.4.1. Principiul metodei	42

5.4.2.	Mod de lucru	42
5.4.3.	Rezultate și discuții	42
5.5.	Determinarea conținutului în acizi fenolici	43
5.5.1.	Principiul metodei	43
5.5.2.	Mod de lucru	43
5.5.3.	Rezultate și discuții	43
5.6.	Determinarea acțiunii antioxidante în sistem acelular - Metoda ABTS	44
5.6.1.	Principiul metodei	44
5.6.2.	Mod de lucru	44
5.6.3.	Rezultate și discuții	44
5.7.	Concluzii	45
6.	Determinarea profilului polifenolic al extractelor obținute din <i>Morus alba</i> cortex, <i>Angelica archangelica</i> radix, <i>Valeriana officinalis</i> radix și <i>Passiflora incarnata</i> L herba prin spectrometrie de masă în tandem (MS-MS).	46
6.1.	Ipoteza de cercetare	46
6.2.	Materiale și metode	47
6.3.	Rezultate	50
6.4.	Discuții	53
6.5.	Concluzii	54
7.	Studiu privind toxicitatea acută a principiilor active conținute în <i>Morus alba</i> cortex, <i>Angelica archangelica</i> radix, <i>Valeriana officinalis</i> radix și <i>Passiflora incarnata</i> herba.	56
7.1.	Ipoteza de cercetare	56
7.2.	Materiale și metode	56
7.3.	Rezultate și discuții	56
7.4.	Concluzii	57
8.	Cercetări experimentale privind determinarea efectului analgezic la șoarece al principiilor active extrase din <i>Morus alba</i> cortex, <i>Angelica archangelica</i> radix, <i>Valeriana officinalis</i> radix și <i>Passiflora incarnata</i> herba, în testele hot plate și tail flick.	59
8.1.	Ipoteza de cercetare	59
8.2.	Materiale și metode	59
8.3.	Protocol experimental	60
8.4.	Analiza statistică	60
8.5.	Rezultate experimentale privind pragul sensibilității dureroase în testele de analgezie	61
8.5.1.	Testul plăcii fierbinți (Hot plate)	61
8.5.2.	Testul retracției cozii (Tail flick)	63
8.5.3.	Rezultate privind evaluarea greutății corporale a animalelor tratate cu extractele testate	65
8.6.	Discuții	66
8.7.	Concluzii	67
9.	Cercetări experimentale privind determinarea efectului antihiperalgic al tratamentului cu extracte vegetale obținute din <i>Morus alba</i> , <i>Angelica archangelica</i> , <i>Valeriana officinalis</i> și <i>Passiflora incarnata</i> L herba în neuropatia periferică indusă de paclitaxel la șobolan.	69
9.1.	Ipoteza de cercetare	69
9.2.	Materiale și metode	70
9.3.	Protocol experimental	71
9.4.	Analiza statistică	72

9.5.	Rezultate	73
9.5.1.	Rezultate privind hiperalgezia tactilă indusă de paclitaxel și efectele extractelor de testat asupra acestui parametru (Evaluare cu aparatul Dynamic Plantar Aesesthiometer)	73
9.5.2.	Rezultate privind determinarea hipersensibilității mecanice prin utilizarea testului filamentelor von Frey	74
9.5.3.	Rezultatele experimentale privind alodinia termică de rece: testul picăturii de acetonă	76
9.5.4.	Rezultatele experimentale privind concentrația tiolilor totali din omogenatele de creier de șobolan	77
9.6.	Discuții	78
9.7.	Concluzii	79
10.	Cercetări farmacologice experimentale privind evaluarea potențialului antihiperalgic al principiilor active conținute în <i>Morus alba</i> cortex, <i>Angelica archangelica</i> radix, <i>Valeriana officinalis</i> radix și <i>Passiflora incarnata</i> herba în durerea neuropată indusă de diabetul aloxanic la șobolan.	81
10.1.	Ipoteza de cercetare	81
10.2.	Materiale și metode	82
10.2.1.	Studii computaționale	82
10.2.1.1.	Predicția țintelor asociate cu neuropatia	82
10.2.1.2.	Docking molecular	83
10.2.1.3.	Rezultate și discuții	85
10.2.1.4.	Concluzii	87
10.2.2.	Studii in vivo privind eficacitatea extractelor de testat în neuropatia diabetică indusă de administrarea aloxanului la șobolani	87
10.2.2.1.	Materiale și metode	87
10.2.2.2.	Analiza statistică	88
10.2.2.3.	Protocol experimental	88
10.2.2.4.	Rezultate	89
10.2.2.5.	Discuții	96
10.2.3.	Determinarea concentrațiilor de TNF- $\alpha$ și Il-6 în țesutul hepatic și cerebral la animalele non diabetice, diabetice și la cele tratate cu gabapentină (substanța de referință) și extractele de <i>Valeriana officinalis</i> radix, <i>Passiflora incarnata</i> herba, <i>Morus alba</i> cortex, și <i>Angelica archangelica</i> radix.	101
10.2.3.1.	Materiale și metode	101
10.2.3.2.	Analiză statistică	101
10.2.3.3.	Rezultate	102
10.2.3.4.	Discuții	104
10.2.3.5.	Concluzii	105
11.	Determinarea potențialului anticonvulsivant și de influențare a activității motorii al principiilor active conținute în <i>Valeriana officinalis</i> radix, <i>Passiflora incarnata</i> L herba, <i>Morus alba</i> cortex și <i>Angelica archangelica</i> radix	107
11.1.	Ipoteza de cercetare	107
11.2.	Studii computaționale	108
11.2.1.	Predicția țintelor moleculare	108
11.2.2.	Docking molecular	109
11.3.	Studii in vivo	111
11.3.1.	Materiale și metode	111

11.3.2. Analiza statistică	113
11.3.3. Rezultate	113
11.3.3.1. Variația activității motorii	113
11.3.3.2. Evaluarea potențialului anticonvulsivant	117
11.3.3.3. Evoluția masei corporale	118
11.4. Discuții	121
11.5. Concluzii	126
12. Concluzii și contribuții personale	128
Bibliografie	
Anexa 1	
Anexa 2	
Anexa 3	
Anexa 4	
Anexa 5	
Anexa 6	

Utilizarea plantelor medicinale a fost practică din cele mai vechi timpuri și din acest punct de vedere, fitoterapia poate fi considerată baza medicinei moderne. Compușii de origine vegetală au reprezentat o sursă importantă pentru descoperirea unor noi medicamente de semisinteză sau de sinteză. Până în secolul al XVIII-lea, se cunoșteau efectele terapeutice ale multor plante medicinale, dar principiile active conținute în acestea erau necunoscute.

Ulterior, dezvoltarea analizelor chimice și apariția microscopului au făcut posibilă identificarea diferitelor principii active de interes terapeutic.

Obiectivul tezei de doctorat a fost acela de a investiga acțiunea a patru extracte vegetale obținute din *Morus alba cortex (MA)*, *Angelica archangelica radix (AA)*, *Passiflora incarnata L herba (PI)* și *Valeriana officinalis radix (VO)* asupra activității Sistemului Nervos Central (SNC).

Ipoteza de cercetare a plecat de la selectarea produselor vegetale, care prin compoziția în principii active și/sau conținutul de acid  $\gamma$ -aminobutiric (GABA), ar putea modula activitatea receptorilor GABA implicați atât în durere, cât și în stările convulsive.

În *capitolul 1* sunt sumarizate date care arată că acest neuromediator inhibitor interacționează cu receptorii săi influențând transducția și modularea durerii (Luhmann, 1991; Furukava, 2023). Receptorii GABA-A mediază transmisia sinaptică rapidă, în timp ce receptorii GABA-B mediază transmisia sinaptică lentă (efectele analgezice ale GABA sunt mediate prin intermediul ambelor categorii de receptori).

Implicarea GABA în transducția semnalului dureros, a fost demonstrată și prin administrarea *in vivo* a unui inhibitor al recaptării GABA denumit NO711. În urma acestei administrări, a crescut concentrația locală de GABA în ganglionii senzoriali, ceea ce a redus intensitatea răspunsurilor dureroase induse de injectarea labei cu bradikinină și capsaicină.

Pe lângă durerea acută, s-au observat efecte analgezice similare pentru GABA și pentru inhibitorul recaptării GABA în durerea neuropatică și inflamatorie (Du, 2017).

Transmisia GABA-ergică centrală a atras atenția datorită distribuției și funcției sale extinse în circuitele neuronale, inclusiv generarea și dezvoltarea durerii neuropate. Se pare că modificările activității inhibitorii GABA-ergice care apar în interneuroni de-a lungul căilor modulatorii descendente și nociceptive din sistemul nervos central, generează plasticitate neuronală (plasticitate sinaptică, sau plasticitatea funcțională a genelor sau proteinelor înrudite), care stă la baza durerii neuropate persistente (Ju, 2024).

În ceea ce privește implicarea GABA în durerea neuropată, s-a arătat că pierderea tonusului inhibitor generat de acest neuromediator poate fi determinată (Senba, 2020) de următoarele mecanisme:

- scăderea numărului de neuroni GABA datorită apoptozei (Dugan, 2020);
- reglarea negativă a sintezei decarboxilazei acidului glutamic (GAD) (epigenetică);
- scăderea eliberării de GABA și/sau disfuncția receptorilor GABA A/B;
- apariția unor co-transportori anormali de cationi-clorură (cotransportorul-2 K<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>: KCC2) în neuronii nociceptivi spinali (Kang, 2013; Kang, 2014).

S-a arătat că leziunea nervilor periferici duce la moartea celulară excitotoxică a interneuronilor GABA din cornul dorsal superficial și contribuie la apariția hiperalgeziei cronice (Kami, 2018).

Mai multe dovezi de farmacologie experimentală și clinică au demonstrat că perturbarea inhibiției mediate de transmisia GABA-ergică duce la inițierea și propagarea crizelor convulsive (Treiman, 2001).

În mai multe studii, pe modele animale de epilepsie determinată genetic sau dobândită, este relevantă demonstrarea reducerii activității neurotransmisiei GABA-ergice prin mai multe mecanisme:

- pierderea interneuronilor inhibitori (duce la scăderea eliberării GABA) însoțită de scăderea redusă a celulelor excitatorii și apariția crizelor convulsive (Liu, 2014);
- creșterea nivelurilor de glutamat în timpul crizelor convulsive, în condițiile în care nivelurile de GABA rămân relativ constante (Sarło, 2021); această modificare a raportului glutamat/GABA are ca rezultat un dezechilibru între excitație și inhibiție și poate contribui la inițierea și propagarea activității convulsive.

*Capitolul 2* prezintă compoziția fitochimică și acțiunile farmacologice pentru extractele vegetale selectate în această teză de doctorat.

Studii publicate în literatură au raportat un conținut ridicat de acid  $\gamma$ -aminobutiric în frunzele de *Morus alba*. Proprietățile antioxidante ale extractului etanolic obținut din fructul de *Morus alba* s-au arătat a fi diferite în funcție de varietate (Bae, 2007). Fructele mature sunt bogate în antociani cu acțiune puternic antioxidantă împotriva radicalilor liberi comparativ cu vitamina C (Wang, 2021). Ținând cont de conținutul fenolic total, acțiunea împotriva radicalilor liberi, puterea de reducere a ionilor ferici și chelatarea ionilor feroși, studiile au arătat că extractul hidroalcoolic obținut din frunzele *Morus alba* are eficacitate antioxidantă mai mare comparativ cu cea a fructelor (Oliviera, 2016).

Pentru extractul total de *Passiflora incarnata* L s-a demonstrat că induce curenți intensi care modulează activitatea receptorilor GABA-A, datorită conținutului ridicat în acid  $\gamma$ -aminobutiric. Se consideră că efectele farmacologice ale *Passiflora incarnata* sunt mediate prin modularea sistemului GABA, principiile active având afinitate pentru receptorii GABA-A și GABA-B (Appel, 2011).

Activitatea antidepresivă a extractului de *Passiflora edulis*, condiționat ca nanoparticule sau ca extract apos a fost demonstrată la șoareci, prin utilizarea testului de înot forțat (Ayres, 2015; Alvez, 2020).

În compoziția chimică a plantei *Angelica archangelica* au fost identificați mai mulți compuși: columbianetină, imperatorină, cnidilină, ostol și columbianedină, care dependent de concentrație au potențat influxul de clor indus de GABA la nivelul receptorilor dependenți de canale ionice (GABA-A și GABA-B). Acțiunea antioxidantă a extractelor apoase și etanolice din rădăcina de *Angelica* a fost testată utilizând testele DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), ABTS (acid 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonic), activitatea de captare a radicalilor hidroxidici și peroxidarea lipidică. Pentru fracțiunile apoase și etanolice s-a arătat că acestea au captat radicalii DPPH și ABTS și au avut acțiune reducătoare puternică inhibând superoxid dismutaza, catalaza și prevenind deteriorarea ADN-ului (Pervin, 2014).

De asemenea, se sugerează că efectele farmacologice ale extractului de *Valeriana officinalis* și ale acidului valerenic sunt mediate prin modularea funcției receptorilor GABA-A și se consideră că aceste principii active pot potența efectele anesteziei și ale altor medicamente care acționează pe acești receptori. Acțiunile sedative, tranchilizante și antihipertensive ale valeranonei au fost studiate din punct de vedere farmacologic în cadrul unor cercetări pe animale, însă activitatea sa a fost mai mică decât cea a medicamentelor standard utilizate (Baby, 2005; Yuan, 2004).

În 2015, Torres-Hernández și colab., au arătat că acidul valerenic și extractul total obținut din *Valeriana officinalis* (apos dau etanolic) au crescut latența convulsiilor induse de pentilentetrazol la peștii zebră adulți într-un mod dependent de concentrație. Printre celelalte terpene volatile

Pentru cele patru extracte s-au determinat acțiunile farmacologice atât asupra convulsiilor induse de electroșoc cât și în durerea somatică și în durerea neuropată indusă de citostatice sau de diabetul aloxanic.

Tema este de actualitate, deoarece durerea neuropată diabetică se manifestă de obicei ca o neuropatie senzoriomotorie simetrică, ce include fenomene senzoriale negative (amorțeală,

reducerea durerii și a percepției temperaturii), cât și pozitive (arsură, furnicături, senzații asemănătoare șocurilor electrice).

De asemenea neuropatia periferică produsă de chimioterapicele antitumorale (Seretny, 2014) afectează sistemului nervos somatosenzorial și reprezintă unul dintre fenomenele întâlnite frecvent în clinică (70% dintre pacienți pot dezvolta neuropatie, chiar din momentul inițierii unui citostatic).

Medicamentele recomandate de ghidurile de tratament în durerea neuropată nu îmbunătățesc prognosticul pe termen lung, acesta fiind consecința lezării progresive a nervilor periferici. Terapiile actuale de primă linie includ agoniștii receptorilor GABA, antidepresivele triciclice și inhibitorii recaptării serotoninei și noradrenalinei.

Ținând cont de faptul că fiecare dintre grupele de substanțe active menționate anterior, prezintă și efecte adverse specifice clasei din care fac parte este nevoie de a găsi noi abordări terapeutice pentru tratamentul acestei patologii.

O problemă clinică deosebită este reprezentată de epilepsie, patologie neurologică ce afectează aproximativ 50 de milioane de oameni din întreaga lume. Deși cercetările în domeniu au condus la progrese remarcabile, există pacienți la care se instalează farmacorezistența (aproximativ 30%). De asemenea, indicele de siguranță redus al medicamentelor antiepileptice și multitudinea reacțiilor adverse ale acestora, le fac greu maniabile pentru mulți dintre pacienți.

Pentru realizarea tezei de doctorat mi-am propus următoarele obiective științifice, dezvoltate în *capitolele 3*:

**Obiectivele generale au fost:**

- Obținerea extractelor vegetale uscate din cele patru produse selectate;
- Determinarea conținutului în polifenoli totali și determinarea acțiunii antioxidante in vitro;
- Stabilirea profilului polifenolic al extractelor de testat prin spectrometrie de masă în tandem (MS-MS);
- Realizarea de studii in silico pentru stabilirea unor corelații între conținutul în fitocompuși și mecanismele de acțiune (altele decât influențarea transmisiei GABA-ergice) implicate în acțiunea analgezică și anticonvulsivantă.
- Determinarea acțiunii analgezice pe un model de durere somatică indusă de stimuli termici și corelarea cu potențialul antioxidant al principiilor active.
- Investigarea efectului antialodinic și antihiperalgic în două modele de durere neuropată: neuropatia indusă de paclitaxel și neuropatia diabetică indusă de aloxan.

- Determinarea potențialului anticonvulsivant pentru extractele obținute din *Morus alba* cortex (MAE), *Angelica archangelica* radix (AAE), *Passiflora incarnata* L herba (PIE) și *Valeriana officinalis* radix (VOE).

Lucrarea are un puternic caracter interdisciplinar, deoarece pentru stabilirea profilului polifenolic al celor patru extracte s-a utilizat spectrometria de masă în tandem (MS-MS), iar pentru determinarea efectelor farmacologice au fost utilizate teste clasice (pentru acțiunea analgezică s-au utilizat teste termice și teste mecanice pe modele animale de neuropatie indusă de paclitaxel sau aloxan, iar pentru determinarea efectului anticonvulsivant, convulsiile au fost induse prin electroșoc). Rezultatele obținute în testele farmacologice au fost corelate cu testele biochimice efectuate și cu studiile computaționale pentru evidențierea posibilelor mecanisme de acțiune (metodele de cercetare sunt *descrise în capitolul 4*).

Având în vedere caracterul complex al compușilor bioactivi din extractele vegetale și implicațiile lor asupra multiplelor căi de semnalizare, a fost necesară integrarea unor metode computaționale moderne, precum predicția țințelor terapeutice și simulările de docking molecular. Aceste abordări permit identificarea potențialelor proteine țintă și evaluarea interacțiunilor moleculare specifice, oferind o punte între datele experimentale in vivo și posibilele mecanisme moleculare implicate în exercitarea efectului farmacologic. În contextul epilepsiei și al neuropatiei diabetice, unde procesele neuronale și inflamatorii sunt dereglate, utilizarea acestor metode a avut ca scop propunerea unor potențiale mecanisme de acțiune pentru fitocompușii decelați în extractele studiate.

Am realizat determinarea conținutului în principii active și a efectului antioxidant in vitro al celor patru extracte vegetale: *Morus alba cortex*, *Angelica archangelica radix*, *Passiflora incarnata herba* și *Valeriana officinalis radix* și am arătat că cel mai mare conținut în polifenoli totali și flavonoide se găsește în extractul de *Morus alba cortex*, care a prezentat și cea mai mare activitate antioxidantă in vitro (Al Hilfi, 2019; Dudonne, 2009).

Am stabilit profilul polifenolic al celor patru extracte vegetale prin utilizarea tehnicii hibride reprezentată de cuplarea cromatografiei de lichide de ultra înaltă performanță (UHPLC) cu spectrometria de masă de înaltă rezoluție (HRMS).

Concentrația compușilor majori a variat substanțial între cele patru extracte, pentru cel obținut din *Morus alba* înregistrându-se cea mai mare complexitate și varietate a conținutului fitochimic: izoramnetină, quercetină, kaempferol, catechină, acid clorogenic, hiperozidă și acid p-cumaric. Extractul obținut din *Passiflora incarnata L* a avut un conținut bogat în flavonoide: quercetină, izoramnetină și acid p-cumaric (Zhang, 2023).

Pentru extractul de *Angelica archangelica* s-au demonstrat niveluri ridicate de acid ferulic, acid clorogenic și acid p-cumaric (1,223 mg/g). Extractul de *Valeriana officinalis* s-a caracterizat prin niveluri mai reduse de acid clorogenic și acid p-cumaric, alături de rutină și acid galic (Kaur, 2021; Lim, 2024).

Acidul clorogenic, prezent în toate produsele vegetale include o familie de membri din care fac parte: acidul 1L-(–)-quinic, acidul ferulic, acidul cafeic acizii cafeoilchinici și acizii feruloilchinici (Rana, 2022; Li, 2020). Implicarea lor în reducerea afecțiunilor inflamatorii acute a fost demonstrată în mai multe cercetări. De asemenea, a fost identificată și acțiunea de modulare a homeostaziei metabolice (Xue, 2023; Bagdas, 2020). Mecanismele propuse pentru proprietățile antiinflamatoare ale acidului clorogenic sunt legate de scăderea activității căilor de semnalizare ale:

- factorului nuclear activat de agentul patogen- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B);
- kinazei c-Jun N-terminale (JNK);
- kinazelor reglate de semnal extracelular (ERK);
- protein kinazei activate de mitogen p38 (MAPK).

În *capitolul 7*, am realizat o analiză pentru datele de toxicitate existente în literatură, care ne-au permis ulterior stabilirea dozelor pe care le-am utilizat pentru testele in vivo.

Cercetările care au corelat acțiunea antioxidantă in vitro și efectul analgezic al celor patru extracte studiate au demonstrat că *Morus alba cortex* a prezentat cel mai mare conținut de flavonoide și polifenoli și cea mai puternică activitate antioxidantă (*capitolul 8*). În schimb, cele mai intense efecte analgezice au fost observate pentru extractele de *Angelica archangelica radix* și *Valeriana officinalis radix* (cel mai intens efect, asemănător paracetamolului, a fost obținut în testul tail flick (Suciu, 2024; Suciu, 2025).

Rezultatele cercetării privind acțiunea extractelor vegetale obținute din *Valeriana officinalis radix* și *Passiflora incarnata herba* în neuropatia indusă prin administrare de paclitaxel au avut un efect semnificativ în reducerea hiperalgeziei tactile și a alodiniei termice induse de citostatic. Efecte antihiperalgice au avut și extractele de *Angelica archangelica radix* și *Morus alba cortex*, dar după o perioadă mai lungă de tratament.

În acest model experimental de neuropatie indusă de un citostatic, extractele obținute din *Valeriana officinalis* și *Passiflora incarnata* au prevenit, dar au și redus semnificativ statistic hiperalgezia tactilă (evaluată în testele mecanice) și alodinia termică (evaluată prin testul acetonei).

Extractele obținute din *Morus alba* și *Angelica archangelica* nu au prevenit instalarea hiperalgeziei induse de paclitaxel, dar au redus semnificativ hiperalgezia evaluată post-inducere

de neuropatie. Mai mult, care a primit tratament cu gabapentin, precum și toate loturile tratate cu extracte vegetale, au înregistrat o creștere a concentrației tiolilor totali în comparație cu lotul martor. Cea mai pronunțată creștere a fost observată în cazul lotului tratat cu *Valeriana officinalis* (76,26%), urmat de cel tratat cu *Passiflora incarnata* (71,21%), rolul antioxidant al acestora fiind prezentat în literatură (Forouzanfar, 2023).

Integrarea predicțiilor de ținte moleculare și a simulărilor de docking molecular în studiile experimentale a permis o mai bună înțelegere a unor posibile mecanisme farmacodinamice implicate în efectele observate. Atât în cazul modelului experimental de epilepsie, cât și de neuropatie diabetică, metodele computaționale au evidențiat un potențial rol central al receptorilor 5-HT<sub>3A</sub> și GABA-A și al protein kinazei AAK1 în efectele neuroprotectoare și antihiperalgice ale compușilor investigați. Astfel, aceste abordări in silico susțin potențialul translational al extractelor vegetale, oferind o bază solidă pentru dezvoltarea de noi terapii adjuvante (capitolele 10 și 11).

Am indus neuropatie diabetică la șobolan prin administrarea unei singure doze de aloxan (130 mg/kg), administrat intraperitoneal. Hiperglicemia rezultată, cauzată de toxicitatea selectivă a celulelor  $\beta$ , a dus la creșterea stresului oxidativ, un factor cheie în dezvoltarea hipersensibilității la durere. Ca urmare a acestui fapt șobolanii diabetici netratați au prezentat răspunsuri semnificativ crescute la stimulii termici și mecanici pe parcursul a 15 zile, confirmând debutul hiperalgeziei. Până în ziua a 15-a, niciunul dintre tratamente nu a restabilit normoglicemia, deși toate cele patru extracte au scăzut semnificativ nivelurile de glucoză din sânge în comparație cu grupul diabetic. Extractul de *Morus alba* a avut cel mai substanțial efect antihiperglicemic (-45,7%).

În testele pentru evaluarea durerii, toate extractele obținute din plantele studiate și substanța de referință, gabapentina (Mehta 2017; Ola, 2019) au redus semnificativ sensibilitatea la durere în testele plăcii fierbinți, imersia cozii în apă rece, von Frey și Randall-Selitto.

Extractul obținut din *Valeriana officinalis radix* a prezentat cel mai pronunțat efect, urmat de extractul *Morus alba cortex* obținut din în testele de hipersensibilitate termică și extractul obținut din *Angelica archangelica radix* în testele de hipersensibilitate mecanică.

În modelele termice de durere extractele de *Morus alba* și *Valeriana officinalis* au avut performanțe comparabile cu gabapentina.

Activitatea antihiperalgică și de reducere marcată a TNF $\alpha$  a extractului de *Morus alba cortex* în durerea neuropatică diabetică poate fi pus pe seama conținutului ridicat de flavonoide bioactive, caracterizate anterior în analiza fitochimică, dar și pe seama faptului că reduce stresul oxidativ prin ameliorarea statusului glicemic (Suciu, 2025b).

Analiza biochimică susține potențialul antiinflamator al extractelor testate. În acest studiu, administrarea aloxanului a crescut semnificativ nivelurile de TNF- $\alpha$  și IL-6 în țesuturile cerebrale și hepatice. Tratamentul cu extractele luate în lucru și în mod special extractele obținute din *Angelica archangelica radix* și *Morus alba cortex*, au dus la reduceri substanțiale ale ambelor citokine (extractul de *Angelica* a produs cea mai semnificativă reducere a TNF- $\alpha$  cerebral, -64,25%, iar extractul de *Morus* a redus nivelul acestei citokine la nivel hepatic, -71,4%. Reduceri similare pentru cele două extracte s-au produs și pentru IL6.

Studiile in silico sugerează că principiile active identificate în extracte au efecte antihiperglice pot interacționa cu ținte multiple, AAK1, fiind una dintre acestea (Baier, 2020; Alhadrami, 2024).

În cadrul evaluării acțiunii anticonvulsivante, s-a demonstrat că extractul de *Morus alba cortex* are un efect anticonvulsivant semnificativ (probabil, datorat conținutului ridicat în flavonoide și de interacțiunile acestora cu receptorii GABA-A și 5-HT3A). Extractele de *Angelica archangelica radix* și *Passiflora incarnata herba* au prezentat efecte moderate, ne semnificative, în timp ce *Valeriana officinalis radix* a prezentat proprietăți antioxidante și antiinflamatorii remarcabile, dar o protecție limitată împotriva convulsiilor (Manavi, 2024; Mulyawan, 2020).

În testul convulsiilor induse prin electroșoc (Suciu, 2025a), dintre extractele testate, cel de *Morus alba* a avut efectul anticonvulsivant cel mai intens (a redus durata convulsiilor: -92,86% și incidența acestora la 50%). Efectul ar putea fi atribuit conținutului mare de flavone (în special: quercetină, kaempferol și izoramnetină).

Rezultatele obținute se corelează cu reducerea nivelurilor de TNF- $\alpha$  la nivel cerebral și cu o creștere a concentrației de tioli totali, în special pentru loturile tratate cu extracte vegetale de *Morus alba*, *Passiflora incarnata* și *Valeriana officinalis* (Rana, 2022; Li, 2020).

Principalele limitări ale studiilor farmacologice sunt legate de: utilizarea unor modele animale care nu reflectă cu exactitate patologia întâlnită la om, evaluarea prin utilizarea unor doze fixe care nu permit obținerea unor relații doză-efect și durata relativ redusă a tratamentelor administrate.

### ***Contribuții personale***

Am demonstrat că extractul de *Morus alba cortex* prezintă cea mai intensă activitate antioxidantă in vitro, exprimată prin cea mai redusă valoare a IC<sub>50</sub>: 0,0695 mg/mL.

De asemenea, am evidențiat faptul că extractul obținut din *Morus alba* a avut cel mai mare conținut de polifenoli totali, acizi polifenolici și flavonoide, ceea ce se corelează cu activitatea antioxidantă intensă.

Am demonstrat, utilizând tehnica hibridă UHPLC-HRMS/MS că în toate extractele testate este prezent acidul clorogenic, care a contribuit la reducerea concentrației citokinelor proinflamatorii: IL6 și TNF $\alpha$  în modelul animal neuropatie indusă de diabetul aloxanic și în și convulsiile induse de electroșoc la șoarece (ambele modele fiind caracterizate prin creșterea stresului oxidative).

O contribuție majoră a fost realizarea studiilor de predicție a țintelor terapeutice și docking molecular pentru compușii identificați prin UHPLC-HRMS/MS, în vederea corelării cu rezultatele farmacologice obținute in vivo.

În modelul de neuropatie diabetică, analiza computațională a relevat AAK1 drept o țintă promițătoare pentru modularea hiperalgeziei, cu mai mulți compuși din extracte prezentând afinități similare cu un inhibitor cunoscut al acestei kinaze. Aceste rezultate au contribuit la înțelegerea potențialelor mecanisme moleculare prin care extractele vegetale pot exercita efecte neuroprotectoare și antihiperalgice.

În cadrul studiilor vizând acțiunea antiepileptică, am prezis interacțiuni promițătoare între flavonoizi și receptorul 5-HT<sub>3A</sub>, atât murin, cât și uman, susținând efectul anticonvulsivant observat pentru extractul de *Morus alba*.

În cadrul evaluării efectului analgezic la șoarece am demonstrat că deși flavonele și polifenolii reduc stresul oxidativ, acțiunea analgezică este dependentă de mecanismele intrinseci de acțiune ale diverselor substanțe active și de interacțiunea lor cu anumite subtipuri de receptori.

Am evidențiat efectul antihiperalgic și antialodinic intens pentru extractele obținute din *Valeriana officinalis* și *Passiflora incarnata*, în durerea neuropată indusă de citostatice (modelul experimental cu paclitaxel). Acțiunea analgezică intensă a acestor două extracte este corelată cu creșterea marcată (peste 70%) a concentrației tiolilor totali în omogenatele cerebrale.

Am demonstrat acțiunea antihiperalgică a extractelor obținute din *Morus alba cortex*, *Angelica archangelica radix*, *Valeriana officinalis radix* și *Passiflora incarnata herba*, utilizând un model experimental de diabet aloxanic.

Studiul a evidențiat un efect antihiperalgic intens pentru extractul obținut din *Morus alba* cortex, corelat cu conținutul ridicat în flavone, dar și cu ameliorarea statusului glicemic.

Acțiunea antihiperalgică a acestui extract ar putea fi atribuită quercetinei care activează calea AMPK/PGC-1 $\alpha$  și îmbunătățește funcțiile mitocondriale, crește viteza de conducere nervoasă și păstrează integritatea tecii de mielină la șobolani. Rezultatele farmacologice experimentale se corelează cu determinările biochimice, care au arătat că extractul de *Morus alba* a redus marcat nivelurile de IL6, iar cel de *Angelica archangelica* a scăzut cel mai intens nivelurile de TNF- $\alpha$ .

În modelul experimental de convulsii induse de electroșoc, am demonstrat că extractul de *Morus alba* (100 mg/kg) are efecte anticonvulsivante semnificative, reducând atât durata, cât și incidența convulsiilor, probabil mediate de interacțiunile flavonoidelor cu receptorii GABA-A și 5-HT3A, așa cum sugerează analizele de predicție a țintelor și de andocare moleculară.

Extractele de *Angelica archangelica* (100 mg/kg) și *Passiflora incarnata* (50 mg/kg) au prezentat activități anticonvulsivante moderate, ne semnificative. În același timp, *Valeriana officinalis* (50 mg/kg) a demonstrat proprietăți antioxidante și antiinflamatorii considerabile, dar o protecție limitată împotriva convulsiilor.

Toate extractele au redus semnificativ markerii inflamației cerebrale (TNF- $\alpha$ ) și au crescut capacitatea antioxidantă, exprimată prin creșterea tiolilor totali. Andocarea moleculară a susținut în continuare interacțiunea principiilor active cheie, inclusiv naringenina și acidul clorogenic, cu receptorii 5-HT3A umani și de șoarece.

În ansamblu, extractul de *Morus alba* a prezentat un potențial terapeutic promițător pentru gestionarea epilepsiei, justificând investigații suplimentare asupra modelelor de convulsii cronice și strategii de dozare optimizate.

Cercetarea aduce perspective terapeutice actuale pentru dezvoltarea unor noi produse farmaceutice cu potențial antihiperalgic în durerea neuropată și cu activitate anticonvulsivantă.

## Bibliografie selectivă

1. Al Hilfi ZA, Nencu IO, Costea T, Gird CE, Stoicescu CS, Anghel AI, Negres SJ. Chemical composition and antioxidant activity of *Ficus elastica* Roxb. ex Hornem and *Raphanus sativus* L. selective dry extracts with potential antidiabetic activity. *Farmacia*. 2019;67(5): 764-771.
2. Alhadrami HA, Sayed AM, Hassan HM, Alhadrami AH, Rateb ME. Molecular insights and inhibitory dynamics of flavonoids in targeting Pim-1 kinase for cancer therapy. *Front Pharmacol*. 2024 Oct 7;15:1440958. doi: 10.3389/fphar.2024.1440958.
3. Alves JSF, Silva AMDS, da Silva RM, Tiago PRF, de Carvalho TG, de Araújo Júnior RF, de Azevedo EP, Lopes NP, Ferreira LS, Gavioli EC. In Vivo Antidepressant Effect of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* into Cationic Nanoparticles: Improving Bioactivity and Safety. *Pharmaceutics* 2020;12:383. doi: 10.3390/pharmaceutics12040383.
4. Appel K, Rose T, Fiebich B, Kammler T, Hoffmann C, Weiss G. Modulation of the  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) system by *Passiflora incarnata* L. *Phytother. Res*. 2011;25:838–843. doi: 10.1002/ptr.3352.
5. Ayres ASFSJ, De Araújo LLS, Soares TC, Costa GM, Reginatto FH, Ramos FA, Castellanos L, Schenkel EP, Soares-Rachetti VP, Zucolotto SM. Comparative central effects of the aqueous leaf extract of two populations of *Passiflora edulis*. *Braz. J. Pharm*. 2015;25:499–505. doi: 10.1016/j.bjp.2015.06.007.
6. Baby R, Cabezas M, Castro E, Filip R, De Reça NEW. Quality control of medicinal plants with an electronic nose. *Sensors Actuators, B Chem*. 2005;106(1 SPEC. ISS.):24-28. doi:10.1016/J.SNB.2004.05.049.
7. Bae SH, Suh HJ. Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea [J]. *LWT Food Sci Technol*, 2007; 40(6):955-962.
8. Bagdas D, Gul Z, Meade JA, Cam B, Cinkilic N, Gurun MS. Pharmacologic Overview of Chlorogenic Acid and its Metabolites in Chronic Pain and Inflammation. *Curr. Neuropharmacol*. 2020;18:216–228. doi: 10.2174/1570159X17666191021111809.
9. Baier A, Szyszka R. Compounds from Natural Sources as Protein Kinase Inhibitors. *Biomolecules*. 2020 Nov 12;10(11):1546. doi: 10.3390/biom10111546.
10. Du J, He ZD, Jiang RW, Ye WC, Xu HX, But pp. Antiviral flavonoids from the root bark of *Morus alba* L. *Phytochemistry*. 2003;62(8):1235–1238. doi: 10.1016/S0031-9422(02)00753-7.
11. Du J, He ZD, Jiang RW, Ye WC, Xu HX, But pp. Antiviral flavonoids from the root bark of *Morus alba* L. *Phytochemistry*. 2003;62(8):1235–1238. doi: 10.1016/S0031-9422(02)00753-7.
12. Dudonné S, Vitrac X, Coutière P, Woillez M, Mérillon J-M. Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *J. Agric. Food Chem*. 2009;57:1768–1774, doi:10.1021/jf803011r.
13. Dugan EA, Jergova S, Sagen J. Mutually beneficial effects of intensive exercise and GABAergic neural progenitor cell transplants in reducing neuropathic pain and spinal pathology in rats with spinal cord injury. *Exp Neurol* 2020;327:113208. doi: 10.1016/j.expneurol.2020.113208.
14. Forouzanfar F, Tanha NK, Pourbagher-Shahri AM, Mahdianpour S, Esmaeili M Ghazavi H. Synergistic Effect of Ellagic Acid and Gabapentin in a Rat Model of Neuropathic Pain. *Metab. Brain Dis*. 2023;38:1421–1432, doi:10.1007/s11011-023-01190-x

15. Furukawa T, Fukuda A. Maternal taurine as a modulator of Cl(-) homeostasis as well as of glycine/GABA(A) receptors for neocortical development. *Front Cell Neurosci.* 2023 Aug 3;17:1221441. doi: 10.3389/fncel.2023.1221441.
16. Ju YH, Cho J, Park JY, Kim H, Hong EB, Park KD, Lee CJ, Chung E, Kim HI, Nam MH. Tonic excitation by astrocytic GABA causes neuropathic pain by augmenting neuronal activity and glucose metabolism. *Exp Mol Med.* 2024 May;56(5):1193-1205. doi: 10.1038/s12276-024-01232-z.
17. Kami K, Tajima F, Senba E. Activation of mesolimbic reward system via laterodorsal tegmental nucleus and hypothalamus in exercise-induced hypoalgesia. *Sci Rep* 2018;8:11540. doi: 10.1038/s41598-018-29915-4.
18. Kang S, Kadam S. Pre-clinical models of acquired neonatal seizures: differential effects of injury on function of chloride cotransporters. *Austin J Cerebrovasc Dis Stroke.* 2014;1(6):1026.
19. Kang TY, Yang HR, Zhang J, Li D, Lin J, Wang L, Xu X. The studies of chlorogenic Acid antitumor mechanism by gene chip detection: The immune pathway gene expression. *J. Anal. Methods Chem.* 2013;2013:617243. doi: 10.1155/2013/617243.
20. Kaur A, Bhatti R. Understanding the phytochemistry and molecular insights to the pharmacology of *Angelica archangelica* L. (*Garden angelica*) and its bioactive components. *Phytother. Res.* 2021;35: 5961–5979. doi: 10.1002/ptr.7206.
21. Li L, Su C, Chen X, Wang Q, Jiao W, Luo H, Tang J, Wang W, Li S, Guo S. Chlorogenic Acids in Cardiovascular Disease: A Review of Dietary Consumption, Pharmacology, and Pharmacokinetics. *J. Agric. Food Chem.* 2020;68:6464–6484. doi: 10.1021/acs.jafc.0c01554
22. Liu YQ, Yu F, Liu WH, He XH, Peng BW. Dysfunction of hippocampal interneurons in epilepsy. *Neurosci Bull.* 2014 Dec;30(6):985-998. doi: 10.1007/s12264-014-1478-4.
23. Luhmann HJ, Prince DA. Postnatal maturation of the GABAergic system in rat neocortex. *J. Neurophysiol.* 1991 Feb;65(2):247-63. doi: 10.1152/jn.1991.65.2.247.
24. Manavi MA. Exploring Valeriana Species: Unraveling Anticonvulsant Potential through Phytochemistry and Pharmacology. *Future Nat. Prod.* 2024; 9: 100–110.
25. Mehta BK, Nerkar D, Banerjee S. Characterization of Peripheral Neuropathy in Rat Model of Type 2 Diabetes. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research* 2017 Jan-Mar; 51(1).
26. Ola MS, Alhomida AS, LaNoue KF. Gabapentin Attenuates Oxidative Stress and Apoptosis in the Diabetic Rat Retina. *Neurotox Res.* 2019 Jul;36(1):81-90. doi: 10.1007/s12640-019-00018-w.
27. Oliveira A M, Mesquita MS, Silva G, Lima EO, Medeiros PL, Paiva PMG, Souza, IA, Napoleão TH. 2015. Evaluation of toxicity and antimicrobial activity of an ethanolic extract from leaves of *Morus alba* L. (Moraceae). *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015;2015:513978. doi: 10.1155/2015/513978.
28. Pervin M, Hasnat MA, Debnath T, Park SR, Kim DH, Lim BO. Antioxidant, Anti-Inflammatory and antiproliferative activity of *Angelica dahurica* root extracts. *J. Food Biochem.* 2014;38:281–292. doi: 10.1111/jfbc.12046.
29. Rana A, Samtiya M, Dhewa T, Mishra V, Aluko RE. Health benefits of polyphenols: A concise review *J Food Biochem.* 2022 Oct;46(10):e14264. doi: 10.1111/jfbc.14264.
30. Sarlo GL, Holton KF. Brain concentrations of glutamate and GABA in human epilepsy: a review. *Seizure.* 2021 Oct;91:213-227. doi: 10.1016/j.seizure.2021.06.028.
31. Senba E, Kami K. Potentiation of spinal GABA inhibition as a therapeutic target for chronic neuropathic pain: from transplantation to physical exercise. *Ann Palliat Med* 2020;9(5):2430-2436. doi: 10.21037/apm-20-1010

32. Seretny M, Currie GL, Sena ES, Ramnarine S, Grant R, MacLeod M, Colvin LA, Fallon M. Incidence, Prevalence, and Predictors of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Pain* 2014; 155: 2461–2470. doi:10.1016/j.pain.2014.09.020.
33. **Suciu F**, Mihai DP, Ungurianu A, Andrei C, Pușcașu C, Chițescu CL, Ancuceanu RV, Gird CE, Stefanescu E, Blebea NM, Popovici V, Rosca AC, Ghiță IV, Negreș S. Investigation of Anticonvulsant Potential of *Morus alba*, *Angelica archangelica*, *Valeriana officinalis*, and *Passiflora incarnata* Extracts: In Vivo and In Silico Studies. *Int. J. Mol. Sci.* 2025a, 26(13), 6426. doi.org/10.3390/ijms26136426.
34. **Suciu F**, Șeremet OC, Roșca AC, Blebea NM, Negreș Simona. Evaluation of Analgesic Effect of Active Principles Extracted from *Morus Alba* Cortex and *Angelicae Radix*. *Pandectele Romane* 2024, 6: 240-250.
35. **Suciu F**, Șeremet OC, Ștefănescu E, Pușcașu C, Ghiță CIV, Gîrd CE, Ancuceanu RV, Negreș S. Natural Alternatives for Pain Relief: A Study on *Morus alba*, *Angelica archangelica*, *Valeriana officinalis*, and *Passiflora incarnata*. *J. Mind Med. Sci.* 2025b, 12(2), 39; <https://doi.org/10.3390/jmms12020039>. <https://www.mdpi.com/2392-7674/12/2/39>
36. **Suciu F**, Șeremet OC, Ștefănescu E, Pușcașu C, Ghiță CIV, Gîrd CE, Ancuceanu RV, Negreș S. Natural Alternatives for Pain Relief: A Study on *Morus alba*, *Angelica archangelica*, *Valeriana officinalis*, and *Passiflora incarnata*. *J. Mind Med. Sci.* 2025, 12(2), 39. doi.org/10.3390/jmms12020039.
37. Torres-Hernández B, Del Valle-Mojica LM, Ortíz J. Valerenic acid and *Valeriana officinalis* extracts delay onset of Pentylentetrazole (PTZ)-Induced seizures in adult *Danio rerio* (Zebrafish). *BMC Complement Altern Med.* 2015 Jul 14;15:228. doi: 10.1186/s12906-015-0731-3004;98(2):353-358. doi:10.1213/01.ANE.0000096189.70405.A5
38. Wang C, Meng Q. Global Research Trends of Herbal Medicine for Pain in Three Decades (1990–2019). A Bibliometric Analysis. *J. Pain Res.* 2021;14:1611–1626, doi:10.2147/JPR.S311311.
39. Xue H, Wei M, Ji L. Chlorogenic acids: A pharmacological systematic review on their hepatoprotective effects. *Phytomedicine.* 2023;118:154961. doi: 10.1016/j.phymed.2023.154961.
40. Yuan CS, Mehendale S, Xiao Y, Aung HH, Xie JT, Ang-Lee MK. The gamma-aminobutyric acidergic effects of valerian and valerenic acid on rat brainstem neuronal activity. *Anesth Analg.* 2 308.
41. Zhang J, Tao S, Hou G, Zhao F, Meng Q, Tan S. Phytochemistry, nutritional composition, health benefits and future prospects of *Passiflora*: A review *Food Chemistry* 2023; 428: 136825. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136825>