

**UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU” DIN REPUBLICA MOLDOVA**

Cu titlu de manuscris

C.Z.U.: [615.322.07:582.682.4+615.24](043.2)

PEREDEL CU RODICA

**PROPRIETĂȚILE FARMACOLOGICE ȘI
TOXICOLOGICE ALE COPTIZINEI**

314.01 - FARMACOLOGIE, FARMACOLOGIE CLINICĂ

Teză de doctor în științe medicale

Conducător științific:

Gonciar Veaceslav, dr. hab. șt. med., prof. univ. _____

Autorul **Peredelcu Rodica** _____

CHIȘINĂU, 2021

© Peredelcu Rodica, 2021

CUPRINS

ADNOTARE	5
LISTA TABELELOR	8
LISTA FIGURILOR.....	10
LISTA ABREVIERILOR.....	12
INTRODUCERE	14
1. PROPRIETĂȚILE FARMACOLOGICE SPECIFICE ALE UNOR PRINCIPII ACTIVE DIN <i>CHELIDONIUM MAJUS L.</i>	21
1.1. Studiile farmacotoxicității compușilor isochinolinici	22
1.2. Proprietățile farmacocinetice ale derivaților izochinolinici.....	23
1.3. Proprietățile farmacodinamice ale derivaților izochinolinici	27
1.4. Sinteza capitolului 1	43
2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE	45
2.1. Metoda de obținere a coptizinei bisulfat.....	45
2.2. Animalele de laborator	47
2.3. Determinarea toxicității coptizinei bisulfat	48
2.3.1. Studiul toxicității acute.....	49
2.3.2. Studiul toxicității cronice.....	51
2.4. Metodele de studiu a biodisponibilității coptizinei bisulfat	52
2.4.1. Metoda determinării concentrațiilor plasmatice și hepatice ale coptizinei bisulfat la șobolani.....	53
2.4.2. Metoda determinării concentrațiilor hepatice, biliare și intestinale ale coptizinei bisulfat la șoareci.....	53
2.5. Metoda de modelare a hepatitei toxice acute și aprecierea acțiunii hepatoprotectoare a coptizinei bisulfat	53
2.5.1. Studiul comparativ al influenței coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat asupra evoluției hepatitei toxice acute modelate experimental.....	54
2.5.2. Metoda de modelare a hepatitei toxice acute și aprecierea influenței ei bisulfat asupra evoluției ei	55
2.6. Metodele cercetării parametrilor hematologici și biochimici.....	57
2.6.1. Metodele de determinare a parametrilor hematologici.....	57
2.6.2. Metodele de determinare a parametrilor biochimici.....	57
2.7. Determinarea proprietăților gastroprotectoare și regenerative ale coptizinei bisulfat.....	62
2.8. Evaluarea statistică a rezultatelor	63

2.9. Sinteza capitolului 2	63
3. ASPECTELE TOXICITĂȚII COPTIZINEI BISULFAT	65
3.1. Rezultatele toxicității acute ale coptizinei bisulfat	65
3.1.1. Toxicitatea acută a coptizinei bisulfat după administrarea intraperitoneală la șoareci	65
3.1.2. Toxicitatea acută a coptizinei bisulfat după administrarea perorală la șoareci	66
3.1.3. Toxicitatea acută a coptizinei bisulfat după administrarea perorală la șobolani	67
3.2. Rezultatele toxicității cronice ale coptizinei bisulfat	69
3.3. Biodisponibilitatea coptizinei bisulfat după administrarea intragastrală și intraperitoneală	72
3.3.1. Rezultatele distribuției coptizinei bisulfat după administrarea intragastrală și intraperitoneală la șobolani	72
3.3.2. Rezultatele distribuției coptizinei bisulfat după administrarea intragastrală la șoareci.....	72
3.4. Sinteza capitolului 3	73
4. PARTICULARITĂȚILE ACȚIUNII HEPATOPROTECTOARE ȘI GASTROPROTECTOARE A COPTIZINEI BISULFAT	74
4.1. Aprecierea acțiunii hepatoprotectoare comparative a coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice acute modelate experimental	74
4.2. Influența coptizinei bisulfat asupra evoluției HTA modelate experimental.....	87
4.3. Activitatea regenerativă și gastroprotectoare a coptizinei bisulfat.....	98
4.4. Sinteza capitolului 4	100
5. SINTEZA REZULTATELOR OBTINUTE	101
CONCLUZII GENERALE.....	119
RECOMANDĂRI PRACTICE.....	120
BIBLIOGRAFIE	121
ANEXE	137

ADNOTARE

Peredelcu Rodica „Proprietățile farmacologice și toxicologice ale coptizinei”, teză de doctor în științe medicale, Chișinău, 2021

Structura tezei: introducere, 5 capitole cu sinteza rezultatelor obținute, concluzii generale și recomandări practice, bibliografie din 175 de titluri, 18 anexe, 120 de pagini de text de bază, 19 figuri, 30 tabele. Rezultatele obținute sunt publicate în 11 lucrări științifice.

Cuvinte-cheie: coptizina bisulfat, *Chelidonium majus*, alcaloizii izochinolinici, toxicitatea acută, toxicitatea cronică, acțiunea gastroprotectoare, acțiunea hepatoprotectoare, indicii biochimici, afecțiunile hepato-biliare, tetracolorura de carbon.

Scopul studiului: cercetarea inocuității, evaluarea efectelor hepatoprotectoare și gastroprotectoare ale coptizinei bisulfat, elucidarea posibilităților de utilizare a ei în afecțiunile hepato-biliare.

Obiectivele tezei: Studiul inocuității coptizinei bisulfat cu stabilirea limitelor de securitate a ei; determinarea acțiunii hepatoprotectoare cu evaluarea indicilor hepatici, hematologici și biochimici la administrarea ei în diferite doze; aprecierea comparativă a evoluției hepatitei toxice acute la administrarea coptizinei bisulfat și a substanței de referință berberina bisulfat în diferite doze; elucidarea aspectelor regenerative și gastroprotectoare a ei, în dependență de doze, în terapia ulcerelor gastrice experimentale, elucidarea aspectelor de aplicare clinică a ei în tratamentul pacienților cu afecțiuni hepato-biliare.

Noutatea și originalitatea științifică: Efectuarea în premieră a studiilor preclinice ale coptizinei bisulfat, cu stabilirea toxicității ei; evidențierea metodelor de studiu a biodisponibilității; efectuarea studiului comparativ al coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat și constatarea influenței benefice a ei asupra HTA experimentale cu elucidarea acțiunii hepatoprotectoare avantajoase în corelație cu doza, durata administrării și substanța de referință; demonstrarea accelerării dozodependente a regenerării ulcerelor gastrice sub acțiunea coptizinei bisulfat.

Problema științifică importantă soluționată: s-au demonstrat proprietățile farmacologice și toxicologice ale coptizinei bisulfat, fapt care va contribui la lărgirea arsenalului de medicamente cu efecte hepatoprotectoare și citoprotectoare; de asemenea va permite extinderea cunoștințelor și posibilităților în domeniul tratamentului afecțiunilor hepatice și căilor biliare și va elucidă unele aspecte ale terapiei regenerative în afecțiunile tractului gartrointestinal.

Semnificația teoretică: în premieră a fost efectuată o cercetare complexă a unei noi substanțe medicamentoase autohtone, coptizina bisulfat, care a servit drept suport fundamental în explicarea proprietăților specifice și va permite elaborarea dosarului cercetărilor preclinice pentru petrecerea studiilor clinice ulterioare.

Valoarea aplicativă a lucrării: lărgirea arsenalului de preparate autohtone, utilizate în tratamentul afecțiunilor hepatice și căilor biliare, ulcerului gastric și elaborarea monografiei pentru formele farmaceutice ulterioare.

Implementarea rezultatelor științifice: rezultatele studiului au fost implementate în procesul didactic la Catedrele: farmacologie și farmacologie clinică, farmacologie și farmacie clinică, tehnologie a medicamentelor și procesul științific în Laboratorul de evaluare preclinică și clinică a medicamentului.

АННОТАЦИЯ

Переделку Родика «Фармакологические и токсикологические свойства коптизина», диссертация на соискание учёной степени кандидата медицинских наук, Кишинёв, 2021

Структура диссертации: введение, 5 глав с обобщением полученных результатов, общие выводы и практические рекомендации, библиография (175 наименований), 18 приложений, 120 страниц основного текста, 19 рисунков, 30 таблиц. Полученные результаты были опубликованы в 11 научных работах.

Ключевые слова: коптизин бисульфат (КБ), *Chelidonium majus*, изохинолиновые алкалоиды, острая токсичность, хроническая токсичность, гастропротекторное действие, гепатопротекторное действие, биохимические показатели, гепато-билиарные нарушения, четыреххлористый углерод.

Цель работы: исследование токсичности, оценка гастропротекторного и гепатопротекторного действий КБ и выяснение возможностей его применения при гепато-билиарных расстройствах.

Задачи исследования: изучение: безвредности КБ с установлением границ безопасности; гепатопротекторного действия с оценкой печёночных, гематологических и биохимических показателей в различных дозах; сравнительной оценки эволюции острого токсического гепатита при введении в различных дозах КБ и контрольного вещества ББ; его дозозависимых регенеративных и гастропротекторных свойств в лечении экспериментальной язвенной болезни желудка; аспектов клинического применения при гепато-билиарных нарушениях.

Научная новизна и оригинальность: впервые были: проведены доклинические исследования КБ с определением безвредности; определены методы его биодоступности; осуществлено сравнительное изучение КБ и ББ и подтверждено наиболее выраженное его действие в зависимости от дозы, длительности применения и контрольного вещества; установлено дозозависимое усиление регенерации желудочных язв под действием КБ.

Решённая научная проблема: были продемонстрированы фармакологические и токсикологические свойства КБ, способствующие расширению арсенала лекарств с гепатопротекторным и цитопротекторным действиями; что позволит расширить знания и возможности в лечении заболеваний печени и желчевыводящих путей и уточнит некоторые аспекты регенеративной терапии при поражении пищеварительного тракта.

Теоретическая значимость: впервые было проведено комплексное исследование нового отечественного лекарственного вещества, КБ, что послужило фундаментальной основой для объяснения специфических свойств, позволяющих разработать протокол доклинических исследований для проведения последующих клинических исследований.

Практическое применение результатов: расширение арсенала отечественных препаратов, применяемых при лечении заболеваний печени и желчевыводящих путей, язвы желудка и создание монографии для последующих лекарственных форм.

Внедрение научных результатов: результаты исследования были внедрены в учебный процесс на Кафедрах: фармакологии и клинической фармакологии, фармакологии и клинической фармации, технологии лекарств и в научный процесс в Лаборатории доклинического и клинического исследования лекарственного препарата.

ABSTRACT

**Peredelcu Rodica „The pharmacological and toxicological properties of coptizine”,
doctoral thesis in medical sciences, Chisinau, 2021**

Thesis structure: introduction, 5 chapters with the synthesis of the obtained results, general conclusions and practical recommendations, list of references of 175 titles, 18 appendices, 120 pages of basic text, 19 figures, 30 tables. The obtained results are published in 11 scientific papers.

Key words: coptizine bisulfate (CB), *Chelidonium majus*, isoquinoline alkaloids, acute toxicity, chronic toxicity, gastroprotective effect, hepatoprotective effect, biochemical parameters, hepatobiliary disorders, carbon tetrachloride.

Aim: innocuity research, evaluation of the hepatoprotective and gastroprotective effects of coptizine bisulfate, elucidation of the possibilities of its use for hepato-biliary diseases.

Thesis objectives: Study of the innocuity of the CB to determine its safety limits; determination of the hepatoprotective action with the evaluation of the hepatic, hematological and biochemical indices at its administration in different doses; comparative assessment of the evolution of acute toxic hepatitis when administrated coptizine bisulphate and the reference substance berberine bisulphate in different doses; elucidation of its regenerative and gastroprotective aspects, depending on doses, in the therapy of experimental gastric ulcers, elucidation of aspects of its clinical application for the treatment of patients with hepato-biliary diseases.

Scientific novelty and originality: performing for the first time preclinical studies of coptizine bisulphate, establishing its innocuity; highlighting bioavailability study methods; performing the comparative study of coptizine bisulfate and berberine bisulfate and finding its beneficial influence on experimental acute toxic hepatitis with elucidation of the beneficial hepatoprotective action in correlation with dose, duration of administration and reference substance; demonstration of dose-dependent acceleration of regeneration of gastric ulcer under the action of coptizine bisulfate.

Solved scientific problem: The pharmacological and toxicological properties of CB have been investigated, that permits to expand and successfully find application in the hepatoprotective and cytoprotective drugs; it also allows to expand the knowledge and possibilities in the field of treatment of the liver and biliary tract disorders and it makes it possible to investigate some aspects of the regenerative therapy in the gastrointestinal tract disorders.

Theoretical significance: The complex research of a new indigenous drug substance – CB was performed for the first time. It has been served as a fundamental support in order to explain the specific properties that will allow the elaboration of the preclinical research dossier for the evaluation of the subsequent clinical studies.

Applicative value: The expanding of the arsenal of the indigenous drugs, used in the treatment of the liver and biliary tract disorders, gastric and duodenal ulcers and the elaboration of the monograph for the subsequent pharmaceutical forms.

Implementation of scientific results: The results of the study were implemented in the teaching process at the Departments of: pharmacology and clinical pharmacology, pharmacology and clinical pharmacy, drug technology and in the scientific process at the Laboratory of preclinical and clinical evaluation of the drug.

LISTA TABELELOR

Tabelul 2.1. Aprecierea gradului de toxicitate	49
Tabelul 2.2. Raportul administrării substanțelor cercetate la animalele de laborator în funcție de durata preconizată de utilizare la om	51
Tabelul 2.3. Repartizarea loturilor de experiență și dozelor administrate de coptizina bisulfat și berberina bisulfat.....	54
Tabelul 2.4. Repartizarea loturilor de experiență și dozelor administrate de coptizina bisulfat	56
Tabelul 3.1. Valorile toxicității acute a coptizinei bisulfat, administrată intraperitoneal șoarecilor	65
Tabelul 3.2. Valorile toxicității acute a coptizinei bisulfat, administrată intragastral șoarecilor	66
Tabelul 3.3. Valorile toxicității acute a coptizinei bisulfat, administrată pe cale enterală șobolanilor	67
Tabelul 3.4. Parametrii tabloului sângelui periferic la administrarea unimomentană a coptizinei bisulfat în doza de 2600 mg/kg	68
Tabelul 3.5. Modificarea parametrilor biochimici la administrarea unimomentană a coptizinei bisulfat în doza de 2600 mg/kg	68
Tabelul 3.6. Modificarea parametrilor biochimici după administrarea coptizinei bisulfat timp de 30 zile	69
Tabelul 3.7. Modificarea parametrilor hepatici la administrarea timp de 30 zile a coptizinei bisulfat în doze de 2,5; 5; 10 și 25 mg/kg	70
Tabelul 3.8. Modificarea parametrilor hepatici la administrarea timp de 30 zile a coptizinei bisulfat în doza de 250 mg/kg	71
Tabelul 3.9. Cantitatea coptizinei bisulfat în sânge și ficat după administrarea intraperitoneală la șobolani	72
Tabelul 3.10. Cantitatea coptizinei bisulfat în ficat, bila și materii fecale după administrarea intragastrală la șoareci	72
Tabelul 4.1. Modificarea activității transaminazelor, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl ₄	74
Tabelul 4.2. Modificarea activității fosfatazei alcaline, fosfatazei acide și GGTP, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl ₄	77

Tabelul 4.3. Modificarea nivelului bilirubinei totale, directe și indirecte, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl ₄	80
Tabelul 4.4. Modificarea activității LDH, nivelului glucozei și probei cu timol, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl ₄	82
Tabelul 4.5. Modificarea nivelului colesterolului, proteinelor totale și albuminelor, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl ₄	84
Tabelul 4.6. Modificarea nivelului ureei și creatininei, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl ₄	86
Tabelul 4.7. Modificarea nivelului transaminazelor în ser și coeficientului de Ritis în HTA indusă prin CCl ₄ și după utilizarea coptizinei bisulfat în doze de 10 și 20 mg/kg	88
Tabelul 4.8. Modificarea activității fosfatazei alcaline, fosfatazei acide și GGTP în ser în HTA indusă prin CCl ₄ și la utilizarea coptizinei bisulfat	89
Tabelul 4.9. Modificarea nivelului bilirubinei totale, directe și indirecte în ser în hepatita toxică indusă prin CCl ₄ și la utilizarea coptizinei bisulfat	90
Tabelul 4.10. Modificarea activității LDH, nivelului glucozei și probei cu timol în hepatita toxică indusă prin CCl ₄ și la utilizarea coptizinei bisulfat	91
Tabelul 4.11. Modificarea nivelului colesterolului, proteinelor totale și albuminei în ser în hepatita toxică indusă prin CCl ₄ și la utilizarea coptizinei bisulfat	92
Tabelul 4.12. Modificarea nivelului ureei și creatininei în ser în hepatita toxică indusă prin CCl ₄ și la utilizarea coptizinei bisulfat	93
Tabelul 4.13. Modificarea nivelului eritrocitelor, hemoglobinei și MCH-Hb/eritrocite în hepatita toxică indusă prin CCl ₄ și la utilizarea coptizinei bisulfat	95
Tabelul 4.14. Modificarea nivelului leucocitelor, formelor segmentate și nesegmentate în hepatita toxică indusă prin CCl ₄ și la utilizarea coptizinei bisulfat	96
Tabelul 4.15. Modificarea nivelului limfocitelor, eozinofilelor, bazofilelor și monocitelor în hepatita toxică indusă prin CCl ₄ și la utilizarea coptizinei bisulfat	97
Tabelul 4.16. Modificarea nivelului trombocitelor în hepatita toxică indusă prin CCl ₄ și la utilizarea coptizinei bisulfat	98

LISTA FIGURILOR

Figura 4.1. Aspectul mucoasei gastrice după administrarea indometacinei la șobolanii din lotul martor	99
Figura 4.2. Aspectul mucoasei gastrice după 6 zile de experiență la șobolanii din lotul martor	99
Figura 4.3. Aspectul mucoasei gastrice la șobolanii din lotul tratat cu coptizină bisulfat în doza de 1 mg/kg după 6 zile de tratament	99
Figura 4.4. Aspectul mucoasei gastrice la șobolanii din lotul tratat cu coptizină bisulfat în doza de 5 mg/kg după 6 zile de tratament	99
Figura 5.1. Influența coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat în dozele de 1 și 5 mg/kg asupra activității AlAT în HTA	106
Figura 5.2. Influența coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat asupra activității AsAT în HTA	107
Figura 5.3. Influența coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat asupra coeficientul de Ritis în HTA	107
Figura 5.4. Influența coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat asupra activității FA în HTA	109
Figura 5.5. Influența coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat asupra raportului FA/AlAT în hepatita toxică acută	110
Figura 5.6. Influența coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat la administrarea timp de 7 zile asupra nivelului bilirubinei și fracțiilor ei în HTA	111
Figura 5.7. Influența coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat în dozele de 1 și 5 mg/kg la administrarea timp de 14 zile asupra nivelului bilirubinei și fracțiilor ei în HTA	111
Figura 5.8. Modificarea activității AlAT și AsAT în hepatita toxică acută la utilizarea coptizinei bisulfat	113
Figura 5.9. Modificarea coeficientului de Ritis în HTA la utilizarea coptizinei bisulfat	113
Figura 5.10. Modificarea activității fosfatazei alcaline în hepatita toxică acută la utilizarea coptizinei bisulfat	114
Figura 5.11. Modificarea activității GGTP în HTA la utilizarea coptizinei bisulfat....	115
Figura 5.12. Modificarea nivelului bilirubinei totale, directe și indirecte în hepatita toxică acută la utilizarea coptizinei bisulfat	115

Figura 5.13. Modificarea nivelului proteinelor totale și albuminei în hepatita toxică acută la utilizarea coptizinei bisulfat	116
Figura 5.14. Modificarea nivelului colesterolului total în hepatita toxică acută la utilizarea coptizinei bisulfat	117
Figura 5.15. Modificarea activității LDH în hepatita toxică acută la utilizarea coptizinei bisulfat	117

LISTA ABREVIERILOR

AAT – activitate antioxidantă totală
AlAT – alaninaminotransferază
AsAT – aspartataminotransferază
ASC – arie de sub curba concentrației
BB – berberină bisulfat
CAH – coeficient de activitate hepatoprotectoare
CB – coptizină bisulfat
CCl₄ – tetraclorură de carbon
CIC – complexe imunocirculante
CT – colesterol total
CYP7A1- colesterol-1-alfa-hidroxilază
DAM – dialdehidă malonică
D-GalN – D-galactozamină
DNCB - 1-cloro-2,4-dinitrobenzen
FA – fosfatază alcalină
GGTP – gama-glutamiltanspeptidază
GLUT2 – transportor al glucozei
GSH – glutation redus
GST – glutation-S-transferază
Hb - hemoglobină
HDL - lipoproteine cu densitate mare
HIV – infecție cu virusul imunodeficienței umane
HMGCo-A - 3-hidroxi-3-metil-glutaril coenzim-A reductază
HO-1 – hemoxigenază-1
HOLm – hidroperoxizi intermediari
HPLf – hidroperoxizi finali
HPLi – hidroperoxizi inițiali
HTA – hepatită toxică acută
HVBC – hepatită virală B cronică
HVCC – hepatită virală C cronică
IF – indice fagocitar
IL- interleukine

INF – interferoni
 iNOS - nitroxid sintază inductibilă
 JTW - Jiao-Tai-Wan - fitoasociere din *Rhizoma Coptidis* și *Cortex Cinnamon*
 LD₁₀₀ – doză letală maximă
 LD₅₀ – doză letală medie
 LDH – lactatdehidrogenază
 LDL - lipoproteine cu densitate mică
 LPS – lipopolizaharide
 MAPK - protein kinază activată de mitogen
 MIC - concentrații minim inhibitorii
 NADH - nicotinamid-adenin-dinucleotid
 NAPQI - N-acetil-benzochinonimină
 NF – număr fagocitar
 NF-kB - factor nuclear
 ONOO⁻ - peroxinitrit
 PG – prostaglandine
 PGP – linie de celule canceroase
 PMMM – peptide cu masă moleculară medie și mică
 PPAR-γ - receptor-γ activat de proliferare
 RC – *Rhizoma Coptidis*
 SDH - sorbitoldehidrogenază
 SIDA – sindrom al imunodeficienței dobândite
 SN – substanțe necrotice
 SOD – superoxid dismutază
 SOR – superoxid reductază
 SRN – specii reactive ale azotului
 SRO – specii reactive ale oxigenului
 TG – trigliceride
 TLR-4 – tolreceptori
 TNF - factor de necroză tumorală
 UC – unități convenționale
 VSH – viteză de sedimentare a hematiilor
 КБ – коптизин бисульфат
 ББ – берберин бисульфат

INTRODUCERE

Actualitatea și importanța problemei abordate

Rostopasca (*Chelidonium majus* L.) este o plantă erbacee din familia Papaveraceae, ordinul Papaverales bine cunoscută pentru multiplele efecte benefice asupra organismului [112, 173].

Extractele și compușii izolați din rostopască și *Rhizoma Coptidis* acoperă un spectru farmacologic larg, incluzând diverse efecte benefice: antimicrobian [1, 26, 40, 79, 85, 87, 99, 134, 158]; antiinflamator [18, 33, 79, 85, 99, 102, 122, 134, 144, 155, 158]; antioxidant [33, 61, 68, 79, 95, 105, 134, 148, 160]; hepatoprotector [33, 40, 43, 46, 95, 99, 122, 146, 149]; antidiareic [33, 79, 122]; antihipertensiv [33, 85, 122]; cardioprotector [5, 15, 131, 144, 149, 158]; antitumoral [14, 33, 79, 85, 99, 126, 143, 157]; hipoglicemiant [33, 40, 79, 85, 87, 105, 125, 134]; hipolipemiant și antiaterosclerotic [33, 40, 54, 58, 79, 87, 105, 134, 144].

Conform datelor prezentate de mai mulți cercetători, în *Chelidonium majus* L. s-au izolat circa 70 de compuși și 24 de macro- și microelemente, inclusiv: alcaloizi, flavonoizi, saponine, vitamine, minerale, acizi aromatici și alifatici, fitosteroli, alcooli etc. (Kedzia B. et al., 2016; Seidler-Lozykowska K. et al., 2016). O atenție separată oamenii de știință acordă alcaloizilor izochinolinici care constituie 0,27-2,25% în părțile aeriene și 3-4% în rădăcini. Cei mai importanți alcaloizi ai izochinolinei din punct de vedere farmacologic sunt: berberina, protoberberina, alocriptopina, cheleritrina, chelidonina, homochelidonina, coptizina, dihidrocoptizina, 8-oxicoptizina, stilopina, sanguinarina, oxisangvinarina, corisamina, chelirubina, canadina etc. [46, 72, 95, 99, 127, 159, 163, 171].

Descrierea situației în domeniul de studiu și identificarea problemelor de cercetare.

În sursele din literatură sunt date controversate în jurul acestei plante ce țin de problemele legate de siguranța și calitatea alcaloizilor și rolul potențial al lor în farmacologie și fitoterapie. Acțiunea hepatoprotectoare a extractului din *Chelidonium majus* L. a fost demonstrată pentru alcaloizii chelidonina, berberina, protopina. Un rol important prezintă efectul antioxidant, deoarece în patologia hepatică este demonstrată acțiunea negativă asupra hepatocitelor a stresului oxidativ. Conform Maji AK. et al. (2015) efectul antioxidant este mai manifest la extractul din rostopască ce conține un sumar de alcaloizi. Acest efect este cauzat de captarea radicalilor liberi (hidroxil, peroxil, hipoclorid), anionilor (superoxid, singlet), precum și prin creșterea activității enzimelor antioxidante (catalaza, superoxid dismutaza MnSOD). O influență benefică asupra funcțiilor ficatului ar avea și alți derivați izochinolinici cu efect antioxidant, antiinflamator, coleretic și imunomodulator (coptizina, cheleritrina, sanguinarina, acidul chelidonic) [95].

În studii experimentale Mazanti G. et al. (2009), Ye X. et al. (2009), Пронченко Г. Е. и

др. (2016), au demonstrat că extractul din rostopască nu alterează în normă funcțiile ficatului. Extractul și alcaloizii pot preveni leziunile hepatice induse de CCl_4 , paracetamol prin diminuarea activității enzimelor (AlAT, AsAT, FA) și nivelului bilirubinei [96, 146, 174]. De rând cu acțiunea hepatoprotectoare, Gilca M. et al. (2010), Pantano F. et al. (2017), Stickel F. et al. (2003), Teschke R. et al. (2011; 2012) constată și cazuri de hepatotoxicitate a preparatelor din *Chelidonium majus*. În acest context se menționează că extractul integru și componenții puri ai rostopascăi pot avea o pondere diferită în efectele benefice sau nedorite asupra funcțiilor ficatului [46, 106, 129, 132, 133]. Din aceste considerente s-a inițiat un studiu referitor la influența coptizinei, unul din componenții importanți ai *Chelidonium majus*, asupra unor parametri ai funcției hepatice.

În sursele bibliografice în majoritatea cazurilor [46, 95, 99] sunt studiate efectele toxicologice și farmacologice ale extractelor din rostopască și mai puțini cercetători, predominant din China [33, 40, 41, 42, 122, 146] se axează pe acțiunile alcaloizilor puri, preponderent berberinei. Din aceste considerente sunt necesare studii experimentale de toxicitate și de apreciere a efectelor farmacologice ale principalilor alcaloizi ai plantei, responsabili de acțiunile multiple asupra organismului. Cele menționate ne-au inițiat în a efectua studiul experimental cu alcaloidul coptizina pentru elucidarea ponderii acestuia în realizarea efectelor farmacodinamice. În acest context am utilizat în cercetare coptizina bisulfat, obținută printr-un procedeu special, ce îi conferă alcaloidului o solubilitate mai bună în solvenți și apă [11, 12].

Coptizina, alcaloid protoberberinic obținut din *Chelidonium majus*, este cunoscut pentru efectele sale multiple asupra organismului: hepatoprotector, gastroprotector, antioxidant, spasmolitic etc. [33, 40, 43, 46, 95, 99, 122, 146]. Pentru argumentarea acestor efecte și aspectelor de utilizare clinică a coptizinei și altor alcaloizi din rostopască devin tot mai stringente cercetările de farmacocinetică.

Analiza datelor din literatură a sugerat necesitatea efectuării unui studiu referitor la toxicitatea sistemică a coptizinei bisulfat la administrarea internă pentru stabilirea ponderii toxicității alcaloidului în cadrul extractului integru. S-a considerat necesar de a determina influența coptizinei bisulfat asupra parametrilor funcției ficatului la utilizarea timp de 30 zile în vederea excluderii posibilei acțiuni hepatotoxice. Prin efectuarea unui studiu comparativ al influenței coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat asupra evoluției hepatitei toxice acute se va determina activitatea hepatoprotectoare a alcaloizilor. De asemenea, considerăm importantă elucidarea unei acțiuni hepatoprotectoare a coptizinei bisulfat dependente de doză.

Scopul studiului - cercetarea toxicității, evaluarea efectelor farmacologice hepatoprotectoare și gastroprotectoare ale coptizinei bisulfat, elucidarea posibilităților de utilizare a ei în afecțiunile hepato-biliare.

Obiectivele cercetării:

1. Studiul inocuității coptizinei bisulfat prin determinarea toxicității acute și cronice și stabilirea limitelor de securitate a ei.
2. Aprecierea comparativă dozodependentă a acțiunii coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat asupra evoluției hepatitei toxice acute modelate experimental cu CCl₄.
3. Determinarea acțiunii hepatoprotectoare a coptizinei bisulfat în diferite doze și aprecierea influenței ei asupra parametrilor hepatici și indicilor biochimici ai sângelui.
4. Stabilirea metodelor de studiu a biodisponibilității coptizinei bisulfat și evaluarea concentrației ei la diferite căi de administrare.
5. Determinarea efectelor regenerative și gastroprotectoare ale coptizinei bisulfat în tratamentul ulcerelor gastrice modelate experimental.

Ipoteza de cercetare

Noi am presupus, că această cercetare va demara stabilirea efectului hepatoprotector dozodependent propriu și comparativ cu substanța de referință berberina bisulfat, gastroprotector și regenerativ dozodependent, va fi confirmată lipsa toxicității și vor fi stabilite aspecte ale biodisponibilității coptizinei bisulfat, fapt ce a servit drept temei pentru efectuarea studiului actual.

Sinteza metodologiei de cercetare

În cercetare a fost utilizată coptizina, sub formă de bisulfat, obținută din materie primă vegetală autohtonă, sintetizată printr-un procedeu optim și cu un randament farmacologic bine definit.

Au fost inițiate cercetări preclinice, fiind studiată toxicitatea acută și cronică a coptizinei bisulfat pe șoareci și șobolani albi cu stabilirea inofensivității ei. Cercetările pe animale de laborator au fost efectuate conform ghidurilor de efectuare a cercetărilor preclinice a remediilor medicamentoase (Hodge H.C., Хабриев Р.У., Мironov A.H.).

De asemenea, în cercetări preclinice a fost determinată acțiunea hepatoprotectoare dozodependentă a alcaloidului coptizina bisulfat. Pentru aprecierea eficienței acțiunii hepatoprotectoare a coptizinei bisulfat au fost inițiate metode de cercetare comparativă a acțiunii date cu alcaloidul înrudit berberina bisulfat în diferite doze.

Acțiunea regenerativă și gastroprotectoare dozodependentă a coptizinei bisulfat a fost efectuată pe șobolani albi după metoda Derelanco MG.

Realizarea studiului s-a înfăptuit în vivariul din cadrul USMF “Nicolae Testemițanu” după prezentarea protocolului cercetării experimentale Comitetului de Etică a Cercetării din cadrul USMF “Nicolae Testemițanu” și obținerea avizului pozitiv la proiectul tezei de doctorat în data de 26 martie 2012 (Anexa 1).

Rezultatele experimentale obținute au fost examinate din punct de vedere fundamental și aplicativ și sunt descrise în teză sub formă de tabele și figuri.

Noutatea științifică

În premieră s-a stabilit, în studii preclinice, că coptizina bisulfat nu este toxică; manifestă efect hepatoprotector în corelație cu doza, durata, modul administrării și substanța de referință berberina bisulfat; exercită efect gastroprotector dozodependent.

Importanța teoretică și valoarea aplicativă a lucrării

Prezentul studiu a demonstrat că coptizina bisulfat, alcaloid izochinolinic din *Chelidonium majus*, este un produs lipsit de toxicitate sistemică. Administrarea coptizinei bisulfat timp de 30 zile în diapazonul de doze de la 2,5 mg/kg până la 250 mg/kg nu a manifestat acțiune toxică asupra ficatului și nu a modificat parametrii biochimici studiați.

De asemenea, utilizarea coptizinei bisulfat pe fondalul HTA modelate experimental, a diminuat gradul de afectare a hepatocitelor și a accelerat procesele de restabilire a indicilor hepatici. La analiza comparativă a influenței coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg asupra evoluției hepatitei toxice s-a stabilit că, coptizina bisulfat a fost mai superioară în anihilarea hepatotoxicității produse de către tetraclorura de carbon.

S-a determinat că acțiunea hepatoprotectoare a coptizinei bisulfat este dozodependentă. Alcaloidul, în dozele de 10 mg/kg și, în deosebi, 20 mg/kg a demonstrat o acțiune hepatoprotectoare mai pronunțată în hepatita experimentală toxică în comparație cu dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg.

Astfel, se poate concluziona că, coptizina bisulfat poate fi eficace în tratamentele complexe ale afecțiunilor hepatice de diversă etiologie. Acțiunea hepatoprotectoare mai exprimată a coptizinei bisulfat comparativ cu cea a berberinei bisulfat se datorează unei biodisponibilități mai mare și menținerea unor concentrații mai stabile în ficat.

Aprobarea rezultatelor

Rezultatele intermediare și cele finale, de asemenea concluziile teoretice și practice, formulate în cadrul studiului au fost raportate la:

- Zilele Universității și Conferința științifico-practică anuală a IP USMF “Nicolae Testemițanu” (Chișinău, 2014, 2016, 2017);
- Ședințele Societății Științifice a Farmacologilor și Farmacologilor clinicieni din

Republica Moldova (Chișinău, februarie 2017; decembrie 2017);

- VI Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології, посвяченої 90-річчю професора О.О.Столярчука *Клінічна та експериментальна фармакологія метаболічних коректорів, органопротекція, доказова медицина*. 10-11 листопада 2017 року (Вінниця, Україна, 2017);
- Expoziția internațională *MoldMedizin & MoldDENT* (Chișinău, 2016, 2018);
- Simpozionul Național *Medicamentul de la idee la clinică*, sub egida Zilele Medicamentului: rezumat și poster (Iași, 2018);
- Conferința științifică cu participare internațională *"Actualități în farmacologie și farmacologia clinică întru comemorarea celor 100 de ani de la nașterea ilustrului savant, profesor universitar, laureat al Premiului de Stat al Republicii Moldova Efim Muhin"* (Chișinău, 2018);
- Conferința științifică cu participare internațională *„Obținerea și cercetarea farmaceutică a unor noi molecule și produse farmaceutice cu potențial terapeutic”*. 31 ianuarie 2020. Chișinău, R. Moldova.

Teza a fost examinată și aprobată la ședința comună a Catedrei de farmacologie și farmacie clinică și Catedrei de farmacologie și farmacologie clinică a IP USMF „Nicolae Testemițanu” (proces-verbal nr. 1 din 03 martie 2020) și la ședința Seminarului științific de profil 314. *Farmacologie și toxicologie* din cadrul IP USMF „Nicolae Testemițanu” (proces-verbal nr. 1 din 29 mai 2020).

În baza materialelor tezei au fost publicate 11 lucrări științifice, inclusiv 8 articole: 4 - singur autor, 2 articole - în materialele comunicărilor științifice naționale, 2 articole - în materialele comunicărilor științifice internaționale, 3 teze - în materialele comunicărilor științifice internaționale. De asemenea, au fost elaborate și implementate 4 acte de implementare a rezultatelor cercetărilor științifice (Anexa 2-5) și obținute 2 certificate de înregistrare a obiectelor dreptului de autor și drepturilor conexe (Anexa 9-10) și 4 certificate de inovator (Anexa 11-14).

Volumul și structura tezei

Lucrarea este expusă în limba română cu titlu de manuscris și constă din: adnotare, lista abrevierilor, cuprins, introducere, reviu literaturii, materiale și metode de cercetare, rezultatele cercetărilor, total 5 capitole, inclusiv sinteza rezultatelor obținute, concluzii generale, recomandări practice și surse bibliografice ce include 175 de titluri. Teza este expusă pe 159 pagini tehnoredactate, iar materialul ilustrativ include 30 tabele, 19 figuri și 18 anexe.

Sumarul capitolelor tezei

Lucrarea conține 120 pagini dactilografiate și include: introducere, reviu literaturii, materiale și metode de cercetare, 3 capitole care conțin rezultate proprii și sinteza lor, concluzii generale, recomandări practice, bibliografie cu 175 de titluri și 18 anexe.

În **Introducere** este expusă actualitatea și importanța temei cu descrierea situației în domeniul de studiu și identificarea problemelor de cercetare. Sunt prezentate scopul și obiectivele lucrării. Este descrisă noutatea științifică a rezultatelor obținute, importanța teoretică și valoarea aplicativă a lucrării, rezultatele științifice principale înaintate spre susținere. De asemenea sunt prezentate forurile naționale și internaționale la care au fost prezentate rapoarte la tema tezei (Anexa 6-18).

1. Proprietățile farmacologice specifice ale unor principii active din *Chelidonium majus* L. Capitolul este structurat în 4 subcapitole, unde sunt sintetizate și analizate detaliat datele publicațiilor din literatura de specialitate referitor la proprietățile farmacologice și toxicologice ale rostopascăi (*Chelidonium majus* L.) și alcaloizilor izochinolinici, inclusiv a coptizinei. În subcapitolul 1 sunt descrise aspectele farmacotoxicității extractelor din rostopască și a compușilor izochinolinici. În subcapitolul 2 sunt descrise proprietățile farmacocinetice ale derivaților izochinolinici. În subcapitolul 3 se face o analiză detaliată a efectelor farmacodinamice (antiinflamator, hepatoprotector, imunomodulator, hipoglicemiant, hipocolesteremiant, antioxidant etc.) ale produselor din *Chelidonium majus* L. cu referire la studiile selective la coptizină. În subcapitolul 4 este formulată sinteza analizei situației din domeniul cercetat.

2. Materiale și metode de cercetare include principiile metodologice și metodele de cercetare folosite. În primele 8 subcapitole sunt descrise: metoda de obținere a coptizinei sub formă de bisulfat; caracterizarea generală a animalelor experimentale; metodele de determinare a inocuității coptizinei bisulfat prin cercetarea toxicității acute și cronice a ei pe diferite specii de animale de laborator și prin diferite căi de administrare; metoda de modelare a hepatitei toxice acute și aprecierea acțiunii hepatoprotectoare a coptizinei bisulfat, studiul comparativ al influenței coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat asupra evoluției hepatitei toxice acute modelate experimental; metodele de cercetare ai parametrilor hematologici și biochimici, metodele de studiu a biodisponibilității coptizinei bisulfat prin determinarea concentrațiilor plasmatică și hepatice a ei la șobolani și prin determinarea concentrațiilor hepatice, biliare și intestinale a substanței cercetate la șoareci; determinarea proprietăților regenerative și gastroprotectoare ale coptizinei bisulfat; metodele de prelucrare statistică a rezultatelor obținute. Se finisează capitolul cu sinteza materialelor și metodelor de cercetare alese, expusă în subcapitolul 2.9.

3. Aspectele toxicității coptizinei bisulfat, structurat în 3 subcapitole, care prezintă descrierea și analiza rezultatelor cercetărilor toxicității coptizinei bisulfat. În subcapitolul 3.1. sunt expuse datele despre toxicitatea acută a coptizinei bisulfat la administrarea intraperitoneală și enterală la diferite specii de animale de laborator. Subcapitolul 3.2. conține descrierea rezultatelor studiului modificărilor parametrilor hematologici și biochimici în cadrul toxicității cronice la utilizarea coptizinei bisulfat în diapazonul de doze de la 2,5 mg/kg până la 250 mg/kg în vederea elucidării posibilelor efecte sistemice ale alcaloidului. În subcapitolul 3.3 se descriu aspecte ale biodisponibilității coptizinei bisulfat după administrarea intragastrală și intraperitoneală pe diferite specii de animale. La finele capitolul 3 este redată sinteza rezultatelor obținute și descrise, inocuitatea și biodisponibilitatea coptizinei bisulfat (subcapitolul 3.4.).

4. Particularitățile acțiunii hepatoprotectoare și gastroprotectoare a coptizinei bisulfat. Capitolul 4 este structurat în 4 subcapitole.

În subcapitolul 4.1. se face o analiză comparativă a influenței coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg asupra afecțiunii hepatice toxice induse prin tetraclorura de carbon cu aprecierea eficienței alcaloizilor în acțiunea hepatoprotectoare a lor. În subcapitolul 4.2. se descriu rezultatele obținute referitoare la influența coptizinei bisulfat în dozele de 10 mg/kg și 20 mg/kg asupra evoluției hepatitei toxice acute modelate experimental cu CCl₄. Subcapitolul 4.3. include rezultatele cercetărilor unor aspecte ale acțiunii regenerative și gastroprotectoare a coptizinei bisulfat. Subcapitolul 4.4 reunește sinteza cercetărilor referitoare la studiile comparative ale coptizinei bisulfat cu substanța de referință berberina bisulfat și acțiunea hepatoprotectoare proprie, precum și a activității gastroprotectoare a ei.

5. Sinteza rezultatelor obținute are menirea de a analiza datele obținute pentru argumentarea proprietăților toxicologice, unor proprietăți ale biodisponibilității substanței cercetate, a influenței coptizinei bisulfat asupra parametrilor ce caracterizează funcția hepatică la animalele intacte, precum și în cazul modelării afecțiunii hepatice toxice, inclusiv și printr-un studiu comparativ cu berberina bisulfat, unul din componenții principali activi ai *Chelidonium majus L.*, cu efect hepatoprotector demonstrat. S-au întreprins intenții de a elucidă influența coptizinei bisulfat asupra evoluției hepatitei toxice acute în funcție de doze. De asemenea este analizată acțiunea gastroprotectoare a ei în tratamentul ulcerelor modelate experimental.

Rezultatele obținute în cadrul tezei sunt expuse în 5 concluzii generale și 4 recomandări practice, care corespund scopului și obiectivelor trasate și reflectă datele experimentale obținute. Compartimentul final al tezei include bibliografia cu 175 referințe, preponderent din ultimii ani, expuse în ordine alfabetică, 18 anexe, declarația privind asumarea răspunderii și CV-ul autorului.

1. PROPRIETĂȚILE FARMACOLOGICE SPECIFICE ALE

UNOR PRINCIPII ACTIVE DIN *CHELIDONIUM MAJUS* L.

Rostopasca (*Chelidonium majus*) este o plantă de origine euro-asiatică, având o răspândire vastă în Asia, America de Nord, întreaga Europă, inclusiv în țara noastră. Cercetătorii științifici din domeniu indică diverse zone geografice de răspândire a plantei: euro-asiatică, care include arealul central, de nord și vest a Europei; în Rusia europeană și Ural (arealul de nord ajunge până la zona arctică), crește sporadic în Siberia de sud, în Mongolia de vest; se întâlnește în Tibet, China, Caucaz [38, 112, 163, 165, 173].

Medicina populară din Europa Centrală și de Est folosește această plantă în diverse ramuri ale ei. În regiunea dată, planta este cunoscută sub numeroase nume, asociate cu relația veche grecească ”*chelidon*” - înghițirea. De obicei, la strivirea plantei se produce latexul galben în abundență, care se consideră sursa principiilor active (enzime proteolitice, substanțe rășinoase, alcaloizi, baze terțiare și cuaternare [29, 38, 120].

Cercetătorii din țările Asiei, inclusiv China (Meng FC. et al., 2018; Poormazaheri H. et al, 2017) au izolat alcaloizii izochinolinici și din alte specii de plante înrudite cum ar fi *Rhizoma Coptidis* - rizomul uscat de *Coptis chinensis* Franch., *C. deltoidea*, C. Cheng et Hsiao sau *C. teeta* Wall. (Ranunculaceae), frecvent utilizați în medicina tradițională chineză [98, 121].

Extractul din *Rhizoma Coptidis* conține o gamă variată de compuși printre care [29, 31, 38, 46, 72, 95, 98, 99, 159, 171]:

I. Alcaloizi:

1. protoberberinici (derivați de izochinolină) – berberina, epiberberina, palmatina, coptizina, tetrahydrocoptizina, jatrorrhizina etc.
2. benzofenantridinici – chelidonina, cheleritina, sanguinarina, chelelutina, chelerubina, chelamina, chelidimerina, chelamidina, angolina, macarpina, oxichelidonina etc.;
3. protopinici – protopina, alfa-, beta-alocriptopina;
4. aporfinici – magnoflorina, coriclina etc.;
5. chinolizidinici – sparteina.

II. Acizi aromatici și alifatici: acid chelidonic, acid cafeic, acid ferulic, acid citric, acid malic, acid succinic, acid parahidroxibenzoic, acid nicotinic, acid formic, acid hidroxicinamic, acid ascorbic etc.

III. Fitosteroli: ergosterol, alfa-spinasterol.

IV. Polizaharide.

V. Alcoolii: chelidinol, nonacosanol.

VI. Flavonoide: rutic, quercerutina, kaempferol.

VII. Diverse: colina, tiramina, histamina, saponoside, ulei volatil, caroten, rășini, fermenți proteolitici etc.

VIII. Macro- și microelemente: 24 minerale.

Conform Monografiei OMS (2010) în sucul părților aeriene de rostopască se conțin de la 0,1% până la 1,3% alcaloizi, peste 20 derivați de benzofenantridină și derivați printre care cei mai importanți în raport cantitativ sunt chelidonina, sangvinarina, coptizina și cheleritrina, precum și berberina, protopina, homochelidonina, alocriptopina, stilopina, oxisangvinarina, chelirubina, canadina, iar Cojocaru M.T. (2017), indică asupra 0,5-2% alcaloizi din subgrupul izochinolinei pe întreaga perioadă a înfloririi. Ciobanu N. și coaut. (2019) aduc date despre conținutul alcaloizilor (2,4-3,4%) în părțile subterane și evidențiază chelidonina (1,2%) și cheleritrina (1,0%). Diug O. și coaut. (2010) consideră, că pe toată perioada de vegetație conținutul de bază îl constituie coptizina, iar restul alcaloizilor se modifică pe întreaga perioadă de dezvoltare a plantei [29, 31, 38, 171].

1.1. Studiile farmacotoxicității compușilor isochinolinici

În studiul toxicității acute a extractului brut din *Rhizoma Coptidis* Ma BL. et al. (2010) au demonstrat că DL_{50} a constituit 2,95 g/kg la șoricei, în timp ce extractul alcaloid a fost mult mai toxic. S-a constatat, de asemenea, detectarea a 4 alcaloizi din extract în creier, inimă și pulmoni, iar concentrația în țesuturi avea un caracter non-liniar la creșterea dozelor. Fenobarbitalul a micșorat nivelul tisular al fiecărei alcaloid, precum și toxicitatea extractului brut. Toți alcaloizii, în special, berberina au arătat o citotoxicitate dependentă de doză și timp [91].

Cercetând toxicitatea acută pe șoricei a alcaloizilor din *Rhizoma Coptidis* prin determinarea DL_{50} , Yi J. et al. (2013) au demonstrat că cea mai toxică s-a dovedit berberina, după care urmează coptizina, epiberberina și palmatina. Valorile DL_{50} au constituit 713,57 mg/kg pentru berberină, 852,12 mg/kg – pentru coptizină, 1360 mg/kg – pentru epiberberină și 1533,68 mg/kg – pentru palmatină [147].

În studiile de toxicitate acută pe șoricei Ma BL. et al. (2016) au demonstrat că extractul din *Rhizoma Coptidis* în doza de 3 g/kg a provocat moartea animalelor peste 24 ore. În același timp o doză de 1259 mg/kg de extract sau echivalentă cu 618 mg/kg berberină nu a prezentat reacții toxice. În acest context determinarea berberinei în sânge a demonstrat o concentrație mai mare a alcaloidului dat după administrarea extractului în comparație cu berberina pură. Aceste date au sugerat ipoteza că ceilalți compuși din extract ameliorează farmacocinetica berberinei [92].

În Monografia OMS (2010) sunt redate cercetări privind studiile de toxicitate ale

Chelidonium majus pe animalele rozatoare, care nu au constatat careva leziuni sau efecte toxice. Doza letală medie (DL₅₀) a decoctului după administrarea intraperitoneală a constituit 9,5 g/kg. La șoricei DL₅₀ pentru alcaloizii izochinolinici după administrarea subcutanată a fost de 300 mg/kg. Administrarea intraperitoneală a extractului metanolic din iarba de rostopască în doza de 350 mg/kg a determinat decesul a 20% șoricei timp de 7 zile. Studiile de toxicitate acută a extractului metanolic și hidric din iarbă de rostopască, la administrarea internă, la șoricei DL₅₀ a fost de 12,5 și 10,1 g/kg respectiv [171].

Cercetările toxicologice ale alcaloizilor puri au demonstrat că DL₅₀ pentru chelidonină, la injectarea intraperitoneală, a constituit pentru șoricei 1300 mg/kg și 2000 mg/kg pentru șobolani. Administrarea alcaloizilor sangvinarina și cheleritina (în raport 3:1) în doza de 5 mg/kg peroral timp de 90 zile la purcei nu a determinat careva modificări biochimice și histologice. Administrarea intraperitoneală la șobolani a acelorași alcaloizi în doza de 10 mg/kg a cauzat afectarea ficatului cu majorarea activității transaminazelor. În același timp, la utilizarea sangvinarinei și cheleritinei intraperitoneal în doza de 0,2 mg/kg timp de 55 zile nu s-a constatat simptome de hepatotoxicitate. Studiile de toxicitate a extractului și alcaloizilor puri din rostopască, inclusiv a coptizinei, au relevat o corelație directă între conținutul alcaloizilor și gradul de hepatotoxicitate [171].

Studiul de toxicitate subacută a demonstrat, că extractul din *Rhizoma Coptidis* în doza de 1,88 g/kg nu a provocat efecte adverse, în timp ce doza de 3,76 g/kg a determinat modificări hepatice și pulmonare. În opinia lui Ma BL. et al. (2016), alcaloizii determinanți în extract sunt berberina, coptizina, palmatina și jatrorrhizina, dintre care berberinei i se atribuie rolul principal responsabil de toxicitatea extractului. Concomitent, ceilalți alcaloizi pot contribui la toxicitatea berberinei [92].

În cercetările sale, Lee YH. et al. (2014); Yi J. et al. (2013) privind toxicitatea subcronică pe șobolani cu administrarea timp de 90 zile a dozei de 156 mg/kg pentru extractul de alcaloizi și 521 mg/kg extract brut nu au constatat morbiditatea și mortalitatea animalelor, precum și anomalii ale organelor, modificări ale masei corporale și organelor, a parametrilor hematologici și urinei, dereglări histopatologice. Astfel, ei au concluzionat că dozele toxice ale alcaloizilor și extractului brut depășesc cu mult cele recomandate în practică [82, 147].

1.2. Proprietățile farmacocinetice ale derivaților izochinolinici

În studiile de farmacocinetică Ma YM. et al. (2013), Ma BL. et al. (2016) au relevat că administrarea dozei de 3 g/kg a extractului din *Rhizoma Coptidis* la șoricei a determinat nivele plasmatice mai mari decât folosirea a 618 mg/kg berberină pură. Ei au presupus că motivul

acestor diferențe poate fi asociat cu îmbunătățirea proprietăților farmacocinetice ale berberinei de către alți compuși prezenți în extract, prin influențarea absorbției, distribuției și metabolismului, deoarece conversia celorlalți alcaloizi în berberină este exclusă, reieșind din structurile chimice ale acestora [92, 93]. Axându-se pe cercetările de absorbție, Bao TD. et al. (2010) au demonstrat, că berberina asigură concentrații mai mari în extractul hidric decât în soluția pură, fapt cauzat de inhibarea P-glicoproteinei de compușii din extract (berberina este un substrat al acestei pompe de eflux) cu diminuarea efluxului din mucoasa intestinală [3].

În cercetările de metabolism Liu S. et al. (2015) au relevat că sub influența alcaloizilor din *Rhizoma Coptidis* berberina este metabolizată prin CYP 2D6, în timp ce coptizina este un inhibitor al acestei izoenzime, ce a și contribuit la majorarea nivelului plasmatic al berberinei, fapt responsabil de creșterea toxicității. Totodată alcaloizii prezenți în extract nu influențează metabolizarea coptizinei [87].

În studiile anterioare de farmacocinetică Cui HM. et al. (2015) au demonstrat că alcaloizii din rostopască au o biodisponibilitate și concentrație plasmatică mică după administrarea perorală la șobolani, câni și om. Concomitent, Wang J. et al. (2019) a raportat că berberina este un substrat al glicoproteinei P (P-gp) și se supune unui metabolism extensiv în ficat cu participarea CYP 2D6 și CYP 1A2. Aceste date sugerează că absorbția slabă, efluxul prin P-gp și metabolismul crescut pot fi responsabili pentru biodisponibilitatea redusă a alcaloizilor din rostopască [33, 136].

Cui HM. et al. au demonstrat (2015) în cercetările experimentale de farmacocinetică a berberinei, coptizinei, palmatinei și jatrorrhizinei, că alcaloizii au un coeficient de repartiție ulei/apă mai mare într-un mediu acid, decât în soluția tampon (pH-7,4), iar berberina are cel mai mare coeficient. Astfel, o solubilitate mai mare în ulei va determina o absorbție prin difuziune pasivă, iar modelarea acestor două medii simulează mediul din stomac și intestin [33].

Coeficientul de permeabilitate al coptizinei a oscilat între $0,49-0,64 \times 10^{-6} \text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$, mai mic decât al berberinei, dar mai mare ca la palmatină și jatrorrhizină, fapt ce demonstrează la om permeabilitate slabă a alcaloizilor [33].

Cui HM. et al. (2015) și Liu Y. et al. (2010) au demonstrat în studiile pe intestin izolat de șobolan, că alcaloizii se absorb preponderent în jejun și ileon, dar mai semnificativ în jejun. Procentul cumulativ al absorbției intestinale pentru alcaloizi timp de 4 ore a fost de peste 15,75%. Rezultatele obținute relevă că alcaloizii, inclusiv coptizina, se caracterizează printr-o permeabilitate și absorbție slabă, iar efluxul prin P-gp și metabolismul hepatic sunt responsabili de biodisponibilitatea redusă, creând concentrații plasmatice minime la administrarea perorală [33, 89].

Liu G. et al. (2014) consideră, că biodisponibilitatea coptizinei poate fi redusă datorită metabolizării la primul pasaj hepatic cu formarea unui metabolit activ în cadrul unei reacții de demetilare oxidativă. S-a demonstrat că coptizina este supusă metabolizării de I fază cu participarea CYP 2D6, în timp ce palmatina se scindează cu CYP 1A2. Concomitent, Liu S. et al. (2015) a constatat, că coptizina, cel mai puternic din alcaloizii din rostopască, reduce metabolismul berberinei datorită inhibării CYP2D6 în ficat. În pofida unei absorbții reduse a coptizinei la administrarea perorală, totuși alcaloidul se distribuie preponderent în ficat. Totodată, Kykec B.Γ. (2009) atenționează asupra faptului, că la utilizarea extractului integru din rostopască, alcaloizii, îndeosebi coptizina, vor avea influențe benefice asupra farmacocineticii compușilor activi [86, 87, 168].

După administrarea perorală, Fan H. et al. (2013) identifică compușii: coptizina, berberina, palmatina și jatrorrhizina în plasmă la șobolani, iar primii trei alcaloizi și în urină sub formă neschimbată [40].

După administrarea perorală a coptizinei în doză unică de 30, 75 și 150 mg/kg, Yan Y. et al. (2017) a constatat o variație dependentă de doză a concentrației plasmatice și ariei de sub curba concentrației cu cel mai mic nivel la doza de 30 mg/kg. Biodisponibilitatea absolută a variat de la 1,87 la 0,52% [144].

Absorbția alcaloizilor din *Rhizoma Coptidis*, inclusiv a coptizinei, pe intestin izolat a fost un proces liniar, în doze mari, medii și mici cu o absorbție în intestinul subțire. Rata de absorbție, în opinia lui Chen K. et al. (2015), a fost mai mare în decoctul de rizomi în comparație cu extractul alcoolic [20].

În alte studii experimentale (Su J. et al., 2015; Zhou X. et al., 2015), coptizina s-a determinat în plasmă la șobolani și după utilizarea perorală. Alcaloidul s-a administrat enteral (50 mg/kg) și intravenos (10 mg/kg) la șobolani cu determinarea parametrilor farmacocinetici și capacitatea de a penetra prin bariera hemato-encefalică. După folosirea orală biodisponibilitatea alcaloidului a constituit 8,9% cu o perioadă de înjumătățire ($T_{0,5}$) în plasmă scurtă de 0,71 ore. După administrarea intravenoasă alcaloidul a penetrat rapid bariera hemato-encefalică atingând concentrații mari cu o eliminare lentă din diferite regiuni ale creierului [130, 158].

Su J. et al. (2015) a mai constatat că coptizina se supune metabolizării cu formarea a 17 metaboliți, inclusiv 11 neconjugați, rezultați prin hidroxilare, hidrogenare, demetilare, dehidrogenare, și 6 conjugați cu acid glucuronic și sulfuric [130].

În studiile experimentale pe culturi de celule, Zhang X. et al. (2011) au constatat, că alcaloizii din rostopască (berberina, coptizina, palmatina, jatrorrhizina) sunt substraturi ale P-gp, iar transportul lor de la membrana apicală la cea bazală a fost crescut de inhibitorii P-gp,

ciclosporina A și verapamil, în timp ce transportul în direcție opusă a fost diminuat. Totodată, alcaloizii respectivi nu au influențat activitatea P-gp. Astfel, cercetătorii au concluzionat, că absorbția coptizinei este realizată prin transportul transmembranal cu ajutorul P-gp [153].

În studiu pe celule *in vitro* Qu Q. et al. (2014) și Han YL. et al. (2011) au observat, că coptizina în concentrații până la 100 mmol/L a inhibat, într-un mod dozodependent, CYP2D6, date ce necesită a fi luate în considerație la utilizarea concomitentă cu medicamentele ce se inactivează prin intermediul acestei izoenzime a citocromului P-450 [53, 124].

În studiile *in vivo* și *in vitro*, Yu CP. et al. (2018) au demonstrat că administrarea internă de extract din *Rhizoma Coptidis* a activat funcțiile de P-gp și CYP3A4. Astfel, o doză unică (1g/kg) și șapte doze consecutive (1g/kg) de *Rhizoma Coptidis* au scăzut semnificativ C_{max} a ciclosporinei, substrat al P-glicoproteinei și CYP 3A4, cu 56,9% și 70,4% și a ariei de sub curba concentrației (ASC) cu 56,4% și 68,7% respectiv. Studiul pe celule a indicat, că decoctul din *Rhizoma Coptidis*, berberină, coptizină și palmatină au activat transportul de eflux al P-glicoproteinei. Conform studiului *in vitro* *Rhizoma Coptidis* a majorat activitatea metabolică a CYP 3A4 [150].

Chen N. et al. (2018) au tratat șobolanii intacti și cei cu insomnie cu pulbere de *Rhizoma Coptidis* (RC) și Jiao-Tai-Wan (JTW - o fitoasociere ce conține *Rhizoma Coptidis* și *Cortex Cinnamon* în raport 10:1 g/g) la o doză de 3 g/kg pe zi timp de 7 zile. În rezultatele obținute, cercetătorii au arătat că, la șobolanii intacti, excreția urinară și fecală a alcaloizilor, în special berberinei, coptizinei și palmatinei a crescut semnificativ în grupul JTW comparativ cu grupul RC, în timp ce excreția urinară și fecală a șase alcaloizi a scăzut la animalele cu insomnie [21]. Gong Z. et al. (2014) au demonstrat, că procesul farmacocinetic al berberinei ar putea fi modificat în cazul intestinului iritabil postinflamator. Aceste date au sugerat că afecțiunile patologice ar putea avea o influență marcată asupra excreției de alcaloizi la șobolani și au demonstrat faptul că, compatibilitatea ar putea promova efecte terapeutice mai bune prin cumulara de alcaloizi în organism [48].

Studiile de farmacocinetică au demonstrat că extractele, sumele de alcaloizi și alcaloizii puri au o biodisponibilitate relativ mică, aceasta fiind influențată de activitatea glicoproteinei P în intestin, metabolizarea la nivel hepatic cu participarea izoenzimelor CYP 2D6, CYP 1A2 și formarea metaboliților. Coptizina s-a dovedit a fi un substrat pentru glicoproteina P și CYP 2D6, manifestând capacități de inhibare a izoenzimei date cu modificarea parametrilor farmacocinetici și toxici ai altor alcaloizi.

1.3. Proprietățile farmacodinamice ale derivaților izochinolinici

Activitatea farmacologică a majorității produselor din rostopască se datorează, în primul rând, prezenței alcaloizilor, care au activitate farmacologică diferită.

De exemplu, conform Monografiei OMC (2010) chelidonina posedă un efect analgezic și sedativ pronunțat, similar efectului principal al alcaloizilor macului - papaverinei și morfinei. În plus, acest alcaloid are un efect antispastic asupra organelor musculare netede, are proprietăți hipotensive și bradicardice, iar Koriem KM. et al. (2013) raportează despre reducerea nefrotoxicității induse de cadmiu la animalele experimentale [75, 171].

Un alt alcaloid, homochelidonină, dimpotrivă, are un efect stimulant și convulsiv și prezintă activitate anestezică locală. Protopina, conținută în cantități destul de mari, reduce reactivitatea sistemului nervos autonom și, spre deosebire de chelidonină, mărește tonusul musculaturii netede. Pentru chelitrină este caracteristic un efect iritant local pronunțat [171].

Dintre toți compușii din plantă, cel mai bine este studiată sanguinarina. A fost stabilit un efect distinct anticolinesterazic al medicamentului pe diferite tipuri de animale de laborator (Wang J. et al., 2019). În plus, cercetările au demonstrat că sanguinarina potențează efectele acetilcolinei și îmbunătățește conducerea neuromusculară. În studiul proprietăților farmacologice generale ale sanguinarinei, s-au confirmat efectele caracteristice întregului grup de substanțe anticolinesterazice și s-a constatat că alcaloidul are un spectru larg de activitate antimicrobiană, acționează bactericid pe bacterii gram-pozitive și gram-negative, ciuperci și trichomonade [6, 45, 136].

Proprietățile farmacologice de bază ale *Chelidonium majus* L. sunt descrise în continuare.

Acțiunea hepatoprotectoare

Acțiunea hepatoprotectoare a *Chelidonium majus* a fost demonstrată pentru alcaloizii chelidonină, berberină, protopină. O influență benefică asupra funcțiilor ficatului ar avea și derivații izochinolinici cu efect antioxidant, coleretic, antiinflamator și imunomodulator (coptizina, berberina, protopina, chelitrina, sanguinarina, acidul chelidonic). În studii experimentale Gilca M. et al. (2010), Maji AK. et al. (2015) au demonstrat că extractul din rostopască nu alterează în normă funcțiile ficatului, dar extractul și alcaloizii pot preveni leziunile hepatice induse de CCl₄, paracetamol prin diminuarea activității enzimelor (AlAT, AsAT, FA) și nivelului bilirubinei. Un rol important prezintă efectul antioxidant, deoarece în patologia hepatică este demonstrată acțiunea negativă a stresului oxidativ asupra hepatocitelor. Și Ye X. et al (2009) au constatat că efectul antioxidant este mai manifest la extractul din rostopască ce conține un sumar de alcaloizi. Acest efect este cauzat de captarea radicalilor liberi

(hidroxil, peroxil, hipoclorid), anionilor (superoxid, singlet), precum și prin creșterea activității enzimelor antioxidante (catalaza, superoxid dismutaza MnSOD) [46, 95, 146].

De asemenea, Hu YR. et al. (2017) au determinat, că acțiunea hepatoprotectoare poate fi cauzată de efectul antioxidant al coptizinei la concentrații de 0,8 și 10 mkg/ml, de micșorarea producerii de specii reactive ale oxigenului, inhibarea peroxidării lipidelor, creșterii sintezei de glutatation și activității enzimelor antioxidante (SOD, GP-azei) [61].

Gîlca M. et al. (2010) și Ye X. et al. (2009) au demonstrat, în studii experimentale, că extractul etanolic din rostopască posedă efect hepatoprotector prin reducerea numărului de hepatocite necrotizate, modificărilor fibrotice, activității transaminazelor și nivelului bilirubinei în hepatita toxică indusă prin CCl₄. La șobolanii cu hepatită toxică, indusă prin tetraclorura de carbon (CCl₄) extractul în dozele de 400, 600 și 800 mg/kg a manifestat efecte protectoare prin micșorarea activității AlAT și AsAT și creșterea activității superoxid dismutazei. Astfel, autorii au concluzionat, că la baza efectului hepatoprotector stau proprietățile antioxidante ale extractului nominalizat [46, 146].

Extractul din rostopască, administrat intragastral în dozele de 12,5, 62,5 și 125 mg/kg de 2 ori pe săptămână timp de 3 săptămâni, diminuează efectiv acțiunea hepatotoxică a CCl₄ prin micșorarea activității AlAT, AsAT, fosfatazei alcaline, LDH și nivelului bilirubinei. Concomitent s-a constatat o restabilire a nivelului colesterolului, micșorat inițial de acțiunea hepatotoxicului. La examinarea histologică s-a determinat micșorarea numărului hepatocitelor necrotice [171].

Cercetările pe ficat izolat perfuzat au demonstrat, că extractul alcoolic din rostopască cu un conținut de 1,6% alcaloizi, a crescut de 2 ori eliminarea bilei [171].

Coptizina, la administrarea preventivă timp de 7 zile, a ameliorat leziunea hepatică indusă la șoareci prin diminuarea de lipopolizaharide și D-galactozamină (LPS/D-GalN) și nivelelor AlAT și AsAT, creșterea valorilor hepatice ale glutatationului (GSH) și superoxidreductazei (SOR) și menținerea morfologiei hepatocitelor. Studiile *in vitro* au arătat, că tratamentul cu coptizină a diminuat în mod evident apoptoza celulelor HepG2. Astfel, Chai FN. et al. (2018) consideră că alcaloidul a demonstrat un potențial efect protector asupra leziunilor hepatice [14].

Zielinska S. et al. (2018) au stabilit, că extractul etanolic din *Chelidonium majus* a demonstrat capacitatea de a reduce hepatotoxicitatea indusă de tetraclorura de carbon prin diminuarea acumulării lipidelor, dezvoltării necrozei celulare și absența fibrozei [159].

Un șir de studii clinice cu produse care conțin extract de *Chelidonium majus* la pacienții cu tulburări ale tractului biliar și ale vezicii biliare (colecistită, colangită/colecistită, sindrom postcolecistectomic, hepatită toxică alcoolică) au sugerat despre o ameliorare semnificativă a

parametrilor clinici, instrumentali și de laborator (bilirubină, transaminaze, tabloul sângelui) [159].

Analiza datelor literaturii permit de a conchide că extractele cu alcaloizi din *Chelidonium majus* exercită acțiune hepatoprotectoare prin: micșorarea producerii de specii reactive ale oxigenului; inhibarea peroxidării lipidelor; creșterea sintezei de glutatone și activității enzimelor antioxidante; diminuarea procesului inflamator datorită micșorării producerii citokinelor proinflamatorii; corecția dereglărilor metabolismului lipidic [33, 40, 46, 95, 99, 108, 146].

Chelidonium majus se consideră una dintre cele mai cunoscute remedii pentru medicina populară, prescrisă în icter și boli hepatice, cum ar fi inflamația, condiții spastice și calculi biliari.

În articolul de sinteză, Zielinska S. et al. (2018) au stabilit utilizarea rostopascăi în ameliorarea funcțiilor tractului gastrointestinal în diverse țări: în Polonia, infuzia din frunze de rostopască a fost folosită ca un colagog, pentru a ameliora funcția tubului digestiv, în caz de icter a fost recomandată infuzia preparată din jumătate de linguriță de rostopască la un pahar de apă; în Ucraina, infuzia a fost utilă pentru a ameliora funcțiile hepatice, iar în Ucraina de Vest, infuzia a fost utilizată ca relaxantă în colicile intestinale și biliare. De asemenea, în țările balcanice, rostopasca a fost administrată în tratamentul tulburărilor hepatice: în Albania pentru a trata hepatita, infuzia a fost recomandată de a fi consumată cu zahăr în porții mici; în Serbia, rostopasca a fost folosită intern pentru a diminua inflamația vezicii biliare, a ductului biliar, a icterului și a hepatitei [159]. O serie de cercetători, dimpotrivă, pun la îndoială efectul benefic al ei în afecțiuni hepatice și raportează asupra hepatotoxicității acestei plante [106, 129, 132, 133].

Acțiunea gastroprotectoare

Conform datelor prezentate de Luo C. și coaut. (2018), la modelarea ulcerului gastric indus cu indometacină la șobolani, 8-hidroxi-7, 8-dihidrocoptizina în doze de 10 mg/kg, 20 mg/kg și 40 mg/kg a demonstrat acțiune gastroprotectoare net superioară comparativ cu berberina (20 mg/kg) și lansoprazolul (30 mg/kg) în protejarea împotriva afectării gastrice induse de indometacină: a crescut semnificativ nivelele de superoxid dismutaza și glutatone și a redus semnificativ malondialdehida; a suprimat efectiv nivelele de mieloperoxidază, interleukină-1 β , factorul α de necroză tumorală și angiotensina II. În plus, preparatul a crescut semnificativ expresia ciclooxygenazei-1 și a ARNm ciclooxygenazei-2 și a crescut nivelul prostaglandinei E2 în mucoasa gastrică; a mărit semnificativ translocarea factorului 2 asociat cu factorul 2 eritroid al nucleului de la citosol la nucleu și expresia hemoxigenazei-1, reducând în același timp expresia proteinei kinazei 6 activate de mitogen (MKK6) și translația proteinelor kinazei p38 activate de mitogen (MAPK p38). Și Chen HB. et al. (2017) atribuie coptizinei acțiune gastroprotectoare

prin mecanismul de reglare favorabilă a stării antioxidante și antiinflamatorii, mediată prin calea de semnalizare Nrf2 și translocarea MAPK p38 [18, 90].

Acțiunea antiinflamatoare

Coptidis chinensis se utilizează de secole în tratamentul maladiilor inflamatorii. În cercetări experimentale Maji AK. et al. (2015), Wu J. et al. (2016) au constatat că, coptizina a inhibat marcat producerea de monoxid de azot prin diminuarea expresiei de nitricoxid sintetază inductibilă în macrofagele stimulate prin lipopolizaharide. Concomitent, alcaloidul a inhibat producerea de citokine proinflamatorii IL-1 beta și IL-6 prin suprimarea expresiei ARNm. Coptizina a redus edemul lăbuței la șobolani indusă prin caragenan (aditiv E-407), precum și a micșorat formarea TNF-alfa și monoxidului de azot în țesutul inflammat [95, 142].

La șobolanii cu ischemie și reperfuzie miocardică, conform datelor științifice prezentate de Guo J. et al. (2013) și Wang Y. et al. (2017), coptizina a atenuat producerea de citokine proinflamatorii (IL-1 beta, IL-6, TNF-alfa) în miocard și suprimarea căii Rho/Rock [51, 139]; de asemenea, Huang Z. et al. (2015), Liu XT. et al. (2010) și Wang Y. et al. (2015) raportează despre acțiunea protectoare a berberinei asupra miocitelor cardiace prin suprimarea activității autofagiei [63, 88, 138].

În cercetările sale, Qin-Wei Z. et al. (2016) au stabilit rolul berberinei în suprimarea căii de semnalizare a fosfoinositid-3-kinazei/ACT și a reducerii ulterioare a expresiei IL-6, IL-1 β și a factorului de necroză tumorală în țesutul miocardic, iar Yao W. et al. (2018) și Yu L. et al. (2015) consideră berberina responsabilă de atenuarea disfuncției mitocondriale și apoptozei miocardice [123, 145, 151].

La șobolanii cu esofagită de reflux alcaloizii din *Rhizoma Coptidis*, inclusiv coptizina, au manifestat acțiune antiinflamatoare prin suprimarea creșterii nivelului mediatorilor și a citokinelor inflamatorii prin activarea factorului nuclear-kappa B (NF-kB) și a redus creșterea speciilor serice de oxigen reactiv și a peroxinitritului, a îmbunătățit nivelul superoxid dismutazei și hemoxigenazei-1 (HO-1) [79].

În studiile *in vitro* extractul din rostopască, ce conținea 0,68% alcaloizi, a diminuat activitatea 5-lipooxigenazei, iar sangvinarina și cheleritina au inhibat și activitatea 12-lipooxigenazei [171].

În studiile experimentale Gilca M. et al. (2010), Maji AK. et al. (2015) și Mikołajczak PL. et al. (2015) au constatat, că extractul metanolic din *Chelidonium majus* inhibă progresia artritei induse de collagen la șoricei. Acest efect al extractului este determinat de diminuarea producerii de TNF-alfa, IL-6, INF-gama, B-celule și majorarea raportului CD4+CD25+T-celule reglatoare. Concomitent s-a micșorat nivelul imunoglobulinelor G și M [46, 95, 99].

Coptizina a fost utilizată pe scară largă pentru remedierea tulburărilor inflamatorii (Chen HB. et al., 2017; Meng FC. et al., 2018). În studii au fost investigate proprietățile antiinflamatorii ale bazei libere de coptizină (8-hidroxi-7,8-dihidrocoptizină) prin modelarea edemului urechii indus de xilen, permeabilității vasculare indusă de acid lactic și edemului labei indus de caragenan. Rezultatele au arătat că coptizina a exercitat o supresie dependentă de doză în edemul urechii indus de xilen, a atenuat în mod semnificativ agravarea permeabilității vasculare cauzată de acidul acetic și edemul labei indus de caragenan. Alcaloidul a suprimat producerea de interleukină-1 beta (IL-1 β), interleukină-6 (IL-6), prostaglandină E2 (PGE2) și factor de necroză tumorală (TNF- α) pe fondalul administrării caragenanului. Coptizina a inhibat calea protein kinazei activate de mitogen (MAPK) prin blocarea fosforilării p-p38 (fosfo-p38 protein kinazelor nitrogen activate) și p-JNK (kinaza fosfo-c-jun N-terminală) (Havelek R et al, 2016). Astfel, coptizina previne eficient inflamația, cel puțin parțial, prin inhibarea căilor de semnalizare prin factorul nuclear (NF- κ B) și MAPK [18, 55, 98].

Fracția alcaloizilor din *Chelidonium majus* a fost eficientă în edemul lăbuței de șobolan indus de caragenan. Extractele ce conțin preponderent coptizină au fost eficiente în testul cu plăci fierbinți, ce a demonstrat proprietățile antinociceptive, datorită acțiunii supramedulare [159].

Extractul hidroetanolic din părțile aeriene ale *Chelidonium majus* în doze de 200 mg și 400 mg/kg, la șoarecii cu dermatita atopică indusă de DNCB (1-cloro-2,4-dinitrobenzen), a atenuat pruritul și leziunea pielii, a diminuat nivelele serice ale IL-4 și TNF-alfa, a normalizat conținutul Ig E [74, 159].

Extractul metanol-hidric din *Chelidonium majus* în doze perorale de 40 și 400 mg/kg, la șoarecii cu artrită indusă de collagen, a suprimat progresia afectării articulațiilor și migrarea celulelor în ganglionii limfatici, splină, timus și lichidul sinovial, dar cel mai marcat efect a fost în ganglionii limfatici și articulații. Concomitent, s-a constatat o scădere nesemnificativă a celulelor CD4 +, CD8 + și CD3e +, dar marcată a celulelor B CD19 +). Paralel, s-a determinat o majorare semnificativă a numărului celulelor T: CD4 +, CD25 + de reglementare, ceea ce sugerează despre mobilizarea răspunsului adaptiv al sistemului imun pentru a contracara și a echilibra procesele inflamatorii excesive (Zielinska S. et al., 2018). S-a observat (Lee YC. et al., 2018) supresia mediatorilor de inflamație, cum ar fi IL-6, TNFa, IFN-gama, precum și nivelul scăzut al Ig G și Ig M, îndeosebi după tratamentul cu doza de 400 mg/kg [81, 159].

În baza analizei datelor prezentate putem conchide, că activitatea antiinflamatorie a extractului din *Chelidonium majus* și a alcaloizilor constituenți, inclusiv coptizina, se poate realiza prin: atenuarea producerii de prostaglandine și citochine proinflamatorii (PGE2, IL-1 beta, IL-6, TNF-alfa); inhibarea căii lipooxigenazice a acidului arahidonic; suprimarea activității

factorului nuclear (NF-kB) și căilor de semnalizare prin factorul nuclear; modularea imunității umorale și celulare; activitatea antioxidantă [18, 33, 79, 85, 99, 105, 122, 134, 158].

Acțiunea antimicrobiană

În numeroase cercetări (Jesionek W. et al., 2016; Móricz AM. et al., 2015) s-a stabilit că medicamentele din rostopască și substanțele biologice active izolate din ea au proprietăți antibacteriene și antivirale [64, 102]. Astfel, Zuo GY. et al. (2008) indică despre acțiunea bacteriostatică a alcaloidului homochelidonina față de *Staphylococcus aureus* la o diluție de 1:12500 și întârzierea dezvoltării micobacteriei tuberculozei la o diluție de 1:100000. Conform opiniei lui Cirić A. et al. (2008) și Kedzia B. et al. (2013) alcaloidul cheleretrina are un efect bacteriostatic asupra *Staphylococcus aureus* la o diluție de 1:10000 și împiedică dezvoltarea micobacteriei tuberculozei la o diluție de 1:25000 [30, 71, 162].

Alcaloidul sanguinarina acționează antibacterian asupra stafilococului și asupra unor tipuri de bacterii gram-pozitive. În experimentele *in vivo* și *in vitro*, s-a constatat că medicamentele din rostopască pot inhiba tulpinile unor microorganisme cum ar fi *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Candida albicans*, *Epidermoph. floccosum*, *Tr. mentoringtes*, *Tr. rubrum*, *microsp. ganis*, *Asp. fumigatus*. Numeroși cercetători afirmă, că alcaloizii din rostopască sunt derivați de benzil tetrahidroizochinolină, dar au grupe de substituție variate în pozițiile cheie și, respectiv, afinitate și diferențe în activitatea farmacologică. Analiza structurală a arătat că berberina și coptizina au câte o grupare metilendioxi în pozițiile C2 și C3 ce diferă de alți alcaloizi. La substituțirea grupelor metilendioxi s-a observat o creștere a activității antibacteriene și antifungice a alcaloizilor [33, 40, 85, 99, 122, 134, 154, 158].

Acțiunea antivirală

„Studii *in vitro* au demonstrat faptul că extractul alcoolic din rostopască are proprietăți antivirale (35 μg/ml) și virucide asupra virusului *Herpes simplex*. Alcaloizii benzofenantridinici și protoberberinici au fost testați pentru inhibarea reverstranscriptazei, activității ARN-ului virușilor tumorali. Inhibarea activității reverstranscriptazei a fost corelată cu structura și activitatea antileucemică a alcaloizilor protoberberinici. Grupurile fenolice și metoxi privind structura alcaloizilor benzofenantridinici sunt importante pentru activitatea anti-RT, astfel că alcaloizii prezintă activități foarte diferite. Prezența în moleculă a azotului cuaternar este de asemenea necesar pentru activitatea anti-RT (Zielińska S. et al., 2018). Compuși precum chelidonina care nu are azot cuaternar prezintă o activitate foarte slabă împotriva virușilor ARN tumorali. Conform cercetărilor efectuate de către Pașca D.I. și colab. (2013), chelidonina prezintă o activitate inhibitoare scăzută asupra reverstranscriptazei virusului imunodeficienței dobândite de tip I (IC₅₀ aproximativ 200 μg/ml), în timp ce berberina prezintă o activitate

moderată împotriva aceleiași enzime (IC₅₀ aproximativ 100 µg/ml). Extractul de rostopasca a prezentat o acțiune antivirală și într-un studiu *in vivo* realizat pe șoareci infectați cu virus gripal, însă numai în cazul în care cantitatea de virus administrată a fost una redusă” [107, 159].

Acțiunea antifungică

Activitatea antifungică a fost testată cu ajutorul latexului vegetal și a diferitelor extracte de solvent din părțile aeriene și subterane, cum ar fi eterul, etanol/metanol, cloroformul, acetona și apa (Kedzia B. et al., 2013; Meng F. et al., 2009; Wei Q. et al., 2017). Cheleretrina, sanguinarina, chelidonina și derivații lor au fost, de asemenea, individual testați împotriva unui număr mare de ciuperci patogene umane: *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Candida sp.*, *Cladosporium herbarum*, *Cryptococcus neoformans*, *Epidermophyton floccosum*, *Fusarium sp.*, *Keratinomyces ajelloi*, *Microsporum sp.*, *Penicillium notatum*, *Rhodotorula rubra*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Torlopsis utilis*, *Trichophyton sp.* Efectul extractelor *Chelidonium majus* asupra ciupercilor patogene a fost semnificativ mai slab comparativ cu efectul asupra bacteriilor patogene. De exemplu, concentrațiile minim inhibitorii (MIC) ale extractelor de etanol și metanol au fost cuprinse între 1,5 și 8 mg/ml față de bacteriile cele mai rezistente, în timp ce MIC ale extractului etanolic de plante față de cele mai patogene ciuperci a fost de 20-40 mg/ml (Kedzia B. et al., 2013). Cheleritrina, sanguinarina și derivații acestora (8-hidroxi-8-hidrocheleritrină) au fost până la câteva ori mai puternici decât chelidonina (Meng F. et al., 2009). Cheleritrina a fost, de asemenea, capabilă să inhibe germinarea sporilor mai multor ciuperci patogene din plante: *Sphaerulina juglandis*, *Septoria microspora*, *Fusarium oxysporum* și *Curvularia lunata*. Aceasta sugerează funcția biologic-antipatogenică reală a alcaloizilor de izochinolină din plantă (Wei Q. et al., 2017; Zielińska S. et al., 2018). Cu toate acestea, nici o caracteristică structurală pare să nu fie identificată ca determinant al potenței antifungice, în ciuda unor variații ale activității față de tulpini diferite între alcaloizi individuali. Este mai degrabă combinația dintre aceștia și alți compuși care vizează mai multe locații de acțiune care au ca rezultat efectul final observat [71, 97, 140, 159].

Acțiunea hipolipemiantă

În cercetările experimentale pe animale cu hiperlipidemie Feng M. et al. (2017) și Maji AK. et al. (2015) au relevat capacitatea extractului din *Chelidonium majus* (100-300 mg/kg) de a micșora nivelul colesterolului total (CT), lipoproteinelor cu densitate mică (LDL), trigliceridelor (TG) și de a majora pe cel al lipoproteinelor cu densitate mare (HDL) [42, 95].

În studii experimentale, prin modelarea unei hiperlipidemii, Pang B. et al. (2015) au constatat că coptizina în doza de 46,7 mg/kg/zi timp de 140 zile a preîntâmpinat creșterea masei corporale, a lipoproteinelor cu densitate mică, a micșorat conținutul CT și TG și l-a crescut pe

cel al lipoproteinelor cu densitate mare. Concomitent, la utilizarea alcaloidului, s-a majorat fracția acizilor biliari eliminați prin masele fecale. He K. et al. (2017) au demonstrat, că suma alcaloizilor din *Rhizoma Coptidis* a manifestat un efect hipolipemiant mai marcat decât fiecare alcaloid în parte. S-a concluzionat, că compușii din rostopască, inclusiv coptizina, pot influența sinteza colesterolului prin reglarea feedback negativă a expresiei 3-hidroxi-3-metil-glutaril coenzim-A reductazei (HMGCo-A), precum și intensifica clearance-ul lipidelor prin reglarea feedback pozitivă a receptorilor LDL, colesterol-1-alfa-hidroxilazei (CYP7A1) și expresia proteinei 2 decuplate [56, 57, 105].

Mai mulți cercetători au studiat influența sumei alcaloizilor din *Rhizoma Coptidis* (Kai H. et al., 2017; Kou S. et al., 2016) și a alcaloizilor puri: coptizina, berberina, palmatina, epiberberina, jatrorrhizina (Chi L. et al., 2014; Choi JS. et al., 2015) pe cultura de celule HepG2 pe animale și au demonstrat, că componența integră a redus mai efectiv nivelul CT, TG, LDL și l-a crescut pe cel al HDL. Concomitent s-a determinat o diminuare a conținutului colesterolului și acizilor biliari în masele fecale. Autorii au susținut ipoteza, că efectul alcaloizilor din rostopască este cauzat de reglarea feedback pozitivă a LDL-receptorilor și CYP7A1 și cea negativă a HMGCoA-reductazei [22, 23, 69, 76].

Chen B. et al. (2015) au observat, că la administrarea coptizinei în doza de 70,05 mg/kg s-a redus semnificativ concentrația CT, TG, LDL și a crescut cea a HDL [16]. În același timp alcaloidul a majorat eliminarea acizilor biliari totali prin intestin. Ulterior, Cao Y. et al. (2012) și He K. et al. (2015) în investigații preclinice au demonstrat că, coptizina suprimă expresia HMGCo-A-reductazei și crește expresia proteinei LDL-receptorilor și CYP7A1. Astfel, s-a concluzionat că coptizina exercită efect hipolipemiant prin micșorarea sintezei, creșterea utilizării și excreției colesterolului [8, 57].

Wu H. et al. (2014) au relatat că, dintre alcaloizii *Rhizoma Coptidis*, coptizina a diminuat cel mai efectiv nivelul CT, TG, LDL și l-a crescut pe cel al HDL; concomitent alcaloidul a majorat expresia ARNm al LDL-receptorilor în ficat [141].

S-a constatat, că în cazul obezității consumul de grăsimi și kaloriile acumulate se asociază cu un grad variat de inflamație. Rezultatele au arătat că greutatea corporală, nivelul lipidelor plasmatice, colesterolului total, trigliceridelor, lipoproteinelor de densitate mică, lipoproteinelor de densitate foarte mică, ApoB și conținutul citokinelor proinflamatorii TNF-a, IL-6 și lipopolizaharide (LPS) au fost modificate semnificativ la animalele cu dietă bogată în grăsimi și colesterol. Meng FC. et al. (2018) și Zou ZY. et al. (2015) au afirmat că coptizina în concentrații de la 60 mg/L până la 700 mg/L a determinat o majorare dependentă de doză a creșterii *Enterobacter cloacae*, responsabil de inducerea obezității și rezistenței la insulină. Coptizina a

demonstrat capacitatea de reducere a conținutului de lipopolizaharide în inflamație. Investigațiile au arătat că coptizina a suprimat tolreceptorii (TLR-4) în țesutul adipos visceral și a redus expresia CD14 în ficatul animalelor. Aceste date au sugerat ideea că coptizina poate fi utilă pentru prevenirea bolilor legate de obezitate prin intermediul căii de semnalizare mediate de LPS/ TLR-4 [98,161].

În opinia cercetătorilor Feng M. et al. (2017) și Meng FC. et al. (2018) coptizina poate atenua inflamația cauzată de obezitate și stresul oxidativ cu efecte benefice pentru tratamentul aterosclerozei datorită acțiunii hipolipidemiante și antiinflamatoare. În studiile experimentale, tratamentul cu coptizină a scăzut nivelul seric al parametrilor metabolismului lipidic (colesterolului total, trigliceidelor și lipoproteinelor cu densitate mică) și al mediatorilor inflamației (IL-6, IL-1 β și TNF-a); precum și conținutul ARNm al NF- κ Bp65, VCAM-1, ICAM-1, IL-6 și IL-1 β în aorta și ficat. Coptizina a micșorat semnificativ placa aterosclerotică atât prin efect antiinflamator, cât și prin reducerea lipidelor. Ei consideră, că efectul antiinflamator al coptizinei se realizează prin activarea inhibitoare a căilor de semnalizare MAPK și a translocării nucleare NF- κ B [42, 98].

Dacă aceste grupe au fost substituite cu cele metoxil s-a majorat toxicitatea. Cao Y. et al. (2016) și Fan H. et al. (2013) au demonstrat, că prezența grupei metilendioxi joacă un rol important în generarea glutatationului redus (GSH) în mitocondriile hepatocitelor cu un efect benefic în steatoza hepatică. Guo T. et al. (2016) au constatat că, coptizina are grupe metilendioxi și în pozițiile C9 și C10, în timp ce la berberină este prezentă grupa metoxil [9, 40, 50].

Choi JS. et al. (2014; 2015) au observat, că extractul metanolic din *Rhizoma Coptidis* a inhibat semnificativ diferențierea adipocitelor și conținutul de lipide în cultura de celule. Berberina, epiberberina, coptizina, palmatina și magnoflorina au diminuat esențial acumularea de lipide în cultura de celule fără a afecta viabilitatea celulară într-o manieră dependentă de concentrație. Alcaloizii au redus semnificativ nivelele de expresie ale mai multor gene marker ale adipocitelor, precum receptorul- γ activat de proliferare (PPAR- γ) și au inhibat adipogeneza într-o manieră dependentă de doză datorită abilităților lor de a regla prin mecanism feedback negativ nivelele proteinelor marker ale adipocitelor. Astfel, s-a concluzionat, că extractul din *Rhizoma Coptidis* și alcaloizii puri pot prezenta interes terapeutic în tratamentul obezității [24, 25].

Datele prezentate ne permit de a concluziona, că extractele din rostopască și alcaloizii izochinolinici, inclusiv coptizina, manifestă efect hipolipemiant relevat prin capacitatea de a micșora nivelul colesterolului total, lipoproteinelor cu densitate mică, trigliceridelor și de a majora pe cel al lipoproteinelor cu densitate mare. Acest efect se realizează prin micșorarea

sintezei, creșterea utilizării și excreției colesterolului datorită următoarelor mecanisme: suprimarea expresiei HMGCo-A-reductazei; creșterea expresiei proteinei LDL-receptorilor și colesterol-1-alfa-hidroxilazei.

Acțiunea hipoglicemiantă

Medicina tradițională chineză din cele mai vechi timpuri a recomandat o gamă variată de plante medicinale, precum *Rhizoma Coptidis*, *Cinnamomum cassia*, *Astragalus membranaceus*, *Herba Gynostemmatis*, *Radix Puerariae Lobatae*, *Folium Mori*, *Semen Trigonellae* etc. în tratamentul diabetului zaharat și a complicațiilor sale. *Rhizoma Coptidis* a fost utilizată pentru tratamentul diabetului zaharat datorită proprietăților sale de scădere a nivelului glicemiei din sânge și beneficiilor terapeutice care sunt, în mare măsură, legate de alcaloizii acestora.

În studiile preclinice ale extractului din *Rhizoma Coptidis* Chen HY. et al. (2012), Chueh WH. et al. (2011, 2012) și Ma H. et al. (2016) s-au axat pe evaluarea efectului hipoglicemic al berberinei, coptizinei, palmatinei, jatrorrhizinei pe culturi de celule (HepG2) și șoricei cu diabet. Suplimentarea coptizinei în mediul de cultură a crescut consumul de glucoză de celulele HepG2. La șoricei s-a constatat micșorarea nivelului glicemiei și toleranța la glucoză [19, 27, 28, 94].

Studiul extractului din *Rhizoma Coptidis* a demonstrat că berberina, coptizina, palmatina și jatrorrhizina sunt principalii compuși bioactivi responsabili de efectele farmacologice. Acești alcaloizi au relevat activitate moderată de diminuare a nivelului glucozei, iar asocierea acestora a manifestat un efect sinergic și mai intens [19].

Axându-se pe screening-ul mai multor plante medicinale Zhou H. et al. (2014) a demonstrat că extractul din *Coptidis chinesis* a manifestat cea mai mare activitate de inhibare a alfa-glucozidazei, iar coptizina, epiberberina, jatrorrhizina, berberina și palmatina se consideră compuși capabili să interacționeze cu enzima respectivă. Aceste date argumentează posibilitatea utilizării preparatelor din rostopască în tratamentul diabetului zaharat [156].

Aldoreductaza reprezintă o enzimă cheie a căii poliolice de transformare a glucozei în sorbitol, substanță osmotic activă responsabilă de dezvoltarea complicațiilor tardive ale diabetului zaharat. Conform Gupta S. et al. (2014), diferite specii de plante s-au dovedit capabile *in vitro* și *in vivo* să inhibe aldoreductaza. Derivații de izochinolină (berberina, coptizina, palmatina și jatrorrhizina) au prezentat cea mai marcată activitate de a inhiba enzima respectivă. Studiul corelației dintre structura chimică și capacitatea de a lega aldoreductaza a demonstrat că grupele metilendioxi (hidrofobe) ale alcaloizilor se cuplează stabil cu situsul anionic (activ), iar grupele metoxil (polare) se leagă de situsul adiacent inelului de nicotinamidă a enzimei. Jung HA. et al. (2008) au înaintat ipoteza, iar Pang B. et al. (2015) au concluzionat mai târziu, că prezența structurii inelare a izochinolinei este cea mai importantă cerință pentru activitatea de

inhibare a aldoreductazei. Aceste studii au permis de a considera alcaloizii din rostopască utili pentru gestionarea complicațiilor tardive ale diabetului zaharat și deschide posibilități de a obține compuși sintetici inhibitori de aldoreductază) [52, 68, 105].

Extractul hidric și alcoolic din *Rhizoma Coptidis* și diferite fracții ale acestora au inhibat, în deosebi coptizina, diferențierea preadipocitelor. Concomitent s-a constatat că compușii au micșorat semnificativ concentrația glucozei în culturile adipocitelor cu ameliorarea rezistenței la insulină. În același timp nu s-a determinat acumulare de lipide și creștere în greutate. Aceste date, susțin Li J. et al. (2010), se consideră similare cu acțiunea rosiglitazonei și, posibil, sunt datorate sinergismului componentelor extractului din rostopască [83].

Coptizina poate exercita efecte benefice în diabetul zaharat prin creșterea activității insulinei și leptinei și inhibarea aldoreductazei. Prin analiza sistematică Cok A. et al. (2011), mai târziu Yue SJ. et al. (2017) au concluzionat, că izoflavonoidele din rostopască, prin influența asupra unor ținte implicate în metabolismul glucidic - transportorul glucozei (GLUT2), nitroxid sintazei inductibile (iNOS), receptorului 1 de eliberare a insulinei etc., pot stimula secreția de insulină, ameliora rezistența la insulină, favoriza utilizarea glucozei, regla citokinele inflamatorii și îmbunătăți metabolismul, manifestând astfel efecte curative sinergice și complementare în tratamentul diabetului zaharat [32, 152].

Li JC. et al. (2013) au constatat că extractul din *Rhizoma Coptidis*, la șobolani cu diabet experimental prin streptozotocină și dietă bogată în grăsimi, după 30 de zile de tratament a îmbunătățit toleranța la glucoză și toleranța la insulină, a diminuat glicemia postprandială și nivelele de hemoglobină glicozilată, a crescut nivelul insulinei și indicele de sensibilitate la insulină. Concomitent s-au ameliorat tulburările metabolismului lipidic (micșorat nivelul colesterolului total, trigliceridelor și acizilor grași liberi) și stresului oxidativ (creșterea semnificativă a activității superoxid dismutazei și a conținutului de glutatation, diminuarea nivelului speciilor reactive de oxigen, malondialdehidei și oxidului nitric). Chueh WH. et al. (2012) au relevat exprimarea scăzută a caspazei-3 în analiza imunohistochimică, fapt ce demonstrează despre efectul antiapoptotic al celulelor beta pancreatice [28, 84].

Rhizoma Coptidis, o componentă a multiplelor rețete antidiabetice, utilizată de către cercetătorii Chen G. et al. (2017) în doza de 2,05 g/kg/zi timp de 100 zile la șobolanii cu diabet experimental indus prin streptozotocină, a contribuit la ameliorarea toleranței la glucoză și insulină, eliberarea insulinei și funcției celulelor beta pancreatice cu restabilirea căilor de semnalizare a hormonului, creșterea expresiei receptorului insulenic, fosfatidilinozitol-3-kinazei și transportorului glucozei (GLUT4). Concomitent s-a constatat reducerea nivelului lipidelor serice și limitarea stresului oxidativ prin scăderea expresiei monoxidului de azot și dialdehidei

malonice și majorarea expresiei superoxid dismutazei și glutatión peroxidazei. Jiang YY. et al. (2017) sunt de părerea, că planta în întregime poate ameliora evoluția diabetului zaharat tip 2 prin îmbunătățirea funcției celulelor beta și reducerea rezistenței la insulină, iar Cui L. et al. (2016) îi atribuie un rol deosebit berberinei în evoluția maladiei [17, 34, 66].

Alcaloizii din *Rhizoma Coptidis*: berberina, epiberberina, magnoflorina și coptizina, au prezentat activități marcate de a inhiba proteina tirozin fosfatazei 1B și nitrarea proteinei tirozină mediată într-o manieră dependentă de doză [24].

Rhizoma Coptidis (10 g/kg), în diabetul zaharat de tip II experimental la șobolani (injectarea unei doze de streptozotocină) după tratamentul timp de 30 de zile, a scăzut semnificativ nivelul glucozei din sânge, colesterolului total și trigliceridelor. La animalele cu diabet s-au detectat și identificat doisprezece parametri semnificativ modificați în diabetul zaharat, iar după administrarea *Rhizoma Coptidis* s-au modificat 7 indici, iar normalizarea nivelului acidului L-ascorbic și acidului aminomalonice a fost asociată cu reglementarea stresului oxidativ. Astfel, s-a concluzionat că *Rhizoma Coptidis* ar putea prezenta efecte hipoglicemice și hipolipemice [65, 135].

Kim EK. et al. (2007) au demonstrat că extractul din *Rhizoma Coptidis* a stopat moartea celulelor apoptotice indusă de S-nitroso-N-acetilpenicilamină prin inhibarea perturbării potențiale a membranei mitocondriale și eliberării citocromului C în celulele de insulinom de șobolan. În același timp, extractul din rostopască a prevenit moartea beta-celulelor indusă de citokinele IL-1 beta și IFN-gamma într-o manieră dependentă de concentrație. Concomitent extractul a indus o supresie semnificativă a producției de oxid nitric cauzat de IL-1beta și IFN-gama, care a corelat cu nivelele reduse ale ARNm și proteinei nitricoxid sintazei inductibile. Mecanismul molecular, posibil, e determinat de inhibarea activării factorului nuclear NF-kappaB. Efectele protectoare ale extractului din *Rhizoma Coptidis* au fost confirmate prin expresia redusă de oxid nitric și nitricoxid sintazei inductibile și a răspunsurilor normale de secreție a insulinei la glucoză în insulele tratate cu IL-1 beta și IFN-gama [73].

Extractul din *Rhizoma Coptidis* a exercitat un efect antidiabetic prin inhibarea alfa-glucozidazei la concentrații medii de 3,528 mg/ml, iar screening-ul *in vitro* a demonstrat că alcaloizii coptizina, epiberberina, jatrorrhizina și berberina au manifestat acțiuni inhibitoare asupra enzimei respective. Efectele antidiabetice, în opinia lui Meng FC et al. (2018) pot fi îmbunătățite și prin inhibarea proteinei tirozin fosfatazei 1B de către berberină, epiberberină, magnoflorină și coptizină [98].

În baza analizei datelor prezentate putem conchide, că alcaloizii din rostopască, inclusiv coptizina, manifestă un efect hipoglicemiant prin: micșorarea nivelului glucozei în sânge;

ameliorarea toleranței la glucoză și insulină; creșterea eliberării și sensibilității la insulină; diminuarea conținutului hemoglobinei glicozilate; reducerea formării sorbitolului și dezvoltării complicațiilor diabetului; protejarea beta celulelor și amplificarea funcțiilor lor; restabilirea căilor de semnalizare a hormonului; creșterea expresiei receptorului insulenic și transportorilor glucozei; diminuarea stresului oxidativ; normalizarea metabolismului lipidic. Beneficiile descrise în reglarea metabolismului glucidic, posibil, sunt determinate de următoarele mecanisme: inhibarea alfa-glucozidazei cu reglarea scindării și absorbției glucidelor în intestin; diminuarea activității aldoreductazei cu preîntâmpinarea metabolizării glucozei pe calea poliolică cu formarea sorbitolului, responsabil de dezvoltarea complicațiilor tardive ale diabetului zaharat; expresia receptorului- γ activat de proliferare; stimularea secreției insulinei.

Acțiunea antioxidantă

În studiile *in vitro* Maji AK. et al. (2015) au demonstrat, că extractul din *Chelidonium majus* manifestă activitate antioxidantă, determinată de totalul de alcaloizi. Administrarea internă a extractului din diferite părți ale plantei s-a soldat cu captarea radicalilor liberi (hidroxil, peroxil), anionilor hipoclorit și superoxid, oxigenului singlet și peroxidului de hidrogen. Acțiunea antioxidantă este mediată de activarea factorului de transcripție cu reglarea activității enzimelor antioxidante majore – catalaza și mangan superoxid dismutaza [95].

Extractul din rădăcini de rostopască *in vitro* a demonstrat capacitatea de a capta mai marcat peroxinitritul (ONOO-), decât predecesorii săi oxidul nitric și anionul superoxid. În cercetările *in vivo* extractul în doze de 50 și 100 mg/kg/zi timp de 30 zile mai marcat a inhibat generarea de peroxinitrit, decât NO și superoxid anion. Yokozawa T. et al. (2004) au sugerat, că are loc captarea directă a peroxinitritului. Concomitent, extractul a atenuat diminuarea activității enzimelor antioxidante: superoxid dismutazei, catalazei, glutatión peroxidazei. Analizând fracțiile extractului, s-a determinat, că cea mai activă a fost fracția alcaloizilor constituită din berberină, palmatină și coptizină în vederea neutralizării peroxinitritului [148].

Extractul din *Rhizoma Coptidis* și alcaloizii puri (berberina, palmatina, jatrorrhizina, epiberberina, coptizina și groenlandicina) au manifestat proprietăți antioxidante prin inhibarea peroxinitritului și a speciilor reactive ale oxigenului la șobolani [65].

În studiile *in vitro* Cahlikova L. et al. (2010) și Zou C. et al. (2017) au relevat, că extractul din rostopască și alcaloizii separați au inhibat marcat glutatión-S-transferaza, acetilcolinesteraza, butirilcolinesteraza și, mai puțin, carboxilesteraza. Datele respective au fost confirmate și *in vivo* în cadrul cercetării efectului insecticid al alcaloizilor asupra larvelor de *Lymantria dispar*, fapt ce a demonstrat afectarea activității și transcripției ARNm a enzimelor detoxifiante și de protecție [6, 160].

Coptizina, în concentrații de 10 µg/ml, a redus semnificativ producerea de specii reactive ale oxigenului, peroxidării lipidelor și moartea celulară în stresul oxidativ experimental. Concomitent alcaloidul, în concentrații de 0,8 µg/ml, a diminuat nivelul speciilor reactive ale oxigenului, a crescut conținutul glutatationului și activitatea superoxid dismutazei și glutatation peroxidazei. Hu YR. et al. (2017) a concluzionat că, coptizina stimulează enzimele antioxidante de faza II NADPH chinon oxidaza 1 prin activarea căilor factorului 2 asociat cu factorul nuclear, protein kinazei B și jun kinazei terminale [61].

Pe modelul de esofagită de reflux, Kwon OJ. et al. (2016) a constatat, că alcaloizii din rostopască, inclusiv coptizina, au redus stresul oxidativ prin micșorarea formării speciilor reactive ale oxigenului și creșterea activității enzimelor antioxidante [79].

Conform relatărilor lui Chen G. et al. (2017) și Li JC. et al. (2013) extractul din *Rhizoma Coptidis*, la șobolanii cu diabet experimental indus prin streptozotocină, a contribuit la limitarea stresului oxidativ prin scăderea expresiei monoxidului de azot și dialdehidei malonice și majorarea expresiei superoxid dismutazei și glutatation peroxidazei cu creșterea semnificativă a activității superoxid dismutazei și a conținutului de glutatation, diminuarea nivelului speciilor reactive de oxigen [17, 84].

Nadova S. et al. (2008) au relatat că extractul din *Chelidonium majus* manifestă proprietăți antioxidante prin reglarea unui subgrup de proteine (FOXO3a) implicate într-un șir de funcții biologice, precum controlul ciclului celular, apoptoza, refacerea ADN și detoxicarea speciilor reactive ale oxigenului prin reglarea genelor. Autorii au constatat, că extractul din *Chelidonium majus* crește activitatea FOXO3a fie prin fosforilare sau acetilare, fie prin amplificarea activității translaționale a genelor enzimelor antioxidante. Aceste mecanisme sunt responsabile de neutralizarea speciilor reactive ale oxigenului [103].

Kaufmann D. et al. (2016) și Meng FC. et al. (2018) relevă efecte pozitive neuroprotectoare, obținute la administrarea extractelor de *Rhizoma Coptidis*, împotriva stresului oxidativ în celulele neuroblastomului uman și în modelele de boală Parkinson. Extractele metanolic și hidric au prezentat o activitate inhibitoare a acetilcolinesterazei la concentrații de 0,031 µg/ml și 2,5 µg/ml respectiv, iar Friedemann T. et al. (2015; 2016) au stabilit rolul coptizinei în prevenirea sau îmbunătățirea neuropatiei diabetice și a tulburărilor neurovegetative [44, 45, 70, 98].

În studii experimentale Meng FC. et al. (2018) au constatat, că extractul etanolic de 70% din *Rhizoma Coptidis* a manifestat un efect analgezic prin inhibarea eliberării serotoninei și a exprimării colecistokininelor în colonul distal al șobolanilor. După tratamentul cu un extract

hidric din *Rhizoma Coptidis* s-a redus conținutul dialdehidei malonice și s-a majorat activitatea superoxid dismutazei în piele și ser la șobolanii cu leziuni cutanate induse de radiații [98].

Tinctura de *Chelidonium majus*, sub formă de produs homeopatic, s-a dovedit eficientă împotriva hepatotoxicității, induse de cadmiu, în celulele HepG2 și în modelele hepatocitelor primare de șobolan, cu un efect similar cu *Silybum marianum*. Mecanismele presupuse ale activității hepatoprotectoare au fost datorate ameliorării stresului oxidativ - inhibării peroxidării lipidelor, fixării speciilor intracelulare reactive de oxigen, majorării nivelului glutatationului redus [159], precum și diminuării simptomelor apoptozei (fragmentarea nucleului, eliberarea citocromului C, activarea caspazei 3 [108]. Hepatotoxicitatea cauzată de cadmiu a fost, de asemenea, ameliorată *in vivo* la șoareci și *in vitro* în culturi de hepatocite. S-a constatat ameliorarea tabloului histopatologic a ficatului, restabilirea activității ALAT, AsAT și fosfatazei alcaline la nivelele animalelor intacte. Mecanismele presupuse ale hepatoprotecției, conform Nouredini SK. et al. (2009), se atribuie atenuării stresului oxidativ (diminuării peroxidării lipidelor) și îmbunătățirii stării antioxidante (majorării nivelului glutatationului redus și activității superoxid dismutazei și catalazei) și ameliorării markerilor de distrugere a celulelor și inflamației (nivel scăzut al proteinei TNF- α , IL-6, NF κ B, p65, cas-3, iNOS) [104, 159].

În baza analizei datelor prezentate putem conchide, că activitatea antioxidantă a extractului din rostopască și a alcaloizilor constituenți, inclusiv coptizinei, se poate realiza prin: captarea radicalilor liberi ai oxigenului și azotului; majorarea activității și expresiei enzimelor antioxidante; reglarea factorilor de transcripție responsabili de neutralizarea stresului oxidativ; refacerea rezervelor de substraturi antioxidante [33, 61, 68, 7995, 105, 134, 148, 160].

Acțiunea asupra sistemului imun

Studiile *in vitro* pe macrofage de șoricea au demonstrat capacitatea alcaloizilor din rostopască, inclusiv a coptizinei, de a majora activitatea macrofagelor peritoneale prin modificarea conformațională a proteinelor membranare ale acestora și îmbunătățirea activității respiratorii și fagocitare a macrofagelor [46, 95, 154].

În studiile clinice s-a constatat, că tinctura din *Chelidonium majus* a influențat rezistența nespecifică, imunitatea umorală și celulară și a diminuat numărul de recurențe ale tonsilitei la copii [46].

Meng FC. et al. (2018) afirmă, că *Rhizoma Coptidis* poate spori imunitatea prin activarea celulelor MOLT-4 și a celulelor T helper de tip I, crescând producerea de citokine T de tip T helper, inclusiv IFN- γ , IL-1 β , IL-2 și IL-6, precum și prin activarea căilor de semnalizare ale protein kinazei activate de mitogen (MAPK) [98].

Acțiunea antitumorală

Efectul potențial antiploriferativ al extractului de rostopasca a fost supus unui studiu *in vitro* pe linii de celule keratocite (celule HaCaT) cu înmulțire rapidă. Alcaloidul în concentrație de 0,68%, estimat în chelidonină a inhibat creșterea celulelor HaCaT cu o valoare IC_{50} de 1,9 $\mu\text{mol/l}$. Valorile IC_{50} pentru sanguinarina, chelitrina și chelidonina au constituit 0,3; 3,2 și 3,3 $\mu\text{mol/l}$. Activitatea citotoxică a chelidoninei, sanguinarinei și berberinei a fost testată și pe culturi de celule HeLa, observându-se o acțiune inhibitoare semnificativă. Bing L. et al (2011) au stabilit, că berberina inhibă dezvoltarea celulelor *PloS One* a hepatomei fără acțiune citotoxică asupra hepatocitelor sănătoase, iar Jin H. et al. (2017) a propus ipoteza, conform căreia berberina poate genera proprietate anti-osteosarcomă prin reglarea axei de semnalizare inflamatorie caspază 1 ($IL-1\beta$). La X. et al. (2017) a raportat despre capacitatea berberinei de a induce moartea autofagă a celulelor canceroase prin creșterea nivelului CRP 78 în aceste celule [4, 67, 80].

Cao Q. et al. (2018) au testat acțiunea citotoxică a coptizinei pe celule MFG-E8 în cancerul colorectal, iar Chai FN. et al. (2018) au demonstrat efectul coptizinei împotriva carcinomului hepatocelular prin supresia celulelor miR-122. Huang T. et al. (2017) au studiat activitatea antitumorală pe șoareci a coptizinei și rezultatele obținute au sugerat, că coptizina ar putea fi utilizată în cancerul de colon legat de celulele HCT-166 prin suprimarea creșterii tumorii și reducerii riscului metastaziei cancerului prin inhibarea căii RAS-ERK *in vivo* [7, 14, 62].

Efectul antitumoral a fost demonstrat *in vivo* și pe linii de celule sarcom 180 și carcinom Erlich, observându-se o ușoară activitate inhibitoare. A fost demonstrat (Havelek R., 2016; Krocova E. et al., 2016) faptul, că un extract din rostopasca conținând chelidonina are proprietatea de a anula în cazul mai multor linii celulare canceroase, proprietatea celulelor maligne de a-și dezvolta o rezistență la tratamentul medicamentos, prin interacțiunea cu: transportorii ABC, CYP3A4 și GST [55, 77], prin inducerea apoptozei și efectelor citotoxice [35, 78, 103]. Acțiunea chelidoninei a fost testată *in vitro* pe linii de celule HepG2 asupra cărora chelidonina are o acțiune de apoptoza după 24 de ore. În timp real datele analizate au arătat faptul că expresia liniei celulare PGP a crescut de aproximativ trei ori în cazul celulelor HepG2 tratate cu chelidonina în comparație cu celulele de control netratate (Capistrano IR. et al., 2015; Li Y. et al., 2017; Pașca D.I., 2013). De asemenea activitatea telomerasei a fost redusă semnificativ după administrarea unor doze foarte mici de chelidonină. Tratarea repetată a celulelor cu doze foarte mici de chelidonină a cauzat o scădere a ratei de creștere de patru săptămâni [10, 85, 107].

1.4. Sinteza capitolului 1

Studiul bibliografic realizat arată că, tot mai mulți cercetători științifici sunt interesați, în ultimii ani, în cunoașterea proprietăților farmacologice și toxicologice ale extractului sau alcaloizilor din *Rhizoma Coptidis*, studiată pe larg în China și țările asiatice și frecvent utilizată în medicina chineză. Rostopasca este o plantă autohtonă binecunoscută, similară după conținutul de alcaloizi și efectele farmacologice, dar puțin studiată în Republica Moldova.

Cercetând sursele bibliografice am stabilit, că rezultatele studiului toxicității acute și cronice ale extractului și alcaloizilor din rostopască, prezintă date controversate, iar DL_{50} oscilează într-un diapazon mare de doze.

De asemenea, datele din literatura de specialitate indică faptul că extractele din rostopască și numărul de alcaloizi puri au o biodisponibilitate relativ mică, aceasta fiind influențată de activitatea glicoproteinei P în intestin, metabolizarea la nivel hepatic cu participarea izoenzimelor CYP2D6, CYP 1A2 și formarea metaboliților inactivi. Alcaloidul coptizina s-a dovedit a fi un substrat pentru glicoproteina P și CYP2D6, manifestând capacități de inhibare a izoenzimei respective cu modificarea parametrilor farmacocinetici și toxicologici ai altor alcaloizi.

Conform datelor literaturii, extractele și sumarul de alcaloizi din *Chelidonium majus L.* exercită acțiune hepatotropă controversată, explicată prin accentuarea proprietăților hepatoprotectoare ale extractului din rostopască și potențarea acțiunii hepatotoxice la asocierea unor alcaloizi cu proprietăți similare (de ex.: berberina, coptizina).

Analiza mai multor surse bibliografice de specialitate indică faptul că, extractele și compușii izolați din rostopască și *Rhizoma Coptidis* posedă un spectru farmacologic larg, incluzând diverse efecte benefice. De exemplu, activitatea antiinflamatoare a extractului din *Chelidonium majus L.* și a alcaloizilor constituenți, inclusiv a alcaloidului coptizina, este realizată prin: atenuarea producerii de prostaglandine și citokine proinflamatorii (PGE_2 , IL-1 beta, IL-6, TNF-alfa); inhibarea căii lipooxigenazice de metabolizare a acidului arahidonic; suprimarea activității factorului nuclear-kappa B (NF-kB) și căilor de semnalizare prin factorul nuclear; modularea imunității umorale și celulare; activitatea antioxidantă.

În opinia cercetătorilor, acțiunea antioxidantă a alcaloidului coptizina, posibil, este determinată de: captarea radicalilor liberi ai oxigenului și azotului; majorarea activității și expresiei enzimelor antioxidante; reglarea factorilor de transcripție responsabili de neutralizarea stresului oxidativ; refacerea rezervelor de glutatation.

Alcaloizii din rostopască, inclusiv coptizina, manifestă acțiune hipoglicemică prin: inhibarea alfa-glucozidazei cu reglarea scindării și absorbției glucidelor în intestin; diminuarea

activității aldoreductazei cu preîntâmpinarea metabolizării glucozei pe calea poliolică și formarea sorbitolului, responsabil de dezvoltarea complicațiilor tardive ale diabetului; expresia receptorul- γ activat de proliferare; stimularea secreției insulinei.

Din sursele bibliografice studiate am stabilit, că extractele și alcaloizii din *Rhizoma Coptidis* exercită acțiune hipolipemiantă prin: micșorarea sintezei, creșterea utilizării și excreției colesterolului datorită mecanismelor de suprimare a expresiei HMGCo-A-reductazei; creștere a expresiei proteinei LDL-receptorilor și colesterol-1-alfa-hidroxilazei.

Executând sumarul studiului bibliografic, am ajuns la concluzia, că este benefică cercetarea preclinică a spectrului toxicologic și farmacologic al alcaloidului coptizina, sub formă de bisulfat, obținut din materie primă autohtonă, care nu a fost studiat până în prezent (există date despre alcaloidul coptizina sau clorura de coptizină), și despre care nu am întâlnit date în literatura științifică analizată, având în vedere efectele farmacologice benefice vaste și importanța farmacoeconomică.

2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

Pentru realizarea scopului și obiectivelor lucrării a fost proiectat un studiu experimental preclinic, comparativ și prospectiv complex ce include cercetări toxicologice, farmacocinetice și farmacodinamice ale coptizinei bisulfat (obținute în cadrul Centrului Științific în Domeniul Medicamentului, de către conferențiarul cercetător I. Casian și A. Casian) [11, 12]. Cercetările au fost efectuate în conformitate cu cerințele Comitetului de Etică a Cercetării, ce țin de controlul și supravegherea experimentelor pe animale de laborator.

Selectarea metodelor de cercetare s-a efectuat conform obiectivelor lucrării: determinarea toxicității acute și cronice a coptizinei bisulfat cu aprecierea influenței alcaloidului cercetat asupra parametrilor hematologici, biochimici și hepatici la animalele de laborator, determinarea influenței coptizinei bisulfat asupra evoluției hepatitei toxice acute induse experimental, studierea acțiunii hepatoprotectoare a coptizinei bisulfat prin evaluarea indicilor hepatici la administrarea ei în diferite doze și în comparație cu substanța de referință, studierea aspectelor de biodisponibilitate a coptizinei bisulfat și aprecierea influenței alcaloidului asupra indicilor biochimici ai ficatului la utilizare îndelungată.

Studiile preclinice ale coptizinei bisulfat au fost organizate și efectuate la:

- Catedra de farmacologie și farmacie clinică a IP USMF "Nicolae Testemițanu".
- Laboratorul de biochimie al IP USMF "Nicolae Testemițanu".
- Centrul Științific în Domeniul Medicamentului a IP USMF "Nicolae Testemițanu".
- Vivariul IP USMF "Nicolae Testemițanu".

Protocolul cercetării preclinice a fost înaintat spre aprobare Comitetului de Etică a Cercetării din cadrul Universității de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu" și în data de 26 martie 2012 a fost obținut aviz favorabil.

2.1. Metoda de obținere a coptizinei bisulfat

Procedeul de obținere a coptizinei bisulfat este constituit din obținerea extractului din părțile aeriene ale produsului vegetal de rostopască (*Chelidonium majus L.*), tratarea ulterioară a lui cu acid sulfuric concentrat și obținerea unui extract cu randament de nu mai puțin de 80% bisulfat de coptizină asociat cu sulfați neorganici și alți alcaloizi până la 5%, purificarea și obținerea coptizinei bisulfat fără impurități. Analiza produsului vegetal, a extractelor și sărurilor de coptizină s-a efectuat utilizând cromatograful de lichide Jasco seria LC-2000, dotat cu detector UV cu șir de diode (DAD) [12].

Obținerea extractului de rostopască. În extractor se încarcă, bătătorindu-se ușor, circa 0,5 kg de părți aeriene de rostopască uscată și fragmentată. Extracția se efectuează cu alcool

etic de 80% la temperatura de 70-75°C și viteza de alimentare de 500-700 ml/oră până la obținerea a 1,8-2,0 litri de extract primar. Apoi, alcoolul se recuperează din șrot cu vapori de apă. Plenitudinea extracției coptizinei constituie circa 60%. Se obține extractul fluid, ce conține 0,7-1,1 g/L coptizină (în dependență de calitatea materiei prime) și circa 77% etanol [12].

Obținerea bisulfatului de coptizină. La extractul obținut se adaugă, amestecând intensiv, acid sulfuric concentrat până la pH-ul 3,0-3,5 (se controlează prin metoda potențiometrică). Extractul se lasă pentru coagulare și sedimentare timp de 16-24 de ore la temperatura de +2 – +8°C, apoi se filtrează sau centrifughează timp de 5-10 min. la accelerarea de 500-1000 g. Prin aceasta, din extract se elimină o parte semnificativă de substanțe balast. La filtrat (sau centrifugat) se adaugă, amestecând intensiv, acid sulfuric concentrat până la pH-ul 1,0-1,2 (potențiometric) și se lasă pe 12-18 ore la temperatura camerei pentru cristalizarea coptizinei în formă de bisulfat. Cea mai mare parte de lichid se decantează, iar precipitatul se separă pe filtru de sticlă cu porozitate medie, se spală cu 10-15 ml de alcool etilic de 80%, după care cu 10-12 ml de apă, apoi cu 20-30 ml de alcool etilic de 96% și se usucă la temperatura de 40-50°C. Se obține 1,2-1,7g bisulfat de coptizină (în dependență de calitatea materiei prime). Randamentul coptizinei la etapa dată este de circa 75% de la valoarea teoretică. Alcoolul etilic din extractul epuizat și lichidele de spălare se recuperează prin rectificare și pot fi utilizate repetat la extracția produsului vegetal [12].

Caracteristica produsului nepurificat de bisulfat de coptizină. Produsul obținut prezintă o pulbere cristalină de culoare galben-portocaliu până la portocaliu-închis, fără miros, cu gust amar, care conține nu mai puțin de 80% bisulfat de coptizină și sulfați neorganici în calitate de substanțe înrudite de bază. Substanța mai conține și alți alcaloizi (chelidonină, sanguinarină și berberină), extrași din materia primă, conținutul sumar al cărora nu depășește 5%. Substanța este puțin solubilă în apă (circa 1:1000), foarte puțin solubilă în alcool etilic de 96% și alți solvenți organici polari, practic insolubilă în solvenți organici nepolari, precum cloroformul, hexanul ș.a. Soluțiile apoase au valoarea pH-ului de circa 2,0 și sunt opalescente, iar la păstrare se formează un precipitat neînsemnat sub forma de fulgi, care conține proteine și polizaharide, extrase din materia primă vegetală și denaturate sub acțiunea concomitentă a alcoolului și acidului concentrat. Pierderea de masă prin uscare la temperatura de 105-110°C este cel mult de 2,5% (produsul nu conține apă cristalină), iar reziduul prin calcinare depinde de calitatea materiei prime vegetale și poate atinge 15%. Punctul de topire nu poate fi determinat, pentru că la încălzire substanța se descompune treptat în intervalul de temperatură de aproximativ 280-350°C, fără topire [12].

Obținerea bisulfatului de coptizină purificat. Pentru aceasta, 1,5 g de bisulfat de

coptizină și 0,28 g de hidrogenocarbonat de sodiu se dizolvă în 200 ml de apă, încălzită până la temperatura de 60°C. După răcire până la temperatura camerei, soluția se filtrează prin filtru de hârtie (panglica albastră), apoi se încălzește până la 60°C și se adaugă 3 ml de acid sulfuric 9 Mol/l. La răcirea soluției până la temperatura camerei, se formează un precipitat cristalin, care se separă pe filtru de sticlă cu porozitatea medie, se spală cu 10-12 ml de apă, apoi cu 20-30 ml de alcool etilic de 96% și se usucă la temperatura de 40-50°C. Se obține circa 1,2 g de bisulfat de coptizină purificat. Produsul obținut prezintă o pulbere cristalină de culoare galben-portocaliu, este puțin solubil în apă, cu formarea soluțiilor transparente. Substanța nu conține practic sulfați neorganici și impurități organice de origine străină, însă conține până la 3-4% săruri neutre (sulfat de coptizină) din cauza pierderii parțiale a ionilor de hidrogen la spălarea produsului.

Procedeul elaborat este mai simplu, mai econom cu obținerea bisulfatului de coptizină, convenabil din punct de vedere farmacocinetic și de cercetare a unor acțiuni farmacodinamice, precum și implementarea acestei substanțe în industria farmaceutică [12].

2.2. Animalele de laborator

În cadrul realizării cercetărilor preclinice s-a stabilit de a folosi în experimente 2 tipuri de animale de laborator (conform recomandărilor metodice de cercetare experimentală a substanțelor farmacologice – șoareci și șobolani [170, 175]. Șoareci au fost întrebuințați în cercetarea preclinică a toxicității acute a coptizinei bisulfat și a concentrațiilor hepatice, biliare și intestinale a alcaloidului cercetat.

Ca animale de laborator, șoarecii sunt folosiți pe larg pentru cercetarea toxicității și proprietăților farmacologice ale medicamentelor, fiind înrudiți după indicii hematologici și biochimici cu cei umani. De asemenea, spre deosebire de șobolani, șoarecii posedă veziculă biliară, fapt ce a argumentat utilizarea lor în procesul cercetării unor aspecte ale biodisponibilității coptizinei bisulfat [128].

Șobolanii au fost utilizați în cercetarea toxicității acute și cronice, în determinarea concentrațiilor plasmatice și hepatice a coptizinei bisulfat, în modelarea hepatitei toxice acute, în cercetarea acțiunii hepatoprotectoare a substanțelor, precum și pentru determinarea proprietăților gastroprotectoare și regenerative ale coptizinei bisulfat. Argumentarea folosirii șobolanilor în experiențe se bazează pe faptul, că ei sunt pe larg utilizați în cercetările toxicologice, biochimice și farmacologice a unor substanțe medicamentoase noi, datorită rezistenței sporite față de diverși factori nocivi, inclusiv și infecțioși, posedă masă corporală mică, se înmulțesc rapid și nu necesită condiții specifice de întreținere; de asemenea sunt înrudiți după indicii hematologici și biochimici cu cei umani [128].

Reieșind din cele expuse, au fost selectate aceste 2 specii de animale de laborator în cadrul cercetărilor efectuate.

Studiile experimentale au fost realizate pe 373 șobolani albi de laborator fără pedigriu, de ambele sexe, cu masa corporală de 150-240 g, vârsta de aproximativ 3 luni și 148 șoareci albi de laborator fără pedigriu, de ambele sexe, cu greutatea de 16-26 g și vârsta de 2-2,5 luni.

Animalele de laborator nu au fost incluse în alte cercetări preclinice până la momentul demarării studiului. Ele au fost crescute și întreținute în vivariul IP USMF "Nicolae Testemițanu". Până la includerea în experiențe, animalele au fost izolate timp de 2 săptămâni pentru aclimatizare în laboratorul de experiență și menținute în condiții de viață și alimentare standarte, ce corespundeau cerințelor sanitaro-igienice de întreținere în vivariu: umiditatea relativă a aerului a fost în limitele de 40-60%, temperatura mediului constantă de $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$, iluminarea artificială a asigurat o secvență de 12 ore întuneric și 12 ore lumină. În alimentație s-au folosit produsele necesare speciei de animale, iar pentru asigurarea cu apă au fost instalate auto-apeducte. Starea de sănătate a animalelor a fost monitorizată zilnic.

În dimineața zilelor de demarare a experiențelor, șobolanii și șoarecii erau cântăriți și repartizați în loturi omogene care includeau numărul minim necesar de animale pentru veridicitatea prelucrării statistice a datelor conform cerințelor metodologice ale studiilor.

În registru au fost notate zilele și orele debutului experiențelor, loturile de animale și dozele corespunzătoare administrate pentru fiecare experiență în parte. Animalele erau private de hrană și apă cu 12 ore înainte de inițierea experiențelor și până la 4 ore după administrarea substanțelor cercetate.

Pe parcursul experiențelor în fiecare zi se monitorizau și înregistrau parametrii generali: greutatea, comportamentul animalelor, particularitățile de alimentare și utilizare a apei de către animalele testate. În funcție de obiectivele studiilor, de asemenea, au fost colectate și cercetate macroscopic organele necesare (stomac, ficat etc.).

2.3. Determinarea toxicității coptizinei bisulfat

Pentru stabilirea inofensivității preclinice a bisulfatului de coptizină a fost determinat gradul de toxicitate al ei. Cercetările în cauză au fost efectuate conform cerințelor *Ghidului experimental (preclinic) pentru cercetarea substanțelor farmacologice noi* (Хабриев Р.М., 2005) și a *Ghidului pentru cercetări preclinice a remediilor medicamentoase* (Миронов А.Н., 2012). Volumul total al soluției de coptizină bisulfat a fost stabilit în funcție de cantitatea de lichid maxim admisibilă pentru administrarea enterală și intraperitoneală conform ghidurilor nominalizate: per os – câte 3-5 ml soluție pentru șobolani și până la 1-2,5 ml soluție pentru

șoareci; intraperitoneal – câte 1 ml soluție pentru șoareci [170, 175].

Inocuitatea substanței cercetate (însușirea agentului chimic de a nu prezenta pericol pentru organism) a fost evaluată prin studiul toxicității acute și cronice cu stabilirea dozelor limitelor de siguranță (DL_0 ; DL_{50} ; DL_{100}).

Doza maximă tolerată (DL_0) reprezintă doza cea mai mare la care nu survine decesul nici a unui animal din loturile experimentale.

Doza medie letală (DL_{50}) reprezintă doza, la administrarea căreia survine decesul a 50% din animalele supuse experimentului.

Doza letală 100 (DL_{100}) reprezintă doza cea mai mică care provoacă decesul tuturor animalelor de laborator (100%) [39].

Aprecierea gradului de toxicitate a substanței cercetate a fost evaluată conform recomandărilor OMS și clasificării după Hodge HC. et al. (2008) și Derelanco MG. et al. (2014) (tab. 2.1.) [37, 59].

Tabelul 2.1. Aprecierea gradului de toxicitate [59]

Gradul de toxicitate	Termin	LD_{50} unică la șobolani (mg/kg)
1	Extrem de toxic	<0,1
2	Toxicitate înaltă	0,1-50
3	Toxicitate moderată	5-50
4	Puțin toxic	50-500
5	Practic netoxic	500-1500
6	Relativ inofensiv	>1500

Toxicitatea cronică constă în administrarea repetată a substanței cercetate pe o anumită cale de administrare, se recomandă calea preconizată de administrare a substanței cercetate la om, în doze de la minimă până la maximă tolerate și în raport cu doza preconizată de administrare la om. Durata administrării la animalele incluse în studiu se stabilește, de asemenea în dependență de durata preconizată pentru administrare la pacient [39, 128].

2.3.1. Studiul toxicității acute

Toxicitatea acută a fost determinată prin administrarea Copizinei bisulfat pe două căi: intraperitoneală la șoareci și enterală la șoareci și șobolani.

Toxicitatea acută la administrarea intraperitoneală la șoareci

Coptizina bisulfat a fost injectată în doze unice la șoareci. Animalele au fost repartizate în 7 loturi a câte 10 indivizi (5 femele și 5 masculi).

Volumul soluțiilor a fost stabilit în funcție de cantitatea de lichid maxim admisibilă pentru administrarea intraperitoneală, iar diluțiile substanței cercetate au fost efectuate până la concentrațiile maxim posibile pentru administrare.

Coptizina bisulfat a fost diluată în volume constante maxim admisibile și administrată în doze succesive pentru fiecare lot aparte: lotul I - 25 mg/kg; II - 35 mg/kg; III - 45 mg/kg; IV - 55 mg/kg; V - 65 mg/kg; VI - 75 mg/kg; VII - 95 mg/kg. Animalele au fost supuse observărilor permanente timp de 24 de ore, cu înregistrarea comportamentului, particularităților de alimentare și utilizare a apei. Ulterior animalele au fost supuse observărilor zilnice pe parcursul a 14 zile prin monitorizarea vizuală a stării generale, comportamentului, intensității și caracterului activității motorii, frecvenței și ritmicității respirației, stării pielii și blănii, devierilor în masa corporală (verificarea masei corporale o dată la 3 zile), timpul dezvoltării semnelor de intoxicație și decesului.

Toxicitatea acută la administrarea perorală la șoareci

Soluția de coptizină bisulfat a fost administrată unimomentan prin sonda atraumatică. Animalele au fost repartizate în 6 loturi a câte 10 indivizi (5 femele și 5 masculi).

Volumul soluțiilor a fost stabilit în funcție de cantitatea de lichid maxim admisibilă pentru administrarea perorală, iar diluțiile substanței cercetate au fost efectuate până la concentrațiile maxim posibile pentru administrare.

Coptizina bisulfat a fost diluată în volume constante maxim admisibile și administrată în doze succesive pentru fiecare lot aparte: lotul I - 100 mg/kg; II - 150 mg/kg; III - 170 mg/kg; IV - 200 mg/kg; V - 350 mg/kg; VI - 400 mg/kg. Animalele au fost supuse observărilor permanente timp de 24 de ore, cu înregistrarea comportamentului, particularităților de alimentare și utilizare a apei. Mai apoi animalele au fost supuse observărilor zilnice pe parcursul a 14 zile prin monitorizarea vizuală a stării generale, comportamentului, intensității și caracterului activității motorii, stării pielii și blănii, devierilor în masa corporală (verificarea masei corporale o dată la 3 zile), timpul dezvoltării semnelor de intoxicație sau instalarea decesului [119].

Toxicitatea acută la administrarea perorală la șobolani

Soluția de coptizină bisulfat a fost administrată unimomentan intragastral prin sonda atraumatică la șobolani albi fără pedigree. Animalele au fost repartizate în 8 loturi a câte 10 indivizi (5 femele și 5 masculi).

Volumul soluțiilor a fost stabilit în funcție de cantitatea de lichid maxim admisibilă pentru administrarea perorală, iar diluțiile substanței cercetate au fost efectuate până la concentrațiile maxim posibile pentru administrare.

Coptizina bisulfat a fost diluată în volume constante maxim admisibile și administrată în doze succesive pentru fiecare lot aparte: lotul I - lotul martor; II - 25 mg/kg; III - 100 mg/kg; IV - 400 mg/kg; V - 800 mg/kg; VI - 1200 mg/kg; VII - 2000 mg/kg și VIII - 2600 mg/kg. Animalele au fost supuse observărilor permanente timp de 24 de ore, cu înregistrarea

comportamentului, particularităților de alimentare și utilizare a apei. Mai apoi animalele au fost supuse observărilor zilnice pe parcursul a 14 zile prin monitorizarea vizuală a stării generale, comportamentului, intensității și caracterului activității motorii, frecvenței și ritmicității respirației, stării pielii și blănii, devierilor în masa corporală (verificarea masei corporale o dată la 3 zile), timpul dezvoltării semnelor de intoxicație și decesului.

După perioada de observare (de 14 zile) animalele au fost eutanaziate și recoltat sângele cu studiul parametrilor hematologici generali (*hemoglobină, eritrocite, leucocite, trombocite, hematocrit, neutrofile nesegmentate, neutrofile segmentate, limfocite, viteza de sedimentare a hematiilor*), indicilor biochimici (*glucoza, proteina totală, albumina, ureea, creatinina, trigliceride, colesterolul total, beta-lipoproteine*) și indicilor hepatici (*bilirubina totală, bilirubina directă, bilirubina indirectă, AsAT, ALAT, raportul AsAT/ALAT (coeficientul Ritis), fosfataza alcalină, lactatdehidrogenaza, gamaglutamiltranspeptidaza (GGTP)*).

Analizele sus menționate au fost determinate în Laboratorul de biochimie a LCCȘ a IP USMF "Nicolae Testemițanu".

2.3.2. Studiul toxicității cronice

Pentru cercetarea toxicității cronice soluțiile cu coptizină bisulfat au fost administrate intragastral prin sonda atraumatică la șobolani albi fără pedigree. Studiul a fost efectuat în incinta laboratorului pentru experiențe din cadrul vivariului IP USMF "Nicolae Testemițanu". În experiență au fost incluși 60 șobolani, repartizați în 6 loturi a câte 5 masculi și 5 femele, cu masa corporală de la 160 până la 200 g. Dozele coptizinei bisulfat au fost stabilite reieșind din datele toxicității acute, de la 2,5 mg/kg (aproximativ 1/1000 din doza maximă tolerată) până la 250 mg/kg (1/10 din doza maximă tolerată). Durata administrării substanței cercetate la animalele de laborator a fost stabilită în funcție de durata preconizată administrării la om, conform regulamentului Comitetului Farmacologic de Stat al MS al Federației Ruse (tab. 2.2).

Tabelul 2.2. Raportul administrării substanțelor cercetate la animalele de laborator în funcție de durata preconizată de utilizare la om [170, 175]

Durata administrării la om	Durata experimentării toxicității cronice
Administrare unimomentană	5 – 7 zile
2 – 6 zile	14 zile
7 – 14 zile	1 lună
15 – 30 zile	2 – 4 luni
1 – 6 luni	6 – 12 luni

Conform tabelului 2.2 și duratei preconizate utilizării coptizinei bisulfat la om, durata

administrării la animalele de laborator a soluțiilor cu substanța cercetată a fost stabilită de 30 zile.

Coptizina bisulfat a fost diluată cu soluție fiziologică de 0,9% și a fost administrată zilnic la aceeași oră în doze succesive pentru fiecare lot aparte: lotul I – 2,5 mg/kg; II - 5 mg/kg; III - 10 mg/kg; IV - 25 mg/kg; V - 250 mg/kg. Lotul VI – a servit drept lot martor, fiind administrată soluția fiziologică de 0,9 % fără substanța cercetată.

Soluțiile au fost introduse intragastral, zilnic la aceeași ora, pe stomacul gol al șobolanilor, fiind privați de alimente și apă cu 12 ore înainte și timp de 4 ore după administrarea coptizinei bisulfat și soluției fiziologice la animalele de control. Pe parcurs animalele au fost întreținute conform cerințelor de alimentare și asigurare cu apă stabilite în vivariu.

Pe durată experienței șobolanii au fost supuși supravegherii zilnice cu monitorizarea vizuală a stării generale, comportamentului, intensității și caracterului activității motorii, frecvenței și ritmicității respirației, stării pielii și blănii, devierilor în masa corporală (verificarea masei corporale o dată la 3 zile).

După 30 zile, șobolanii au fost eutanaziați și colectat sângele pentru investigarea indicilor *biochimici* (*glucoza, proteina totală, albumina, ureea, creatinina, trigliceride, colesterolul total, beta-lipoproteine*) și indicilor *hepatici* (*bilirubina totală, bilirubina directă, bilirubina indirectă, AsAT, ALAT, raportul AsAT/ALAT (coeficientul Ritis), fosfataza alcalină, lactatdehidrogenaza, gamaglutamiltranspeptidaza (GGTP)*). Analizele sus menționate au fost determinate în Laboratorul de biochimie a LCCȘ a IP USMF "Nicolae Testemițanu". Eutanazierea animalelor a fost efectuată prin inhalarea soluției de eter, conform protocolului cercetării avizat de către Comitetul de Etică a Cercetării a IP USMF "Nicolae Testemițanu".

Ulterior a fost efectuat studiul macroscopic al organelor interne (inimă, pulmoni, ficat, rinichi, pancreas, mucoasa tubului digestiv) a animalelor eutanaziate cu evidențierea posibilelor schimbări morfologice survenite. Rezultatele obținute au fost documentate în registrul respectiv, sigilate și ștampilate.

2.4. Metodele de studiu a biodisponibilității coptizinei bisulfat

Conform recomandărilor metodice, la baza cercetărilor farmacocinetice stă determinarea concentrației substanței active în sânge sau organe la diverse intervale de timp de la administrarea ei în doze cunoscute, pe diverse căi de administrare [128, 170].

În cele mai dese cazuri, studiile farmacocinetice sunt axate pe metodologia administrării unei doze unice de substanță cercetată pe cale intravasculară sau extravasculară. Pentru a determina farmacocinetica unei substanțe în funcție de calea de administrare este important de a

alege corect intervalul de timp pentru colectarea probelor de sânge sau a altor materiale biologice. Astfel, conform recomandărilor metodice, pentru administrarea intraperitoneală a substanței cercetate, volumele de sânge sunt colectate în intervalele de timp de 15, 30 și 60 minute, iar pentru administrarea intragastrală – în intervale de 1, 2 și 3 ore, ținând cont de timpul de absorbție a substanței active din tubul digestiv [175].

2.4.1. Metoda determinării concentrațiilor plasmatice și hepatice ale coptizinei bisulfat la șobolani

În studiu au fost incluși 18 șobolani albi, fără pedigree, cu masa corporală 170 – 200 g, repartizați în două loturi egale. Animalelor din lotul I (9 șobolani), soluțiile cu coptizină bisulfat în doza unică de 50 mg/kg au fost administrate intraperitoneal. Animalelor din lotul II (9 șobolani) soluțiile cu coptizină bisulfat în doza unică de 50 mg/kg au fost administrate intragastral. După administrarea soluțiilor, în conformitate cu recomandările metodice, în cazul administrării intraperitoneale animalele (câte 3 subiecți) au fost eutanaziate în intervalele de timp: de 15 min; 30 min; 60 min, iar în cazul administrării intragastrale în intervalele de: 1 oră; 2 ore și 3 ore. De la toate animalele incluse în experiență au fost colectate probele de sânge și ficat pentru determinarea concentrațiilor plasmatice și hepatice de coptizină bisulfat [115].

2.4.2. Metoda determinării concentrațiilor hepatice, biliare și intestinale ale coptizinei bisulfat la șoareci

În studiu au fost incluși 18 șoareci albi, fără pedigree, cu masa corporală 20-30 g, repartizați în 3 loturi egale. Animalelor din lotul I (6 șoareci), au fost administrate intragastral soluțiile cu coptizină bisulfat în doza unică de 0,2 mg/kg. Animalelor din lotul II (6 șoareci) au fost administrate intragastral soluțiile cu coptizină bisulfat în doza unică de 2 mg/kg. Animalelor din lotul III (6 șoareci) au fost administrate intragastral soluțiile cu coptizină bisulfat în doza unică de 20 mg/kg. După administrarea soluțiilor, în conformitate cu recomandările metodice, animalele (câte 2 subiecți din fiecare lot) au fost eutanaziate în intervalele de timp: de 1 oră; 2 ore și 3 ore. De la toate animalele incluse în experiență au fost colectate probele de ficat, bilă și materii fecale pentru determinarea concentrațiilor de coptizină bisulfat la aceste nivele [115, 116].

2.5. Metoda de modelare a hepatitei toxice acute și aprecierea acțiunii hepatoprotectoare a coptizinei bisulfat

Modelarea hepatitei toxice acute a fost efectuată în scopul aprecierii influenței coptizinei bisulfat, în diverse doze, asupra evoluției simptomelor afecțiunii și studiului comparativ de

evidențiere a eficacității prevalente a coptizinei bisulfat față de berberină bisulfat, utilizată în calitate de substanță de referință.

2.5.1. Studiul comparativ al influenței coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat asupra evoluției hepatitei toxice acute modelate experimental

Pentru modelarea hepatitei toxice acute și aprecierea comparativă a influenței coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, în experiență au fost incluși 110 de șobolani albi fără pedigree, repartizați în 11 loturi a câte 10 subiecți în fiecare lot.

Modelarea hepatitei toxice acute. Inițial a fost pregătită soluția uleioasă sterilă de 50% de tetraclorură de carbon (CCl_4) în Centrul Farmaceutic Universitar "Vasile Procopișin". În calitate de solvent a fost folosit uleiul de măsline rafinat. Soluția obținută a fost administrată subcutan, zilnic în doză unică, a câte 0,4 ml/100g timp de 4 zile, conform metodei clasice de modelare a hepatitelor toxice [36, 146].

Administrarea soluțiilor cu coptizină bisulfat și berberină bisulfat. Soluțiile cu coptizină bisulfat și berberină bisulfat au fost administrate intragastral în doze de 1 mg/kg și 5 mg/kg, zilnic, din prima zi a administrării tetraclorurii de carbon, timp de 7 și 14 zile.

Animalelor din lotul martor a fost administrată soluția sterilă de ulei de măsline fără tetraclorură de carbon, iar animalelor din lotul de referință a fost administrată soluția uleioasă de 50% tetraclorură de carbon fără administrarea intragastrală a soluțiilor de coptizină bisulfat și berberină bisulfat (tab. 2.3.).

Tabelul 2.3. Repartizarea loturilor de experiență și dozelor administrate de coptizină bisulfat și berberină bisulfat

Loturile	Nr. de animale	Soluțiile administrate	Durata administrării
I	10	Lotul martor (ulei de masline)	4 zile
II	10	Lotul de referință (CCl_4)	4 zile (eutanaziate peste 7 zile)
III	10	CCl_4 + coptizină bisulfat 1 mg/kg	4 și 7 zile respectiv
IV	10	CCl_4 + coptizină bisulfat 5 mg/kg	4 și 7 zile respectiv
V	10	CCl_4 + berberină bisulfat 1 mg/kg	4 și 7 zile respectiv
VI	10	CCl_4 + berberină bisulfat 5 mg/kg	4 și 7 zile respectiv
VII	10	Lotul de referință (CCl_4)	4 zile (eutanaziate peste 14 zile)
VIII	10	CCl_4 + coptizină bisulfat 1 mg/kg	4 și 14 zile respectiv
IX	10	CCl_4 + coptizină bisulfat 5 mg/kg	4 și 14 zile respectiv
X	10	CCl_4 + berberină bisulfat 1 mg/kg	4 și 14 zile respectiv
XI	10	CCl_4 + berberină bisulfat 5 mg/kg	4 și 14 zile respectiv

Soluțiile de coptizină bisulfat și berberină bisulfat au fost introduse pe stomacul gol al

șobolanilor, fiind privați de alimente și apă cu 12 ore înainte și timp de 4 ore după administrarea lor. Pe parcurs animalele au fost întreținute conform cerințelor de alimentare și asigurare cu apă stabilite în vivariu.

Pe durata experienței șobolanii au fost supuși supravegherii zilnice cu monitorizarea vizuală a stării generale, comportamentului, intensității și caracterului activității motorii, frecvenței și ritmicității respirației, stării pielii și blănii, devierilor în masa corporală (verificarea masei corporale o dată la 3 zile) [110].

Înregistrarea rezultatelor. După expirarea duratei de administrare de 7 zile a coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, animalele din primele 6 loturi au fost eutanaziate și colectat sângele pentru evaluarea parametrilor hematologici generali (*hemoglobina, eritrocite, leucocite, trombocite, hematocrit, neutrofile nesegmentate și segmentate, limfocite, viteza de sedimentare a hematiilor*), indicilor biochimici (*glucoza, proteina totală, albumina, ureea, creatinina, trigliceride, colesterolul total, beta-lipoproteine*) și indicilor hepatici (*bilirubina totală, bilirubina directă, bilirubina indirectă, AsAT, ALAT, raportul AsAT/ALAT (coeficientul Ritis), fosfataza alcalină, lactatdehidrogenaza, gamaglutamiltranspeptidaza (GGTP)*). Ulterior a fost efectuat studiul macroscopic al organelor interne (inimă, pulmoni, ficat, pancreas, rinichi, mucoasa tubului digestiv) a animalelor eutanaziate cu evidențierea posibilelor schimbări morfologice survenite.

După expirarea a 14 zile de administrare a coptizinei bisulfat au fost eutanaziate animalele din loturile VII–XI, pentru aprecierea indicilor nominalizați și examinarea macroscopică a organelor interne.

Toate analizele sus menționate au fost determinate în Laboratorul de biochimie a LCCȘ a IP USMF "Nicolae Testemițanu". Eutanazierea animalelor a fost efectuată prin inhalarea soluției de eter, conform protocolului cercetării avizat de către Comitetul de Etică a Cercetării a IP USMF "Nicolae Testemițanu". Rezultatele obținute au fost documentate în registrul respectiv, sigilate și semnate.

2.5.2. Metoda de modelare a hepatitei toxice acute și aprecierea influenței coptizinei bisulfat asupra evoluției ei

Pentru modelarea hepatitei toxice acute și aprecierea influenței coptizinei bisulfat, în experiență au fost incluși 70 de șobolani albi fără pedigree, repartizați în 7 loturi a câte 10 subiecți în fiecare lot.

Modelarea hepatitei toxice acute. Inițial a fost preparată soluția uleioasă sterilă de 50% de tetraclorură de carbon (CCl₄). În calitate de solvent a fost folosit uleiul de măsline rafinat. Soluția

obținută a fost administrată subcutan, zilnic în doză unică, a câte 0,4 ml/100g timp de 4 zile, conform metodei clasice de modelare a hepatitelor toxice [36, 47, 100, 146, 171].

Administrarea soluțiilor cu coptizină bisulfat. Soluția cu coptizină bisulfat a fost introdusă prin sonda intragastrală în doze de 10 mg/kg și 20 mg/kg, zilnic, din prima zi a administrării tetraclorurii de carbon, timp de 7 și 14 zile [113].

Animalelor din lotul martor a fost introdusă soluția sterilă de ulei de masline fără tetraclorura de carbon, iar animalelor din lotul de referință - soluția uleioasă de 50% tetraclorură de carbon fără administrarea intragastrală a soluției de coptizină bisulfat (tab. 2.4.).

Tabelul 2.4. Repartizarea loturilor de experiență și dozelor administrate de coptizină bisulfat

Loturile	Numărul de animale	Soluțiile administrate	Durata administrării
I	10	Lotul martor (ulei de măsline)	4 zile
II	10	Lotul de referință (CCl ₄)	4 zile (eutanaziate peste 7 zile)
III	10	CCl ₄ + coptizină bisulfat 10 mg/kg	4 și 7 zile respectiv
IV	10	CCl ₄ + coptizină bisulfat 20 mg/kg	4 și 7 zile respectiv
V	10	Lotul de referință (CCl ₄)	4 zile (eutanaziate peste 14 zile)
VI	10	CCl ₄ + coptizină bisulfat 10 mg/kg	4 și 14 zile respectiv
VII	10	CCl ₄ + coptizină bisulfat 20 mg/kg	4 și 14 zile respectiv

Soluțiile de coptizină bisulfat au fost introduse pe stomacul gol al șobolanilor, fiind privați de alimente și apă cu 12 ore înainte și timp de 4 ore după administrarea lor. Pe parcurs animalele au fost întreținute conform cerințelor de alimentare și asigurare cu apă, stabilite în vivariu.

Pe durata experienței șobolanii au fost supuși supravegherii zilnice cu monitorizarea vizuală a stării generale, comportamentului, intensității și caracterului activității motorii, frecvenței și ritmicității respirației, stării pielii și blănii, devierilor în masa corporală (verificarea masei corporale o dată la 3 zile).

Înregistrarea rezultatelor. După expirarea duratei de administrare de 7 zile a coptizinei bisulfat, animalele din primele 4 loturi au fost eutanaziate și colectat sângele pentru evaluarea parametrilor hematologici generali (*hemoglobina, eritrocite, leucocite, trombocite, hematocrit, neutrofile nesegmentate și segmentate, limfocite, viteza de sedimentare a hematiilor*), indicilor biochimici (*glucoza, proteina totală, albumina, ureea, creatinina, trigliceride, colesterolul total, beta-lipoproteine*) și indicilor hepatici (*bilirubina totală, bilirubina directă, bilirubina indirectă, AsAT, AlAT, raportul AsAT/AlAT (coeficientul Ritis), fosfataza alcalină, lactatdehidrogenaza, gamaglutamiltranspeptidaza (GGTP)*). După expirarea a 14 zile de administrare a coptizinei bisulfat au fost eutanaziate animalele din loturile V–VII, pentru aprecierea indicilor nominalizați.

2.6. Metodele cercetării parametrilor hematologici și biochimici

Pentru aprecierea modificărilor survenite în organismul animalelor la studierea toxicității acute și cronice, precum și în cazul modelării hepatitei toxice acute, s-a recurs la determinarea parametrilor hematologici generali, biochimici și hepatici în conformitate cu recomandările metodice (Gudumac V., 2010; Дементьева, И.И. и др., 2013; Карпищенко А.И., 2014; Кишкун, А.А., 2010). Cercetările biochimice s-au efectuat cu reactive standard ale firmei „Beckman” la analizatorul Spectrum a firmei „Ebbot” (SUA) în laboratorul de biochimie a LCCȘ a USMF „Nicolae Testemițanu” [49, 164, 166, 167].

2.6.1. Metodele de determinare a parametrilor hematologici

Dintre parametrii hematologici generali s-a determinat conținutul hemoglobinei, hematocritul, MCH - conținutul mediu de hemoglobină într-un eritrocit, numărul (eritrocitelor, leucocitelor, trombocitelor) și formula leucocitară (neutrofilelor segmentate și nesegmentate, limfocitelor, eozinofilelor, monocitelor, bazofilelor).

Determinarea numărului eritrocitelor, leucocitelor și trombocitelor. La colectarea sângelui s-a preparat un frotiu cu determinarea numărului eritrocitelor în camera Goreaev. Numărul hematiilor s-a determinat și prin metoda analizatorului automat în timpul trecerii acestora printr-un orificiu prin care celulele sunt repartizate într-un singur rând prin metoda de focusare hidrodinamică.

Metoda determinării conținutului hemoglobinei. Hemoglobina reprezintă componentul principal al eritrocitelor (95% din proteinele citoplasmatiche eritrocitare) și servește ca vehicul pentru transportul O₂ și CO₂, precum și ca tampon în lichidul extracelular.

Metoda este bazată pe capacitatea ferocianurii de potasiu de a transforma hemoglobina în methemoglobină, care formează cu acetoncianhidrina hemoglobincianidă colorată. Intensitatea colorației este direct proporțională cu cantitatea de hemoglobină din probă.

Metoda determinării hematocritului. Hematocritul reprezintă raportul dintre volumul ocupat de eritrocite și volumul sanguin total. Parametrul s-a calculat cu ajutorul analizatorului automat prin determinarea numărului de eritrocite/L de sânge și măsurarea amplitudinii impulsurilor în eritrocite prin metoda luminii dispersate [49, 166].

2.6.2. Metodele de determinare a parametrilor biochimici

Pregătirea serului sanguin pentru cercetările biochimice. Sângele colectat după eutanazierea animalelor s-a centrifugat timp de 10 minute la viteza de 3000 rot/min și o parte s-a folosit imediat, iar alta s-a congelat, pentru cercetările biochimice. Sângele investigat a fost proaspăt, păstrat la temperatura camerei nu mai mult de 4-6 ore sau conservat la temperatura de

4⁰ C timp de 24-36 ore. Pentru efectuarea analizelor biochimice s-a folosit serul sau plasma obținute din sângele proaspăt. Serul sau plasma pot fi conservate la temperatura de la -18 până la -20⁰ C timp mai îndelungat [49, 167].

Determinarea activității aminotransaminazelor. Aminotransferazele reprezintă enzime ce asigură transferul reversibil al grupului alfa-amino de la un alfa-aminoacid la un alfa-cetoacid. Aceste enzime intervin în procesele de gluconeogeneză, influențând formarea glucozei din aminoacizi, glicerol și lactat.

Pentru diagnosticul de rutină se recomandă determinarea a două aminotransferaze sau transaminaze: AlAT (alaninaminotransferaza, numită și GT – glutamit-piruvat transaminaza) și AsAT (aspartataminotransferaza, numită și GOT – glutamit-oxaloacetat transaminaza).

Determinarea cinetică a transaminazelor s-a efectuat în corespundere cu reacțiile specifice:

Alaninaminotransferaza

L-alanina + acid α -cetoglutaric $\longrightarrow$ acid L-glutamic + acid piruvic

Aspartataminotransferaza

acid L-aspartic + acid α -cetoglutaric $\longrightarrow$ acid L-glutamic + acid oxalacetic

Determinarea titrului de aminotransferaze se bazează pe un principiu unic care se reduce la aprecierea cantității de substrat consumat sau de produs nou format. Substratele noi formate sunt acidul piruvic (pentru AlAT) și acidul oxalacetic (pentru AsAT). Acești acizi se reduc la acid L-lactic (cu participarea LDH) sau acid L-malic (cu participarea malatdehidrogenazei) concomitent cu procesul de oxidare a nicotinamid-adenin-dinucleotidului (NADH) în NAD. Consumul de NADH poate fi măsurat și reprezintă o evaluare indirectă a cantității de aminotransferaze prin spectrofotometrie la lungimea de undă 340 nm.

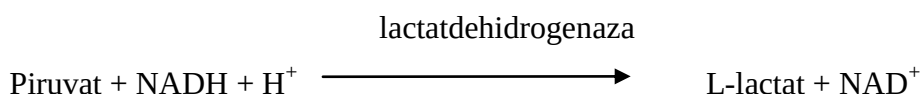
În clinică AsAT și AlAT în sânge se determină colorimetric conform metodei dinitrofenilhidrazinice descrisă de Reitman S. și Frankel S.J. (1957). Metoda se bazează pe formarea în mediul alcalin a hidrazonului acidului piruvic, intensitatea colorării căruia depinde de cantitatea acidului format.

În urma transaminării, care se petrece sub acțiunea AlAT și AsAT, se formează acizii piruvic și oxalacetic. Acidul oxalacetic, în procesul reacției enzimatice, este capabil să se transforme în acid piruvic. La adăugarea a 2,4-dinitrofenilhidrazinei, procesul enzimatic se stopează și se obține hidazonul acidului piruvic. În mediul alcalin acesta se colorează, intensitatea culorii fiind proporțională cu cantitatea acidului piruvic format în urma reacției enzimatice.

Determinarea lactatdehidrogenazei. Lactatdehidrogenaza (LDH) este o enzimă citoplasmatică din grupul enzimelor glicolitice care transformă acidul lactic în acid piruvic în

prezența NADH, care se oxidează în NAD (V.Gudumac și coaut., 2010; Дементьева, И.И. и др., 2013). Concomitent, are loc micșorarea absorbției, care se determină spectofotometric la 340 nm și corelează cu activitatea enzimei. În ser este un amestec de cinci izoenzime, care au o specificitate mai mare sau mai mică (fracțiile 4 și 5 sunt caracteristice ficatului, musculaturii striate - țesuturi cu activitate glicolitică anaerobă mai intensă, iar fracția 1 se găsește în miocard, care are o glicoliză aerobă mai intensă). Activitatea enzimei se exprimă în nmol/s-l la determinarea în ser [49, 164].

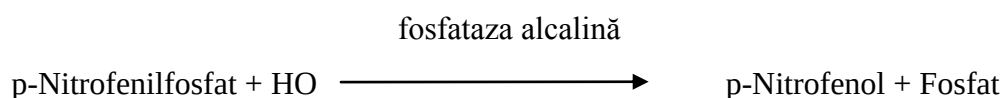
Determinarea cinetică a lactatdehidrogenazei în serul sanguin se face în corespundere cu reacția:



Determinarea activității fosfatazei alcaline. Fosfataza alcalina (FA) reprezintă o familie de izoenzime, care hidrolizează esterii fosfați la un pH alcalin. Enzimele sunt glicoproteine și sunt localizate în membrana plasmatică în ficat, oase, placentă, rinichi și intestin, precum și în unele membrane intracelulare (aparatur Golgi, reticulul endoplasmatic, nucleu). În ficat s-au depistat două izoenzime, dar rolul lor precis nu s-a stabilit. Fosfataza alcalină, în ficat, este localizată în membranele sinusoidale și canaliculare, precum și în citozol și se secretă în cantități mari în bilă. Aceasta este implicată în activitatea secretorie a epitelului biliar, în detoxifierea endotoxinelor, precum și în absorbția și transportul lipidelor.

Determinarea activității FA se bazează pe capacitatea enzimei de a hidroliza legătura eterică în p-nitrofenilfosfat cu eliberarea para-nitrofenolului, care, în mediul alcalin, are o colorație galbenă intensitatea căreia reflectă activitatea FA și se determină spectofotometric (V.Gudumac și coaut., 2010; Карпищенко А.И., 2014). Activitatea FA în ser se estimează în nmol/s-l, iar în țesut – nmol/s-g [49, 166].

Determinarea cinetică a fosfatazei alcaline se efectuează în corespundere cu reacțiile:



Determinarea activității gamaglutamiltranspeptidazei. Gamaglutamiltranspeptidaza (GGTP) este enzima, care catalizează transferul grupărilor glutamil pe gamaglutamil-peptide, pe alte peptide sau aminoacizi. Ea are un rol important în transportul aminoacizilor în ciclul gamaglutamil și catabolizează metabolizarea conjugăților glutatationului-S, substituent al diverselor xenobiotice. Activitatea GGTP în ser este determinată de izoenzimele hepatice. Gamaglutamiltranspeptidaza este localizată de-a lungul întregului arbore biliar (de la hepatocit până la calea biliară principală, acinii și ducturile pancreatice, însă preponderent se află la nivelul

celulelor epiteliale care limitează ducturile biliare mici și se găsesc în aceleași fragmente membranare care conțin și FA).

Determinarea activității GGTP se bazează pe capacitatea enzimei de a transfera rezidul glutamilic al gama-L-glutamil-p-nitroanilidei la acceptorul dipeptidic cu formarea p-nitroanilinei, concentrația căreia este proporțională cu activitatea enzimei. În calitate de acceptor se folosește glicil-glicină, care servește concomitent și în calitate de soluție-tampon (V.Gudumac și coaut., 2010; Кишкун, А.А., 2010). Activitatea enzimei în ser se exprimă în nmol/s-l , iar în țesut – nmol/g-g [49, 167].

Determinarea conținutului glucozei. Glucoza, ca un parametru energetic cel mai accesibil pentru țesuturi, reprezintă un indiciu frecvent folosit în toxicologie pentru aprecierea mecanismelor de producere a leziunilor toxice sau a posibilității corecției lor prin intermediul substanțelor cercetate. Conținutul cantitativ al glucozei în soluție se determină după reacția de culoare cu ortotoluidina. La încălzire, glucoza reacționează cu ortotoluidina, în prezența acidului acetic, formând un compus de culoare verzuie, intensitatea căruia (direct proporțională cu concentrația glucozei în sânge) se determină prin colorimetrie.

Determinarea conținutului proteinelor totale. Proteinele totale constituie un parametru integrativ al funcției sintetice a ficatului, care pot suferi modificări esențiale în cazul afecțiunilor hepatice cronice sau sub acțiunea de durată a compușilor chimici cu acțiune hepatotoxică. Pentru determinarea conținutului proteinelor totale s-a folosit metoda biuretică ce se bazează pe proprietatea legăturilor peptidice ale proteinelor de a reacționa în mediu alcalin cu sulfatul de cupru (CuSO_4), formând produși complecși colorați în roz-violet.

Determinarea conținutului albuminelor. Albumina, reprezintă o fracție proteică importantă, care reflectă capacitatea sintetică a ficatului, iar nivelul ei poate suferi modificări esențiale în afecțiunile hepatice și/sau la acțiunea substanțelor hepatotoxice. Principiul metodei se bazează pe faptul că, sub influența câmpului electric permanent, proteinele serului, posedând sarcină electrică, se mișcă pe hârtia umectată în soluție bufer cu o viteză în funcție de mărimea sarcinii și de greutatea moleculară a particulelor. În urma acestui proces, proteinele serului sanguin sunt divizate în 5 fracții: albumine și α_1 -, α_2 -, β -, γ -globuline.

Determinarea conținutului ureei. Ureea, un produs al metabolismului proteic, reflectă starea funcțională a ficatului prin capacitatea de sinteză a acestui produs azotat și cea a rinichilor de eliminare a acestui produs intermediar. Principiul metodei, propusă de Schubert G.E. (1963), se bazează pe faptul că ureaza hidrolizează specific ureea în amoniac și bioxid de carbon. Amoniacul se asociază cuantificabil cu ketoglutaratul în prezența glutamatdehidrogenazei și coenzimei nicotinamidadenindinucleotida redusă (NADH), obținându-se glutamat și

nicotinamidadenin dinucleotid oxidat (NAD^+). Transformarea NADH în NAD^+ corespunde cantitativ amoniacului produs, ceea ce, la rândul său, corespunde concentrației de uree prezente în proba de cercetat.

Determinarea conținutului creatininei. Creatinina, un produs endogen cu semnificație clinică variată, este un parametru biochimic frecvent utilizat pentru aprecierea funcției sintetice a ficatului și de eliminare a rinichilor. Pentru determinarea conținutului creatininei s-a folosit metoda Jaffé (1972) în modificarea lui Beckman J. (1986). Principiul metodei constă în proprietatea creatininei de a reacționa în mediu alcalin cu picratul, formând un complex color. Intensitatea culorii este direct proporțională cu concentrația creatininei în ser, plasmă, urină și se determină prin spectrofotometrie la 520 nm.

Determinarea nivelului trigliceridelor. Conținutul trigliceridelor se recomandă a fi determinat ca un parametru screening pentru aprecierea influenței diferitor substanțe nocive asupra stării funcționale a ficatului, proceselor de sinteză și degradare a lipidelor. Metoda de determinare a nivelului trigliceridelor a fost propusă de Carlsen S.M. (1963). Trigliceridele, sub acțiunea lipazei pancreatice, se hidrolizează cu eliberarea glicerolului și acizilor grași liberi. Cantitatea de glicerol liber obținut se determină enzimatic conform reacțiilor succesive prezentate mai jos.

lipaza

Trigliceride -----> glicerol + acizi grași liberi

glicerolkinaza

Glicerină + ATP -----> glicerol-1-fosfat + ADP

piruvatkinaza

ADP + fosfoenopiruvat -----> ATP + piruvat

lactatdehidrogenaza

Piruvat + $\text{NADH} + \text{H}^+$ -----> lactat + NAD^+

Cantitatea NAD redus se determină la 340 nm și exprimă valoarea cantitativă a glicerolului, care, la rândul său, depinde de conținutul trigliceridelor în probă.

Determinarea nivelului colesterolului. Colesterolul, parametru esențial de screening al stării metabolismului lipidic, poate reacționa la acțiunea diferitor agenți chimici prin modificarea proceselor de sinteză și/sau utilizare de țesuturi. Metoda de determinare a nivelului colesterolului se bazează pe principiul capacității substratului, în prezența anhidridei acetice și amestecului dintre acidul acetic și acidul sulfuric, de a forma un compus de culoare verde-albăstrie, intensitatea căruia este direct proporțională cu cantitatea de colesterol în proba supusă cercetării.

Determinarea nivelului bilirubinei și fracțiilor ei. Nivelul bilirubinei și fracțiilor ei sunt parametrii, ce caracterizează sindromul colestatic în afecțiunile hepatice, iar coraportul dintre ele permit de a aprecia localizarea patologiei hepatice și/sau biliare. Principiul metodei de determinare a bilirubinei se reduce la interacțiunea acidului sulfanilic cu nitritul de sodiu cu formarea acidului diazofenilsulfonic care, reacționând cu bilirubina conjugată a serului sanguin, produce o culoare roz-violetă. După intensitatea culorii se apreciază concentrația bilirubinei conjugate, care intră în reacție directă cu diazoreactivul. La suplimentarea serului sanguin cu reactivul cafeinic, bilirubina neconjugată trece în stare disociată solubilă, reacționează cu diazoreactivul Erlih, formând o culoare roz-violetă. După intensitatea acestei culori se determină fotocolorimetric concentrația bilirubinei totale. După diferența dintre bilirubina totală și bilirubina conjugată se determină conținutul bilirubinei neconjugate, care produce reacția indirectă [49, 164, 166, 167].

2.7. Determinarea proprietăților gastroprotectoare și regenerative ale coptizinei bisulfat

Aprecierea acțiunii gastroprotectoare și regenerative a coptizinel bisulfat a fost efectuată pe ulcere gastrice modelate experimental. În studiu au fost incluși 35 șobolani albi, fără pedigree, cu masa corporală cuprinsă între 180-200 g, repartizați în 3 loturi de experiență a câte 10 subiecți în fiecare lot și un lot din 5 șobolani pentru evidențierea proceselor ulceroase provocate de indometacină. Modelarea ulcerelor a fost efectuată conform metodei Derelanko MG. et al. (2014) prin administrarea unei singure doze intragastrale a soluției de 20 mg/kg de Indometacină. Soluțiile cu indometacină au fost administrate pe stomacul gol al șobolanilor, ei fiind privați de alimente și apă cu 12 ore înainte și timp de 4 ore după administrare. Peste 24 ore de la administrarea indometacinei, 5 șobolani au fost eutanaziați și deschis chirurgical stomacul pentru constatarea macroscopică a prezenței ulcerelor gastrice [36].

După stabilirea leziunilor ulceroase, șobolanilor din lotul I (lotul martor) a fost administrată zilnic la aceeași oră soluția fiziologică de 0,9% în volum de 4 ml. Celor din lotul II a fost introdusă intragastral soluția cu coptizină bisulfat în doza de 1 mg/kg în volum de 4 ml și animalelor din lotul III – soluția cu coptizină bisulfat în doza de 5 mg/kg în volum de 4 ml. Durata administrării soluțiilor a fost de 6 zile depline, începând cu ziua a doua de experiență.

Pe parcurs animalele au fost întreținute conform cerințelor de alimentare și asigurare cu apă stabilite în vivariu cu monitorizarea vizuală zilnică a stării generale, comportamentului, intensității și caracterului activității motorii.

La a 8-a zi, animalele au fost eutanaziate pentru examinarea macroscopică a stării

mucoasei gastrice, prezenței ulcerelor și aprecierii comparative a acțiunii regenerative și gastroprotectoare a coptizinei bisulfat în diferite doze în loturile de experiență [111].

2.8. Evaluarea statistică a rezultatelor

Rezultatele aprecierilor cantitative ale valorilor parametrilor studiați au fost supuse analizei statistice cu calcularea mediei aritmetice simple (M), erorii valorilor mediei aritmetice (m), deviației standard. Relevanța statistică (p) în interiorul lotului și între diferite loturi s-a calculat după testul de semnificație t -Student. Deosebirile valorilor medii au fost considerate relevante când pragul de semnificație (p) era $< 0,05$ [169, 172, 175].

Prelucrarea statistică a datelor obținute a fost efectuată cu ajutorul pachetului de programe „Statistica for Windows, Release 6.0 StatSoft, Inc.”, unde s-au calculat următoarele criterii:

- σ – deviația standard;
- p – valoarea relativă medie;
- t – criteriul Student;
- M_1 și M_2 – valorile medii aritmetice ale totalităților comparate;
- m_1 și m_2 – erorile mediilor aritmetice ale totalităților comparate;
- $\pm m$ – deviația valorii relative medii.

Datele au fost verificate prin analiza distribuției, și anume prin testul Shapiro-Wilk. În toate grupele cercetate distribuția a fost una normală. Pentru reflectarea demonstrativă a rezultatelor obținute, datele au fost prezentate în tabele, diagrame și grafice prin intermediul aplicației Excel, utilizând pachetul de programe „Microsoft Office 2010”.

2.9. Sinteza capitolului 2

În studiu s-a folosit coptizina extrasă printr-o metodă specifică, care permite obținerea unui produs mai purificat, cu un randament nu mai mic de 80% și sub formă de bisulfat, ce îi conferă substanței o solubilitate mai bună în solvenți, inclusiv apă.

În scopul determinării toxicității coptizinei sub formă de bisulfat și stabilirii limitelor de siguranță a ei, conform recomandărilor metodice de cercetare a substanțelor noi, au fost folosite metode de studiu ale toxicității acute și cronice pe diverse tipuri de animale de laborator și pe diferite căi de administrare (enterală și parenterală).

Acțiunea hepatoprotectoare a coptizinei bisulfat a fost cercetată prin modelarea hepatitei toxice acute cu tetraclorură de carbon ca agent hepatotoxic, utilizată în metodele clasice de inducere a hepatitelor, iar pentru aprecierea eficienței efectului hepatoprotector al coptizinei

bisulfat au fost stabilite metodele de cercetare comparativă a acțiunii date cu substanța de referință berberină bisulfat, alcaloid vegetal înrudit.

În baza recomandărilor metodice contemporane de cercetare a substanțelor noi s-au selectat și argumentat metodele de cercetare a indicilor biochimici, hematologici și hepatici, ce au permis aprecierea acțiunii hepatoprotectoare și aspectele de farmacocinetică ale coptizinei bisulfat.

De asemenea, au fost selectate metode de cercetare a acțiunii gastroprotectoare și regeneratoare ale coptizinei bisulfat, reieșind din datele științifice și clinice despre apariția complicațiilor la nivelul mucoasei gastrice în unele afecțiuni hepatice și ale căilor hepato-biliare.

Studiul a inclus toate etapele cercetării statistice, datele primare fiind procesate prin intermediul programelor Excel, Statistica for Windows, Release 6.0, StatSoft, Inc.

3. ASPECTELE TOXICITĂȚII COPTIZINEI BISULFAT

3.1. Rezultatele toxicității acute ale coptizinei bisulfat

Toxicitatea acută a coptizinei bisulfat a fost cercetată pe două căi de administrare: enterală și parenterală. Calea parenterală, obligatorie pentru studiu conform recomandărilor metodice de cercetare a substanțelor noi, a fost reprezentată de administrarea intraperitoneală a soluțiilor cu coptizină bisulfat la șoareci, fiind considerată calea asemănătoare, după parametrii farmacocinetici, cu administrarea intravenoasă. Studiul toxicității acute a coptizinei bisulfat prin administrarea perorală la șobolani a fost dictată de calea de administrare a formelor farmaceutice ulterioare preconizate pentru utilizare la om.

3.1.1. Toxicitatea acută a coptizinei bisulfat după administrarea intraperitoneală la șoareci

Toxicitatea acută, la administrarea intraperitoneală a coptizinei bisulfat, s-a studiat pe șoareci albi repartizați în loturi egale a câte 10 subiecți (numărul minim de animale în lot necesar pentru prelucrarea statistică veridică a rezultatelor obținute) (tab.3.1.). Au fost administrate doze succesive unimomentane de coptizină bisulfat (25 mg/kg; 35 mg/kg; 45 mg/kg; 55 mg/kg; 65 mg/kg; 75 mg/kg; 95 mg/kg) cu monitorizarea permanentă timp de 24 de ore a comportamentului, particularităților de alimentare și utilizare a apei de către animalele incluse în studiu, cu înregistrările ulterioare zilnice (timp de 14 zile) a stării generale, comportamentului, intensității și caracterului activității motorii, stării pielii și blănii, devierilor masei corporale, timpului dezvoltării semnelor de intoxicație sau a instalării decesului [117, 118].

Tabelul 3.1. Valorile toxicității acute a coptizinei bisulfat, administrată intraperitoneal șoarecilor

Doze	Masculi		Femele		Animale decedate	
	Nr. animale, n	Deces %	Nr. animale, n	Deces %	Nr. animale, n	Deces %
25 mg/kg	5	0	5	0	0	0
35 mg/kg	5	0	5	0	0	0
45 mg/kg	5	0	5	0	0	0
55 mg/kg	5	0	5	0	0	0
65 mg/kg	5	0	5	0	0	0
75 mg/kg	5	0	5	0	0	0
95 mg/kg*	5	0	5	0	0	0

Notă: * Doza de 95 mg/kg a fost diluția maximă posibilă de administrare parenterală a soluțiilor de coptizină bisulfat, majorarea concentrației soluției nu este necesară, deoarece la om nu se preconizează administrarea parenterală a ei.

Pe parcursul experienței, la animalele cercetate s-a constatat o inhibare a stării generale și activității motorii cu reducerea reacției la stimulii exogeni (lumină, zgomot etc.). La șoareci, după administrarea coptizinei bisulfat în dozele enumerate, s-a constatat restabilirea activității motorii și reactivității la diverși excitanți externi după o scurtă perioadă de hipodinamie și hiporeflexie (cauzate de metoda traumatizantă de administrare a soluțiilor cercetate). Animalele și-au revenit complet la starea inițială în prima oră de la administrarea soluțiilor. Pe parcursul observărilor efectuate (timp de 14 zile), toate animalele au rămas în viață, semne de intoxicație a organismului, manifestate prin devieri de comportament, utilizare scăzută a alimentelor și apei, modificarea stării blănii și masei corporale, nu au survenit [119].

3.1.2. Toxicitatea acută a coptizinei bisulfat după administrarea perorală la șoareci

În cazul administrării perorale la șoareci, soluțiile cu coptizină bisulfat au fost administrate intragastral prin sondă atraumatică în doze succesive de: 100 mg/kg, 150 mg/kg, 170 mg/kg, 200 mg/kg, 350 mg/kg și 400 mg/kg, cu monitorizarea permanentă timp de 24 de ore a comportamentului, particularităților de alimentare și utilizare a apei de către animalele incluse în studiu, și cu înregistrările ulterioare zilnice (timp de 14 zile) a stării generale, comportamentului, intensității și caracterului activității motorii, stării pielii și blănii, devierilor masei corporale, timpului dezvoltării semnelor de intoxicație sau a instalării decesului.

După administrarea soluțiilor cercetate, s-a constatat o inhibare a stării generale și activității motorii a șoarecilor cu reducerea reacției la stimulii exogeni (lumină, zgomot). Pe parcursul a 1-2 ore de la administrare animalele reveneau la starea inițială, utilizând hrană și apă în regim obișnuit. În următoarele zile de supraveghere starea generală și comportamentul animalelor experimentale nu se deosebeau de cele ale șoarecilor din lotul martor, la care a fost administrată soluția fiziologică de 0,9%. Semne de intoxicație sau decesul animalelor (tab. 3.2.) nu au survenit [118].

Tabelul 3.2. Valorile toxicității acute a coptizinei bisulfat, administrată intragastral șoarecilor

Doze	Masculi		Femele		Animalele decedate	
	Nr. animale, n	Deces %	Nr. animale, n	Deces %	Nr. animale, n	Deces %
105 mg/kg	5	0	5	0	0	0
150 mg/kg	5	0	5	0	0	0
170 mg/kg	5	0	5	0	0	0
200 mg/kg	5	0	5	0	0	0
350 mg/kg	5	0	5	0	0	0
400 mg/kg*	5	0	5	0	0	0

Notă: *Doze mai mari de 400 mg/kg nu au fost administrate din cauza imposibilității introducerii soluțiilor prin sonda intragastrală (suprasaturarea suspensiei).

3.1.3. Toxicitatea acută a coptizinei bisulfat după administrarea perorală la șobolani

Pentru stabilirea dozelor toxice acute la șobolani, soluția de coptizină bisulfat a fost administrată unimomentan intragastral prin sonda atraumatică în doze succesive de: 25 mg/kg, 100 mg/kg; 400 mg/kg, 800 mg/kg, 1200 mg/kg, 2000 mg/kg și 2600 mg/kg. Animalelor din lotul martor li s-a administrat intragastral soluție fiziologică 0,9% în volum de 4 ml.

Animalele au fost monitorizate permanent timp de 24 de ore cu aprecierea comportamentului, particularităților de alimentare și utilizare a apei de către animalele incluse în studiu, și cu înregistrările ulterioare zilnice (timp de 14 zile) a stării generale, comportamentului, intensității și caracterului activității motorii, stării pielii și blănii, devierilor masei corporale, timpului dezvoltării semnelor de intoxicație sau a instalării decesului. La sfârșitul experienței au fost colectate probele de sânge și efectuate examinările necesare.

După administrarea internă a coptizinei bisulfat șobolanilor, inițial s-a stabilit o inhibiție tranzitorie a stării generale, manifestată prin somnolență, hipodinamie și hiporeflexie, mai accentuată la animalele cărora le-au fost administrate dozele de 1200 mg/kg, 2000 mg/kg și 2600 mg/kg. Frecvența respirației nu suporta schimbări. Pe parcursul primei zile de experiență toate animalele reveneau la starea inițială cu restabilirea activității motorii și reactivității la diverși excitanți externi, utilizând apă și hrană în regim obișnuit. În următoarele 13 zile de supraveghere (tab. 3.3.) starea generală și comportamentul animalelor experimentale nu se deosebeau de cele ale șobolanilor din lotul martor, semne de intoxicație sau decesul animalelor nu au survenit [119].

Tabelul 3.3. Valorile toxicității acute a coptizinei bisulfat, administrată pe cale enterală șobolanilor

Doze	Masculi		Femele		Animalele decedate	
	Nr. animale, n	Deces, %	Nr. animale, n	Deces, %	Nr. animale, n	Deces, %
Lotul martor	5	0	5	0	0	0
25 mg/kg	5	0	5	0	0	0
100 mg/kg	5	0	5	0	0	0
400 mg/kg	5	0	5	0	0	0
800 mg/kg	5	0	5	0	0	0
1200 mg/kg	5	0	5	0	0	0
2000 mg/kg	5	0	5	0	0	0
2600 mg/kg*	5	0	5	0	0	0

Notă: * Doza de 2600 mg/kg de coptizina bisulfat a fost diluția maximă posibilă a soluției, deoarece concentrațiile mai mari nu permiteau administrarea soluțiilor prin sondă.

Studiul tabloului sângelui periferic la șobolanii incluși în experiență a demonstrat că administrarea unimomentană a coptizinei bisulfat în doza maximă de 2600 mg/kg nu a modificat nivelul hemoglobinei, numărul eritrocitelor, leucocitelor și valorile hematocritului (tab. 3.4.).

Tabelul 3.4. Parametrii tabloului sângelui periferic la administrarea unimomentană a coptizinei bisulfat în doza de 2600 mg/kg

Parametrii hematologici morfologici	Nr. animale, n	Lotul martor, M±m	Coptizina bisulfat, M±m
Hemoglobina (g/L)	10	147,4 ± 0,8	147,3 ± 0,7
Eritrocite (x10 ¹² /L)	10	7,1 ± 0,7	7,0 ± 0,3
Leucocite (x10 ⁹ /L)	10	5,7 ± 0,3	5,7 ± 0,2
Trombocite (x10 ⁹ /L)	10	713 ± 31	728 ± 28
Hematocrit (%)	10	0,41 ± 0,006	0,42 ± 0,008
Neutrofile nesegmentate (%)	10	1,6 ± 0,1	1,9 ± 0,1
Neutrofile segmentate (%)	10	26,0 ± 2,0	23,5 ± 2,1
Limfocite (%)	10	67,4 ± 1,7	70,2 ± 1,8
Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH)	10	2,7 ± 0,2	3,8 ± 0,3

Notă: deosebiri statistice nesemnificative

Concomitent, s-a constatat o tendință de creștere neesențială a conținutului hematocritului, a numărului trombocitelor și procentului limfocitelor, a VSH-lui, cu o micșorare nesemnificativă a procentului leucocitelor segmentate (tab.3.4.).

La determinarea nivelului glucozei s-a depistat o hipoglicemie ușoară la doza respectivă de coptizină bisulfat. Concomitent s-a constatat și o diminuare neesențială a activității LDH (tab.3.5.).

Tabelul 3.5. Modificarea parametrilor biochimici la administrarea unimomentană a coptizinei bisulfat în doza de 2600 mg/kg

Parametrii biochimici	Nr. animale, n	Lotul martor, M±m	Coptizina bisulfat, M±m
Glucoza (mmol/L)	10	4,6 ± 0,4	4,4 ± 0,2
Proteina totală (g/L)	10	98,0 ± 2,2	99,4 ± 0,8
Albumina (g/L)	10	42,0 ± 1,1	42,5 ± 0,5
Ureea (mmol/L)	10	4,9 ± 0,3	5,5 ± 1,8
Creatinina (mcmol/L)	10	69,9 ± 0,6	74,7 ± 2,1
Trigliceride (mmol/L)	10	0,46 ± 0,05	0,47 ± 0,02
Colesterolul total (mmol/L)	10	1,76 ± 0,08	1,56 ± 0,08
Beta-lipoproteine (mg%)	10	377,0 ± 37,0	356,6 ± 18,9
Bilirubina totală (mcmol/L)	10	2,5 ± 0,1	4,2 ± 0,2
Bilirubina directă (mcmol/L)	10	0,7 ± 0,08	0,78 ± 0,03
Bilirubina indirectă (mcmol/L)	10	1,8 ± 0,2	3,42 ± 0,2
AsAT (UI/L)	10	151,2 ± 4,5	164,5 ± 2,7
AlAT (UI/L)	10	66,8 ± 2,3	64,0 ± 1,3

Raport AsAT/ AlAT (coef. Ritis)	10	2,28 ± 0,42	2,5 ± 0,4
Fosfataza alcalină (UI/L)	10	256,3 ± 5,1	270,8 ± 3,2
Lactatdehidrogenaza (UI/L)	10	565,6 ± 8,3	546,2 ± 5,3
GGTP (UI/L)	10	14,4 ± 1,2	16,0 ± 0,7

Notă: deosebiri statistice nesemnificative

Analiza parametrilor metabolismului proteic a relevat, că alcaloidul a determinat o creștere neesențială a conținutului proteinelor totale, ureei și creatininei fără a-l modifica pe cel al albuminei (tab.3.5).

Studiul parametrilor metabolismului lipidic a relevat o reducere mai importantă a conținutului colesterolului total și beta-lipoproteinelor la doza unimomentană de 2600 mg/kg a coptizinei bisulfat, fără a modifica nivelul trigliceridelor (tab. 3.5.).

Coptizina bisulfat, după o doză de 2600 mg/kg, a majorat nivelul bilirubinei totale și celei indirecte, fără a modifica nivelul bilirubinei directe. Concomitent, s-a constatat o creștere nesemnificativă a activității fosfatazei alcaline și GGTP.

Referitor la activitatea transaminazelor s-a depistat o majorare neesențială a AsAT și o diminuare a AlAT cu o creștere moderată a indicelui de Ritis (tab.3.5.).

3.2. Rezultatele toxicității cronice ale coptizinei bisulfat

Pentru exectuarea cercetărilor toxicității cronice, coptizina bisulfat a fost administrată intragastral o dată în zi, timp de 30 zile, în doze de 2,5 mg/kg; 5 mg/kg; 10 mg/kg; 25 mg/kg și 250 mg/kg. Animalele au fost monitorizate zilnic cu aprecierea comportamentului, particularităților de alimentare și utilizare a apei și a stării generale. La sfârșitul experienței animalele au fost eutanaziate pentru colectarea probelor de sânge și efectuarea examinărilor necesare [119]. Rezultatele parametrilor biochimici sunt prezentate în tabelul 3.6.

Tabelul 3.6. Modificarea parametrilor biochimici după administrarea coptizinei bisulfat timp de 30 zile

Parametrii cercetați	Lotul martor, M±m	Dozele coptizinei bisulfat, M±m				
		2,5 mg/kg	5 mg/kg	10 mg/kg	25 mg/kg	250 mg/kg
Glukoza (mmol/L)	4,6 ± 0,2	3,9 ± 0,2	3,8 ± 0,1	3,7 ± 0,1	3,7 ± 0,1	3,2 ± 0,2*
Proteina totală (g/L)	69,7±1,4	70,2 ± 2,2	68,9±1,7	67,7±0,8	69,9±2,8	67,8 ± 1,6
Albumina (g/L)	31,2±0,3	32,0±1,0	34,3±1,1	30,6±1,5	31,2±0,6	31,2 ± 0,6
Ureea (mmol/L)	6,4 ± 0,3	5,8 ± 0,1	6,2 ± 0,1	6,1 ± 0,1	5,8 ± 0,1	7,8 ± 0,3*
Creatinina (mcmol/L)	53,1±1,9	47,2 ± 4,9	56,6±2,4	48,4±2,9	55,5± 5,5	60,3 ± 1,4*
Colesterolul total	4,05±0,02	4,44±0,1*	4,35±0,14	4,44±0,1*	4,14±0,12	3,73 ± 0,07

(mmol/L)						
Beta-lipoproteine (mg%)	377,0±7,0	365,2± 7,6	375,2± 7,7	369,2± 7,8	372,2± 7,7	368,2± 7,8

Notă: * - $p < 0,05$ comparativ cu lotul martor

Influența coptizinei bisulfat asupra concentrației plasmatice a glucozei. La administrarea coptizinei bisulfat timp de 30 zile s-a determinat o micșorare nesemnificativă a nivelului glucozei în sânge în toate loturile. La animalele la care au fost administrate dozele de 2,5 mg/kg; 5 mg/kg; 10 mg/kg și 25 mg/kg, concentrațiile plasmatice ale glucozei au scăzut în mediu cu 18%, iar la animalele la care s-a administrat doza de 250 mg/kg, concentrațiile plasmatice au scăzut cu 30% în mediu.

Influența coptizinei bisulfat asupra metabolismului proteic. La determinarea parametrilor metabolismului proteic nu s-au constatat modificări esențiale ale conținutului proteinelor totale, albuminei, ureei și creatininei la administrarea dozelor de la 2,5 la 25 mg/kg, în timp ce la utilizarea dozei de 250 mg/kg s-a relevat o tendință spre micșorare a nivelului proteinelor totale și de majorare a celui al ureei și creatininei (tab. 3.6.).

Conținutul colesterolului total s-a majorat la administrarea coptizinei bisulfat în dozele de 2,5 mg/kg, 10 mg/kg și 25 mg/kg, în timp ce la doza de 250 mg/kg s-a manifestat o micșorare nesemnificativă a parametrului cercetat (tab. 3.6.).

Influența coptizinei bisulfat asupra indicilor hepatici. Nivelul bilirubinei totale și fracțiilor directe și indirecte nu s-a modificat esențial la administrarea dozelor studiate de coptizină bisulfat (tab. 3.7., 3.8.).

Activitatea transaminazelor nu s-a modificat semnificativ după 30 de zile de administrare a coptizinei bisulfat. La animalele cărora li s-a administrat coptizina bisulfat în doza de 2,5 mg/kg s-a constatat o majorare mai esențială a activității fosfatazei alcaline comparativ cu celelalte doze și lotul martor (tab. 3.7.). În toate loturile studiate s-a determinat o creștere a activității lactatdehidrogenazei, îndeosebi la doza de 5 mg/kg. Conținutul GGTP nu a suferit modificări esențiale după utilizarea coptizinei bisulfat cu excepția dozei de 2,5 mg/kg, când s-a constatat micșorarea activității enzimei respective (tab. 3.7., 3.8.).

Tabelul 3.7. Modificarea parametrilor hepatici la administrarea timp de 30 zile a coptizinei bisulfat în doze de 2,5; 5; 10 și 25 mg/kg

Parametrii biochimici	Lotul martor, $M \pm m$	Dozele coptizinei bisulfat, $M \pm m$			
		2,5 mg/kg	5 mg/kg	10 mg/kg	25 mg/kg
AsAT (UI/L)	29,0±1,6	28,1±3,9	30,2±2,1	28,3±3,9	29,0±1,2
AlAT (UI/L)	18,6±1,2	19,2±2,0	21,5±1,6	19,0±1,8	19,3±3,1
Fosfataza alcalină (UI/L)	82,3±4,2	136,8±10,7*	131,0±31,4	99,7±2,0*	78,2±6,1

Lactatdehidrogenaza (UI/L)	273,0±12,4	299,3±24,2	330,5±14,0*	309,1±31,1	318,8±32,5
GGTP (UI/L)	2,5 ± 0,2	1,4 ± 0,1*	2,5 ± 0,1	3,0 ± 0,3	2,5 ± 0,3
Bilirubina totală (mcmol/L)	4,5 ± 0,4	4,3 ± 0,4	4,4 ± 0,6	4,2 ± 0,5	5,3 ± 1,4
Bilirubina directă (mcmol/L)	3,0 ± 0,4	2,6 ± 0,2	3,1 ± 0,5	2,6 ± 0,3	3,6 ± 0,9
Bilirubina indirectă (mcmol/L)	1,5 ± 0,2	1,7 ± 0,3	1,4± 0,3	1,6 ± 0,2	1,7 ± 0,4

Notă: * - p<0,05 comparativ cu cu lotul martor

Tabelul 3.8. Modificarea parametrilor hepatici la administrarea timp de 30 zile a coptizinei bisulfat în doza de 250 mg/kg

Parametrii biochimici	Lotul martor, M±m	Coptizina bisulfat, M±m
AsAT (UI/L)	151,2 ± 4,5	155,0 ± 8,5
AlAT (UI/L)	66,8 ± 2,3	74,1 ± 0,9
Raport AsAT/ AlAT (coef. Ritis)	2,28 ± 0,42	2,14 ± 0,07
Fosfataza alcalină (UI/L)	256,3 ± 5,1	306,4 ± 8,5
Lactatdehidrogenaza (UI/L)	565,6 ± 8,3	580,8 ± 12,1
GGT (UI/L)	14,4 ± 1,2	18,3 ± 0,4
Beta-lipoproteine (mg%)	377,0 ± 37,0	335,2 ± 7,8
Bilirubina totală (mcmol/L)	2,5 ± 0,1	2,42 ± 0,06
Bilirubina directă (mcmol/L)	0,7 ± 0,08	0,82 ± 0,03
Bilirubina indirectă (mcmol/L)	1,8 ± 0,2	1,6 ± 0,06

Notă: deosebiri statistice nesemnificative

La examenul macroscopic al organelor interne ale animalelor supuse testării toxicității cronice a coptizinei bisulfat modificări vizibile nu s-au depistat. Ficatul - de dimensiuni obișnuite cu suprafață netedă și contururi regulate, de culoare roșietică-brună, luciosă, consistență elastică, fără modificări structurale vizibile și fără incluziuni patologice pe secțiunile transversale. Pancreasul - formă obișnuită, de consistență elastică, fără indurații, de culoare roșie-pală, pe secțiune - fără modificări structurale vizibile ale parenchimului. Rinichii - de dimensiuni obișnuite cu suprafața netedă, consistență elastică, cu structura păstrată, fără indurații, de culoare roșie-brună pronunțată, pe secțiune - cu păstrarea desenului structural: parenchimul lucios, structura cortico-medulară bine pronunțată, piramidele de culoare roz, bazinetele și calicele neobstrucționate. Pulmonii - de consistență moale, formă obișnuită, fără focare de indurație, de culoare roză deschisă, pe secțiune - fără modificări structurale vizibile: desenul omogen, parenchimul lucios și neted. Cordul - de dimensiuni, culoare și consistență obișnuite, pe secțiune - fără schimbări de structură vizibile: mușchiul cardiac de consistență elastică, culoare brună, cavitățile cordului fără conținut, valvulele elastice, mobile, semitransparente. Mucoasa tubului digestiv - de consistență moale, culoare roză lucioasă, fără leziuni de suprafață.

3.3. Biodisponibilitatea coptizinei bisulfat după administrarea intragastrală și intraperitoneală

Pentru aprecierea biodisponibilității coptizinei bisulfat s-a inițiat un studiu preclinic, efectuat pe două specii de animale de laborator (șobolani și șoareci) cu introducerea substanței cercetate pe două căi de administrare (intragastrală și intraperitoneală) și colectarea materialelor biologice (sânge, ficat, bilă și conținut intestinal) pentru determinarea prezenței ei la aceste nivele și aprecierea distribuției coptizinei bisulfat după primul pasaj hepatic [115, 116].

3.3.1. Rezultatele distribuției coptizinei bisulfat după administrarea intragastrală și intraperitoneală la șobolani

După administrarea intraperitoneală a coptizinei bisulfat în doza de 50 mg/kg peste 15 min s-a determinat o concentrație plasmatică a substanței cercetate de 0,539 $\mu\text{g/mL}$. (tab. 3.9.).

Tabelul 3.9. Cantitatea coptizinei bisulfat în sânge și ficat după administrarea intraperitoneală la șobolani

Proba cercetată	Administrare intraperitoneală, $\mu\text{g/mL}$; $M\pm m$		
	15 min	30 min	1 oră
Sânge	0,539 $\pm$ 0,03	0,218 $\pm$ 0,02	0,426 $\pm$ 0,05
	Administrare intragastrală, $\mu\text{g/g}$; $M\pm m$		
	1 oră	2 ore	3 ore
Ficat	0,243 $\pm$ 0,021	0,484 $\pm$ 0,013	0,517 $\pm$ 0,053

Notă: * - veridicitatea cu 50 mg/kg

Peste 30 minute concentrația plasmatică a coptizinei bisulfat a scăzut până la 0,218 $\mu\text{g/mL}$, iar peste 60 minute nivelul ei s-a majorat până la 0,426 $\mu\text{g/mL}$.

După administrarea intragastrală a coptizinei bisulfat în doza de 50 mg/kg în probele de ficat peste 1 oră valoarea substanței cercetate s-a determinat la nivel de 0,243 $\mu\text{g/g}$. Peste 2 ore nivelul ei s-a majorat până la 0,484 $\mu\text{g/g}$, iar peste 3 ore nivelul ei a crescut până la 0,517 $\mu\text{g/g}$ (tab. 3.9.).

3.3.2. Rezultatele distribuției coptizinei bisulfat după administrarea intragastrală la șoareci

În lotul de șoareci cărora a fost administrată intragastral coptizina bisulfat în doza de 0,2 mg/kg cantitatea substanței cercetate în probele de ficat, peste 3 ore după administrare, a fost de 0,109 $\mu\text{g/g}$, iar în bilă - 0,154 $\mu\text{g/g}$ (tab. 3.10.).

Tabelul 3.10. Cantitatea coptizinei bisulfat în ficat, bilă și materii fecale după administrarea intragastrală la șoareci

Doza de coptizină bisulfat	Nr. de animale, n	Cantitatea în ficat, $\mu\text{g/g}$ $M\pm m$	Cantitatea în bilă, $\mu\text{g/g}$ $M\pm m$	Cantitatea în materii fecale, $\mu\text{g/g}$ $M\pm m$
0,2 mg/kg	6	0,109 $\pm$ 0,033	0,154 $\pm$ 0,071	-

2 mg/kg	6	0,538 ± 0,518	0,316 ± 0,281	-
20 mg/kg	6	1,42 ± 0,610*	1,17 ± 0,697*	3410,0 ± 34,0

Notă: * - veridicitatea cu 0,2 mg/kg și 2 mg/kg

La administrarea intragastrală a coptizinei bisulfat în doza de 2 mg/kg cantitatea substanței cercetate în probele de ficat a fost de 0,538 µg/g, iar în bilă - 0,316 µg/g. În cazul administrării intragastrale a dozei de 20 mg/kg de coptizină bisulfat cantitatea ei în probele de ficat a crescut până la 1,42 µg/g, în probele cu bilă până la 1,17 µg/g. (tab. 3.10.).

La determinarea prezenței coptizinei bisulfat în probele cu materii fecale, administrată în doza de 20 mg/kg, peste 3 ore după administrare, s-a obținut o cantitate de 3410 µg/g, care a constituit aproximativ 17% din doza administrată [115].

3.4. Sinteza capitolului 3

În cazul cercetării toxicității acute a coptizinei bisulfat, la administrarea intraperitoneală a ei, prin introducerea diluțiilor maxime ale substanței cercetate în volum maxim de administrare la șoareci, semne de intoxicații grave și decesul animalelor nu a survenit, modificările de comportament s-au restabilit în primele ore de experiență; la administrarea intragastrală a soluțiilor cu coptizină bisulfat la șoareci și șobolani, de asemenea semne de intoxicații grave și decesul animalelor nu a survenit, valorile parametrilor sanguini nu au indicat devieri esențiale, determinate de acțiunea substanței cercetate.

Studiul toxicității cronice a coptizinei bisulfat în dozele stabilite (conform recomandărilor metodice) și durata de administrare necesară, nu a prezentat semne de intoxicații grave sau decesul animalelor, iar analizele rezultatelor biochimice și parametrilor hepatici au determinat modificări dozodependente ale concentrației plasmatice a glucozei și colesterolului. Examenul macroscopic al organelor interne nu a prezentat modificări structurale ale lor.

Rezultatele cercetării toxicității acute și cronice a coptizinei sub formă de bisulfat, a permis de a aprecia substanța dată cu un nivel minim de toxicitate și a argumentat efectuarea studiilor preclinice și clinice ulterioare.

Cercetând biodisponibilitatea coptizinei bisulfat prin administrarea intraperitoneală la șobolani a alcaloidului în doza de 50 mg/kg s-a constatat că cea mai mare concentrație a preparatului în sânge s-a stabilit peste 15 min cu o diminuare peste 30 min și o majorare peste 1 oră, iar după introducerea intragastrală s-a determinat o creștere continuă a cantității coptizinei bisulfat în probele de ficat peste 1 oră, 2 ore și 3 ore. Administrarea intragastrală a coptizinei bisulfat în dozele de 0,2 mg/kg, 2 mg/kg și 20 mg/kg la șoareci a demonstrat o creștere proporțională în timp a dozei și a cantității substanței cercetate în ficat și bilă.

4. PARTICULARITĂȚILE ACȚIUNII HEPATOPROTECTOARE ȘI GASTROPROTECTOARE A COPTIZINEI BISULFAT

4.1. Aprecierea acțiunii comparative hepatoprotectoare a coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice acute modelate experimental

Pentru aprecierea acțiunii comparative hepatoprotectoare a coptizinei bisulfat s-a inițiat un studiu al ei cu alcaloidul pur din rostopască berberină bisulfat, pe fondalul hepatitelor toxice acute induse prin tetraclorura de carbon. Modelarea hepatitei toxice acute a fost efectuată prin administrarea subcutană a soluției de tetraclorură de carbon a câte 0,4 ml/100 g timp de 4 zile, conform metodei clasice de modelare a hepatitelor toxice, iar aprecierea acțiunii comparative hepatoprotectoare a coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat asupra evoluției hepatitelor toxice modelate s-a efectuat prin examinarea parametrilor hepatici și metabolici după 7 și 14 zile de administrare intragastrală a soluțiilor cu substanțele cercetate în doze de 1 mg/kg și 5 mg/kg [110].

Modificarea activității transaminazelor, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl₄.

Modificarea activității transaminazelor în lotul de control după 7 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl₄, s-a constatat o majorare semnificativă a activității AlAT până la 22,87±6,62 mmol/L (p<0,05), comparativ cu rezultatele obținute la șobolanii din lotul martor de 10,93±0,90 mmol/L. (tab. 4.1.).

Tabelul 4.1. Modificarea activității transaminazelor, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl₄

Grupe de animale	Nr. animale, n	AlAT, mmol/L, M±m	AsAT, mmol/L, M±m	Coeficient de Ritis
1. Lotul martor	10	10,93±0,90	27,41±1,15	2,5
2. CCl ₄ după 7 zile (lotul de control)	10	22,87±6,62*	37,09±1,84*	1,18
3. CCl ₄ + coptizină bisulfat 1 mg/kg 7 zile	10	10,69±0,86	28,64±2,41	2,67
4. CCl ₄ + coptizină bisulfat 5 mg/kg 7 zile	10	22,07±1,67*	31,53±1,85	1,42
5. CCl ₄ + berberină bisulfat 1 mg/kg 7 zile	10	33,94±2,85*	25,53±1,82	0,75
6. CCl ₄ + berberină bisulfat 5 mg/kg 7 zile	10	38,94±4,20	43,82±6,21	1,12
7. Lotul martor	10	11,98±0,57	27,52±1,89	2,3
8. CCl ₄ după 14 zile (lotul de control)	10	12,71±1,24	20,53±0,92*	1,6
9. CCl ₄ + coptizină bisulfat 1 mg/kg 14zile	10	14,11±3,38	25,42±2,40	1,8
10. CCl ₄ +coptizină bisulfat 5mg/kg 14zile	10	19,17±1,16	23,78±1,77	1,2
11. CCl ₄ +berberină bisulfat 1mg/kg 14zile	10	22,77±2,67	24,23±3,60	1,06*
12. CCl ₄ +berberină bisulfat 5mg/kg 14zile	10	17,29±1,37	26,50±3,11	1,53*

Notă: * - p<0,05 comparativ cu lotul martor;

De asemenea, s-a determinat și o creștere a activității AsAT până la 37,09±1,84 mmol/L (p>0,05), comparativ cu valoarea de 27,41±1,15 mmol/L a lotului martor. Valorile coeficientului de Ritis s-au diminuat până la 1,18 comparativ cu lotul martor de 2,5 (tab. 4.1.).

Modificarea activității transaminazelor în lotul tratat cu coptizină bisulfat după 7 zile de experiență.

În loturile de animale tratate cu coptizină bisulfat în doza de 1 mg/kg, pe fondalul hepatitelor toxice induse cu CCl_4 , nivelele AlAT și AsAT s-au stabilit la valorile de $10,69 \pm 0,86$ mmol/L și $28,64 \pm 2,41$ mmol/L, fiind practic nemodificate și egale cu valorile lotului martor de $10,93 \pm 0,90$ mmol/L și $27,41 \pm 1,15$ mmol/L respectiv. De asemenea, au fost stabilite valori echivalente ale coeficientului de Ritis de 2,67 în lotul tratat cu coptizină bisulfat și de 2,5 în lotul martor. (tab. 4.1.).

În loturile de animale tratate cu coptizină bisulfat în doza de 5 mg/kg, pe fondalul hepatitelor toxice induse cu CCl_4 , nivelul AlAT s-a majorat până la 22,07 mmol/L comparativ cu lotul martor (10,93 mmol/L) și practic s-a echivalat cu nivelul AlAT de 22,87 mmol/L din lotul animalelor de control. Totodată, s-a determinat o scădere a nivelului AsAT până la $31,53 \pm 1,85$ mmol/L ($p > 0,05$), comparativ cu valoarea de $37,09 \pm 1,84$ mmol/L din lotul animalelor de control. În aceste condiții coeficientul de Ritis a constituit 1,42 în lotul tratat cu coptizină bisulfat față de valoarea 1,18, obținută în aceleași condiții la animalele din lotul de control. (tab. 4.1.).

Modificarea activității transaminazelor în lotul tratat cu berberină bisulfat după 7 zile de experiență.

În loturile de animale tratate cu berberină bisulfat în doza de 1 mg/kg, pe fondalul hepatitelor toxice induse cu CCl_4 , s-a constatat, că nivelul AsAT (25,53 mmol/L) nu s-a modificat esențial față de valorile obținute la animalele din lotul martor (27,41 mmol/L), în timp ce nivelul AlAT a crescut esențial până la 33,94 mmol/L ($p < 0,05$) față de valorile obținute la animalele din loturile martor (10,93 mmol/L) și de control (22,87 mmol/L). Modificările date au contribuit la micșorarea dramatică a coeficientului de Ritis până la 0,75, comparativ cu lotul martor de 2,5 (tab. 4.1.).

În același timp, la administrarea berberinei bisulfat în doza de 5 mg/kg timp de 7 zile, nivelul transaminazelor a crescut (AlAT 38,94 mmol/L și AsAT 43,82 mmol/L) atât față de lotul martor (10,93 mmol/L și 27,41 mmol/L), cât și lotul de control (22,87 mmol/L și 37,09 mmol/L). Modificările obținute sunt confirmate și prin diminuarea coeficientului de Ritis până la valoarea de 1,12, care practic corespunde cu nivelul obținut în lotul de control de 1,18.

Modificarea activității transaminazelor în lotul de control după 14 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl_4 , s-a constatat o restabilire a activității AlAT diminuându-se până la 12,71 mmol/L egală practic cu valoarea celei din lotul martor (11,98 mmol/L), iar nivelul AsAT de 20,53 mmol/L s-a dovedit a fi și mai scăzut

comparativ cu lotul martor (27,52 mmol/L). În aceste condiții coeficientul de Ritis a fost de 1,6 față de nivelul lui de 2,3 din lotul martor (tab. 4.1.).

Modificarea activității transaminazelor în lotul tratat cu coptizină bisulfat după 14 zile de experiență.

În lotul de animale tratate cu coptizină bisulfat în doza de 1 mg/kg, activitatea enzimei AsAT (25,42 mmol/L) s-a menținut în limitele lotului martor (27,52 mmol/L), iar nivelul AlAT s-a majorat nesemnificativ până la 14,11 mmol/L comparativ cu valoarea de 11,98 mmol/L din lotul martor și de 12,71 mmol/L din lotul de control. În aceste condiții coeficientul de Ritis s-a majorat până la 1,8 față de 1,6 din lotul de control (tab. 4.1.).

În loturile de animale tratate cu coptizină bisulfat în doza de 5 mg/kg s-a majorat activitatea AlAT până la 19,17 mmol/L ($p > 0,05$) față de 12,71 mmol/L din lotul de control, iar valoarea AsAT până la 23,78 mmol/L față de 20,53 mmol/L din lotul de control. Coeficientul de Ritis s-a diminuat până la 1,2 față de nivelul 1,6 din lotul de control (tab. 4.1.).

Modificarea activității transaminazelor în lotul tratat cu berberină bisulfat după 14 zile de experiență.

În loturile de animale tratate cu berberină bisulfat activitatea AsAT s-a majorat la doza de 1 mg/kg până la 24,23 mmol/L și la doza 5 mg/kg până la 26,50 mmol/L comparativ cu valoarea de 20,53 mmol/L din lotul de control, fiind mai apropiate de valoarea 27,52 mmol/L din lotul martor.

Valorile AlAT s-au majorat la doza de berberină bisulfat de 1 mg/kg până la 22,77 mmol/L și la doza de 5 mg/kg până la 17,29 mmol/L față de 12,71 mmol/L din lotul de control și 11,98 mmol/L în lotul martor. Modificările date au contribuit la diminuarea coeficientului de Ritis, la doza de 1 mg/kg până la 1,06 și la doza de 5 mg/kg până la 1,53, fiind sub nivelul coeficientului de Ritis din lotul martor (2,3) (tab. 4.1.).

Modificarea activității fosfatazei alcaline, fosfatazei acide și GGTP, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl₄.

Modificarea activității fosfatazei alcaline în loturile cercetate după 7 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl₄ (lotul de control), s-a constatat o creștere nesemnificativă a nivelului fosfatazei alcaline până la 110,96 UI/L ($p > 0,05$) comparativ cu valoarea de 100,74 UI/L obținută la animalele din lotul martor.

În loturile tratate cu coptizină bisulfat nivelele fosfatazei alcaline s-au micșorat până la 97,60 UI/L la doză de 1 mg/kg și până la 70,73 UI/L la doza de 5 mg/kg, comparativ cu nivelul de 100,74 UI/L, caracteristic lotului martor (tab. 4.2.).

Tabelul 4.2. Modificarea activității fosfatazei alcaline, fosfatazei acide și GGTP, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl₄

Grupele de animale	Nr.ani- male, n	Fosfataza alcalină, UI/L, M±m	Fosfataza acidă, UI/L, M±m	GGTP, UI/L, M±m	Raportul FA/AlAT
1. Lotul martor	10	100,74±6,25	2,16±0,28	5,07±0,38	9,21
2. CCl ₄ după 7 zile (lotul de control)	10	110,96±7,89	2,32±0,27	4,19±0,37*	4,9*
3. CCl ₄ + coptizină bisulfat 1 mg/kg 7 zile	10	97,60±7,09*	2,96±0,27	3,98±0,32*	9,13
4. CCl ₄ + coptizină bisulfat 5 mg/kg 7 zile	10	70,73±4,64*	4,92±0,41	2,89±0,32*	3,2*
5. CCl ₄ + berberină bisulfat 1 mg/kg 7 zile	10	144,54±7,54	8,33±0,42	2,24±0,23*	4,26
6. CCl ₄ + berberină bisulfat 5 mg/kg 7 zile	10	65,45±5,16*	6,65±0,70	2,05±0,25*	1,7*
7. Lotul martor	10	94,14±8,36	3,24±0,53	4,63±0,35	7,68
8. CCl ₄ după 14 zile (lotul de control)	10	134,06±10,71	2,68±0,19*	4,54±0,33	10,54*
9. CCl ₄ + coptizină bisulfat 1 mg/kg 14 zile	10	93,81±9,47*	3,29±0,33	4,35±0,23	6,64
10. CCl ₄ + coptizină bisulfat 5 mg/kg 14 zile	10	61,33±6,55*	4,31±0,31	1,96±0,17	3,25*
11. CCl ₄ + berberină bisulfat 1 mg/kg 14 zile	10	80,63±3,47	4,06±0,21	2,52±0,57	3,54
12. CCl ₄ + berberină bisulfat 5 mg/kg 14 zile	10	83,66±4,29	4,50±0,26	2,02±0,22	4,83

Notă: * - p<0,05 comparativ cu lotul martor;

În lotul tratat cu berberină bisulfat în doza de 1 mg/kg nivelul fosfatazei alcaline a crescut până la 144,54 UI/L (p>0,05) comparativ cu valoarea de 100,74 UI/L obținută la animalele din lotul martor, iar în lotul tratat cu doza de 5 mg/kg nivelul enzimei s-a micșorat semnificativ până la 65,45 UI/L comparativ cu valoarea caracteristică lotului martor (tab. 4.2.).

Modificarea activității fosfatazei alcaline în loturile cercetate după 14 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl₄ (lotul de control), s-a constatat o majorare a nivelului fosfatazei alcaline până la 134,06 UI/L (p>0,05) comparativ cu nivelul de 94,14 UI/L atribuit animalelor din lotul martor.

La șobolanii din loturile tratate cu coptizină bisulfat, nivelul fosfatazei alcaline s-a micșorat neesențial la doza de 1 mg/kg până la 93,81 UI/L, și s-a diminuat semnificativ până la 61,33 UI/L la doza de 5 mg/kg comparativ cu valoarea specifică lotului martor de 94,14 UI/L.

Nivelele fosfatazei alcaline la animalele din loturile tratate cu berberină bisulfat în ambele doze de 1 mg/kg și 5 mg/kg s-au diminuat nesemnificativ până la valorile de 80,63 UI/L și 83,66 UI/L respectiv (tab. 4.2.).

Modificarea raportului fosfatază alcalină/alaninaminotransferază (FA/AlAT).

Raportul FA/AlAT este un indice utilizat pentru aprecierea gradului de afectare hepatică.

La determinarea acestui indice la animalele din lotul cu hepatite toxice induse cu CCl₄ (lotul de control) la a 8-a zi s-a constatat o reducere a valorii raportului FA/AlAT până la 4,9 comparativ cu valoarea de 9,21 specifică animalelor din lotul martor, fapt ce ne dovedește despre predominarea în acești termeni a sindromului de citoliză.

La animalele tratate cu coptizină bisulfat timp de 7 zile în doza de 1 mg/kg raportul FA/AlAT practic nu s-a modificat fiind de 9,13 comparativ cu 9,21 la șobolanii din lotul martor, iar la administrarea coptizinei bisulfat în doza de 5 mg/kg, valoarea raportului FA/AlAT s-a diminuat până la 3,2 datorită diminuării semnificative a nivelului fosfatazei alcaline (tab. 4.2.).

Astfel, coptizina bisulfat în dozele mici (1 mg/kg), în termenii precoci ai leziunii hepatice, va influența benefic asupra fenomenelor de citoliză și colestază, iar în dozele de 5 mg/kg va regla preponderent sindromul de colestază.

La utilizarea berberinei bisulfat în doza de 1 mg/kg timp de 7 zile s-a determinat un nivel al raportului FA/AlAT de 4,26 față de 4,9 tipic animalelor din lotul de control, cauzat de creșterea atât a activității FA, cât și a AlAT. Utilizarea berberinei bisulfat în doza de 5 mg/kg timp de 7 zile a demonstrat o micșorare esențială a raportului FA/AlAT până la 1,7, datorită scăderii nivelului FA și majorării celui a AlAT (38,94 mmol/L) (tab. 4.2.).

Putem conchide, că alcaloidul în doze de 5 mg/kg va influența dereglările colestatice fără a le modifica pe cele de citoliză.

După 14 zile de experiență analiza raportului FA/AlAT a demonstrat o majorare a acestui indice în lotul de control până la 10,54 comparativ cu valoarea lui de 7,68 obținută la animalele din lotul martor, fapt ce ne relevă despre predominarea fenomenelor de colestază.

În loturile tratate cu coptizină bisulfat în doza de 1 mg/kg timp de 14 zile nivelul fosfatazei alcaline s-a stabilit la valoarea de 93,81 UI/L, fapt ce a determinat revenirea nivelului raportului FA/AlAT la valoarea de 6,64, chiar sub limitele lotului martor (7,68).

La administrarea coptizinei bisulfat în doza de 5 mg/kg, timp de 14 zile, a scăzut semnificativ valoarea fosfatazei alcaline până la 61,33 UI/L, dar nu a crescut nivelul AlAT (19,17 mmol/L), fapt ce a contribuit la diminuarea esențială a raportului FA/AlAT până la 3,25.

La administrarea berberinei bisulfat, în ambele doze (1 mg/kg și 5 mg/kg), timp de 14 zile, activitatea fosfatazei alcaline s-a ameliorat, înregistrând nivelele de 80,63 UI/L și 83,66 UI/L respectiv, dar s-au majorat nivelele AlAT (22,77 mmol/L și 17,29 mmol/L), ce a determinat o micșorare a raportului FA/AlAT până la 3,54 și 4,83 respectiv (tab. 4.1.; 4.2.).

Modificarea activității fosfatazei acide în loturile cercetate după 7 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl_4 (lotul de control), s-a constatat o majorare neesențială a fosfatazei acide până la 2,32 UI/L. În loturile de animale tratate cu coptizină bisulfat în doza de 1 mg/kg s-a determinat o majorare a activității fosfatazei acide până la 2,96 UI/L, iar la doza de 5 mg/kg s-a determinat o creștere semnificativă a nivelului enzimei până la $4,92 \pm 0,41$ UI/L ($p > 0,05$) comparativ cu valoarea de 2,32 UI/L specifică lotului de control. La utilizarea berberinei bisulfat în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg, nivelele fosfatazei acide s-au majorat semnificativ până la 8,33 UI/L și 6,65 UI/L comparativ cu nivelele din lotul martor (2,16 UI/L) și de control (2,32 UI/L). (tab. 4.2.).

Modificarea activității fosfatazei acide în loturile cercetate după 14 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl_4 (lotul de control), s-a determinat o diminuare a activității fosfatazei acide până la 2,68 UI/L ($p > 0,05$), comparativ cu valorile ei de 3,24 UI/L obținute la animalele din lotul martor.

La utilizarea coptizinei bisulfat în doza de 1 mg/kg, nivelul fosfatazei acide s-a menținut în limita de 3,29 UI/L fiind practic egal cu valoarea de 3,24 UI/L specifică pentru lotul martor, iar în doza de 5 mg/kg nivelul enzimei date s-a majorat până la 4,31 UI/L.

La utilizarea berberinei bisulfat, în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg, s-a determinat o majorare a activității fosfatazei acide până la 4,06 UI/L și 4,50 UI/L comparativ cu datele obținute (2,68 UI/L) la animalele din lotul de control (tab. 4.2.).

Modificarea activității gamaglutamiltranspeptidazei (GGTP) în loturile cercetate după 7 zile de experiență.

La șobolanii din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl_4 (lotul de control), s-a relevat o diminuare a acestei enzime până la 4,19 UI/L ($p > 0,05$) comparativ cu 5,07 UI/L specific pentru lotul martor. La animalele tratate cu coptizină bisulfat în doze de 1 mg/kg și 5 mg/kg, nivelul GGTP a scăzut respectiv până la 3,98 UI/L și 2,89 UI/L comparativ cu valorile obținute la animalele din loturile de control (4,19 UI/L) și martor (5,07 UI/L). La șobolanii tratați cu berberină bisulfat în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg s-a determinat o micșorare mai accentuată a activității GGTP până la 2,24 UI/L și 2,05 UI/L respectiv (tab. 4.2.).

Modificarea activității gamaglutamiltranspeptidazei (GGTP) în loturile cercetate după 14 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl_4 (lotul de control), nu s-au constatat modificări esențiale în activitatea GGTP nivelul lor fiind de 4,54 UI/L comparativ cu valoarea de 4,63 UI/L, obținută la șobolanii din lotul martor.

La utilizarea coptizinei bisulfat în doza de 1 mg/kg activitatea GGTP nu s-a modificat esențial fiind de 4,35 UI/L, pe când la administrarea coptizinei bisulfat în doza de 5 mg/kg

nivelul GGTP s-a micșorat până la 1,96 UI/L ($p>0,05$) comparativ cu datele obținute în lotul de control (4,54 UI/L). La utilizarea berberinei bisulfat în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg nivelele GGTP s-au micșorat considerabil până la 2,52 UI/L și 2,02 UI/L respectiv (tab. 4.2.).

Modificarea nivelului bilirubinei totale și fracțiilor ei, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl₄.

Modificarea nivelului bilirubinei totale și fracțiilor ei în loturile cercetate după 7 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl₄ (lotul de control), s-a constatat o majorare a nivelului bilirubinei totale (5,26 mmol/L), directe (3,34 mmol/L) și indirecte (1,92 mmol/L comparativ cu datele obținute la animalele din lotul martor (3,95 mmol/L; 2,57 mmol/L și 1,38 mmol/L) (tab. 4.3.).

Tabelul 4.3. Modificarea nivelului bilirubinei totale, directe și indirecte, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl₄

Grupele de animale	Nr. animale, n	Bilirubina totală, mmol/L M±m	Bilirubina directă, mmol/L M±m	Bilirubina indirectă, mmol/L M±m
1. Lotul martor	10	3,95±0,36	2,57±0,22	1,38±0,17
2. CCl ₄ după 7 zile (lotul de control)	10	5,26±0,51	3,34±0,27	1,92±0,35
3. CCl ₄ + coptizină bisulfat 1 mg/kg 7 zile	10	6,15±0,78	3,75±0,46	2,40±0,37
4. CCl ₄ + coptizină bisulfat 5 mg/kg 7 zile	10	8,23±1,09	5,24±0,76	2,99±0,44
5. CCl ₄ + berberină bisulfat 1 mg/kg 7 zile	10	7,31±0,92	4,78±0,73	2,53±0,22
6. CCl ₄ + berberină bisulfat 5 mg/kg 7 zile	10	6,26±0,49	3,88±0,33	2,38±0,25
7. Lotul martor	10	4,86±0,54	3,26±0,33	1,60±0,26
8. CCl ₄ după 14 zile (lotul de control)	10	4,27±0,49	2,92±0,32*	1,35±0,21*
9. CCl ₄ + coptizină bisulfat 1 mg/kg 14 zile	10	3,87±0,38*	2,57±0,18*	1,30±0,28*
10. CCl ₄ +coptizină bisulfat 5 mg/kg 14 zile	10	5,28±0,25	3,37±0,25	1,91±0,14
11. CCl ₄ +berberină bisulfat 1 mg/kg 14 zile	10	5,22±0,57	3,39±0,33	1,83±0,26
12. CCl ₄ +berberină bisulfat 5 mg/kg 14 zile	10	3,50±0,18*	2,39±0,24*	1,11±0,14*

Notă: * - $p<0,05$ - veridicitate cu lotul martor.

La analiza fracțiilor bilirubinei directe și inidrecte, în lotul de animale cu hepatite toxice induse cu CCl₄ s-a relevat o deviere nesemnificativă a acestora, fiind de 63% pentru bilirubina directă și de 37% pentru cea indirectă, comparativ cu valorile obținute la animalele din lotul martor de 65% pentru bilirubina directă și 35% pentru cea indirectă.

În loturile tratate cu coptizină bisulfat în doza de 1 mg/kg s-a determinat creștere a bilirubinei totale până la 6,15 mmol/L, bilirubinei directe până la 3,75 mmol/L și indirecte până la 2,40 mmol/L, iar în doza de 5 mg/kg bilirubina totală a constituit 8,23 mmol/L, bilirubina directă - 5,24 mmol/L și indirectă - 2,99 mmol/L (tab. 4.3.). Pe când raporturile dintre fracțiile bilirubinei s-au micșorat neesențial fiind de 61% pentru bilirubina directă la utilizarea 1 mg/kg și

63% pentru bilirubina directă la utilizarea a 5 mg/kg de coptizină bisulfat. Fraakțiile bilirubinei indirecte fiind de 39% pentru doza de 1 mg/kg și 37% pentru doza de 5 mg/kg.

În loturile tratate cu berberină bisulfat, în condiții similare, s-a determinat o creștere a conținutului bilirubinei totale până la 7,31 mmol/L în doza de 1 mg/kg și 6,26 mmol/L în doza de 5 mg/kg (tab. 4.3.). De asemenea s-a determinat o creștere a valorilor bilirubinei directe și indirecte, în dozele respective, fără modificări semnificative a raportului dintre ele (65% vs 35% pentru doza de 1 mg/kg și 62% vs 38% pentru doza de 5 mg/kg).

Modificarea nivelului bilirubinei totale și fracțiilor ei în loturile cercetate după 14 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl₄ (lotul de control), s-a constatat o micșorare neesențială a nivelului bilirubinei totale până la 4,27 mmol/L, bilirubinei directe până la 2,92 mmol/L și indirecte până la 1,35 mmol/L, comparativ cu rezultatele obținute la animalele din lotul martor (4,86 mmol/L, 3,26 mmol/L și 1,60 mmol/L). (tab. 4.3.). Raportul dintre fracția directă și indirectă a bilirubinei în lotul dat a constituit: 68% vs 32% pentru lotul cu hepatitele toxice induse cu CCl₄, comparativ cu procentajul de 67% vs 33% pentru lotul martor.

La administrarea coptizinei bisulfat în doza de 1 mg/kg, s-a determinat o micșorare a nivelului bilirubinei totale (3,87 mmol/L), directe (2,57 mmol/L) și indirecte (1,30 mmol/L) față de valorile din lotul martor și cel de control (tab. 4.3.). Raportul fracției bilirubinei directe față de cea indirectă practic nu s-a modificat fiind de 66% vs 34%.

La administrarea coptizinei bisulfat în doza de 5 mg/kg s-a relevat o majorare a conținutului bilirubinei totale până la 5,28 mmol/L, bilirubinei directe până la 3,37 mmol/L și celei indirecte până la 1,91 mmol/L, comparativ cu rezultatele din lotul martor și cel de control (tab. 4.3.). Raportul fracției bilirubinei directe față de cea indirectă s-a majorat cu o prevalare neesențială a fracției indirecte (64% vs 36%).

La administrarea berberinei bisulfat în doza de 1 mg/kg s-a constatat o majorare a nivelului bilirubinei totale până la 5,22 mmol/L, bilirubinei directe până la 3,39 mmol/L și indirecte până la 1,83 mmol/L (tab. 4.3.). Raportul fracțiilor bilirubinei directe față de cea indirectă fiind de 65% vs 35%. La administrarea berberinei bisulfat în doza de 5 mg/kg s-a determinat o micșorare a conținutului bilirubinei totale până la 3,50 mmol/L, bilirubinei directe până la 2,39 mmol/L și bilirubinei indirecte până la 1,11 mmol/L (tab. 4.3.), cu menținerea raportului dintre fracțiile ei în limitele lotului martor (68% vs 32%).

Modificarea activității lactatdehidrogenazei, glucozei și probei cu timol, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl₄.

Modificarea activității lactatdehidrogenazei în loturile cercetate după 7 zile de experiență.

La determinarea activității lactatdehidrogenazei la animalele cu hepatită toxică indusă cu CCl_4 (lotul de control) s-a constatat o diminuare a nivelului LDH până la 297,87 UI/L ($p > 0,05$) comparativ cu valoarea de 322,89 UI/L determinată la animalele din lotul martor.

În loturile tratate cu coptizină bisulfat în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg nivelul enzimei LDH a scăzut nesemnificativ până la 319,58 UI/L și 298,35 UI/L comparativ cu nivelul ei la animalele din lotul martor (322,89 UI/L) și lotul de control (297,87 UI/L). (tab. 4.4.).

Tabelul 4.4. Modificarea activității LDH, nivelului glucozei și probei cu timol, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl_4

Grupele de animale	Nr. animale, n	LDH, UI/L $M \pm m$	Glucoza, mmol/L $M \pm m$	Proba timol, UI $M \pm m$
1. Lotul martor	10	322,89 $\pm$ 14,86	3,22 $\pm$ 0,18	4,71 $\pm$ 0,35
2. CCl_4 după 7 zile (lotul de control)	10	297,87 $\pm$ 17,62*	2,40 $\pm$ 0,07*	3,93 $\pm$ 0,20
3. CCl_4 + coptizină bisulfat 1 mg/kg 7 zile	10	319,58 $\pm$ 29,79	2,41 $\pm$ 0,04	4,21 $\pm$ 0,18
4. CCl_4 + coptizină bisulfat 5 mg/kg 7 zile	10	298,35 $\pm$ 17,07	2,96 $\pm$ 0,13	2,63 $\pm$ 0,07
5. CCl_4 + berberină bisulfat 1 mg/kg 7 zile	10	258,86 $\pm$ 18,03	3,03 $\pm$ 0,17	2,67 $\pm$ 0,05
6. CCl_4 + berberină bisulfat 5 mg/kg 7 zile	10	279,34 $\pm$ 17,41	3,45 $\pm$ 0,14	2,72 $\pm$ 0,05
7. Lotul martor	10	336,22 $\pm$ 16,53	2,51 $\pm$ 0,05	4,47 $\pm$ 0,24
8. CCl_4 după 14 zile (lotul de control)	10	231,57 $\pm$ 18,13*	2,40 $\pm$ 0,13	4,42 $\pm$ 0,19
9. CCl_4 +coptizină bisulfat 1 mg/kg 14 zile	10	258,22 $\pm$ 31,56	2,45 $\pm$ 0,06	4,13 $\pm$ 0,28
10. CCl_4 +coptizină bisulfat 5 mg/kg 14zile	10	226,69 $\pm$ 18,52	2,87 $\pm$ 0,14	3,02 $\pm$ 0,15
11. CCl_4 +berberină bisulfat 1mg/kg 14zile	10	236,44 $\pm$ 22,74	3,59 $\pm$ 0,14	2,93 $\pm$ 0,15
12. CCl_4 +berberină bisulfat 5mg/kg 14zile	10	319,80 $\pm$ 48,68	3,65 $\pm$ 0,17	3,19 $\pm$ 0,19

Notă: * - $p < 0,05$ comparativ cu lotul martor.

În loturile tratate cu berberină bisulfat în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg nivelele LDH s-au micșorat până la 258,86 UI/L și 279,34 UI/L fiind mai joase de valorile obținute la animalele din lotul tratat cu coptizină bisulfat și lotul martor (tab. 4.4.).

Modificarea activității lactatdehidrogenazei în loturile cercetate după 14 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl_4 (lotul de control), s-a constatat o micșorare până la 231,57 UI/L ($p < 0,05$) comparativ cu valoarea de 336,22 UI/L caracteristică animalelor din lotul martor. În loturile tratate cu coptizină bisulfat în ambele doze activitatea LDH nu s-a modificat semnificativ în comparație cu rezultatele obținute la animalele din lotul de control. Doar în lotul tratat cu berbebrină bisulfat în doza de 5 mg/kg LDH s-a stabilit la nivelul de 319,80 UI/L fiind aproximativ egală cu nivelul LDH obținut la animalele din lotul martor (336,22 UI/L) (tab. 4.4.).

Modificarea nivelului glucozei în loturile cercetate după 7 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl_4 (lotul de control), s-a constatat o micșorare a nivelului glucozei în sânge până la 2,40 mmol/L ($p < 0,05$) comparativ cu valoarea

de 3,22 mmol/L obținută la animalele din lotul martor (tab. 4.4.).

În lotul tratat cu 1 mg/kg de coptizină bisulfat hipoglicemia indusă de CCl_4 nu a fost influențată, iar în cel tratat cu 5 mg/kg coptizina bisulfat a contribuit la o majorare a conținutului glucozei până la 2,96 mmol/L ($p>0,05$) comparativ cu valoarea de 2,40 mmol/L caracteristică lotului de control. În loturile tratate cu berberină bisulfat în ambele doze nivelele glicemiei (3,03 mmol/L și 3,45 mmol/L) s-au menținut la limitele lotului martor (3,22 mmol/L) (tab. 4.4.).

Modificarea nivelului glucozei în loturile cercetate după 14 zile de experiență.

Nivelul glicemiei la animalele din lotul de control s-a restabilit până la valoarea de 2,40 mmol/L fiind aproximativ egală cu cea obținută la animalele din lotul martor (2,51 mmol/L).

La utilizarea coptizinei bisulfat în doza de 1 mg/kg nivelul glucozei practic nu s-a modificat, fiind egal cu valorile obținute la animalele din lotul martor și de control (tab.4.4).

În același timp, în lotul tratat cu coptizină bisulfat în doza de 5 mg/kg s-a determinat o majorare a conținutului glucozei până la 2,87 mmol/L comparativ ($p>0,05$) cu nivelul ei din lotul din control (2,40 mmol/L).

În loturile tratate cu berberină bisulfat în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg s-a determinat o creștere semnificativă a glicemiei până la 3,59 mmol/L și 3,65 mmol/L comparativ cu loturile incluse în experiență (tab. 4.4.).

Modificarea probei cu timol în loturile cercetate după 7 zile de experiență.

După 7 zile de experiență nivelul probei cu timol a scăzut doar în lotul tratat cu coptizină bisulfat în doza de 5 mg/kg până la 2,63 UI și în loturile tratate cu berberină bisulfat în doze de 1 mg/kg până la 2,67 UI și 5 mg/kg până la 2,72 UI comparativ cu valoarea obținută la animalele din lotul martor (4,71 UI) (tab. 4.4.).

Modificarea probei cu timol în loturile cercetate după 14 zile de experiență.

La animalele din lotul tratat cu coptizină bisulfat în doză de 1 mg/kg valoarea probei cu timol de 4,13 UI s-a menținut la nivelul de 4,47 UI obținut la animalele din lotul martor și de 4,42 UI în lotul de control. În același timp, în lotul tratat cu coptizină bisulfat în doza de 5 mg/kg și în loturile tratate cu berberină bisulfat în ambele doze nivelul probei cu timol s-a diminuat vădit (tab. 4.4.).

Modificarea nivelului colesterolului, proteinelor totale și albuminelor, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl_4 .

Modificarea nivelului colesterolului în loturile cercetate după 7 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl_4 (lotul de control), nivelul colesterolului practic nu s-a modificat comparativ cu rezultatele obținute la animalele din lotul martor (tab. 4.5.).

Tabelul 4.5. Modificarea nivelului colesterolului, proteinelor totale și albuminelor, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl₄

Grupele de animale	Nr. animale, n	Colesterol, mmol/L M±m	Proteine totale, g/L M±m	Albumine, g/L M±m
1. Lotul martor	10	3,40±0,05	65,30±2,38	26,06±0,48
2. CCl ₄ după 7 zile (lotul martor)	10	3,41±0,05	63,69±1,07	25,61±0,83
3. CCl ₄ +coptizină bisulfat 1 mg/kg 7 zile	10	3,47±0,12	57,94±1,72	25,79±0,91
4. CCl ₄ +coptizină bisulfat 5 mg/kg 7 zile	10	4,06±0,13	70,22±1,09	28,28±0,54
5. CCl ₄ +berberină bisulfat 1 mg/kg 7 zile	10	4,13±0,07	67,05±1,39	30,42±0,51
6. CCl ₄ +berberină bisulfat 5 mg/kg 7 zile	10	3,96±0,15	68,40±1,53	30,01±1,01
7. Lotul martor	10	3,34±0,04	65,57±0,80	28,22±0,65
8. CCl ₄ după 14 zile (lotul de control)	10	3,43±0,05	65,41±1,71	27,92±0,54
9. CCl ₄ +coptizină bisulfat 1 mg/kg 14zile	10	3,49±0,06	60,91±1,42	30,49±0,76
10. CCl ₄ +coptizină bisulfat 5mg/kg 14zile	10	4,57±0,10	69,60±1,28	31,81±0,69
11. CCl ₄ +berberină bisulfat 1mg/kg 14zile	10	3,80±0,18	64,69±1,15	28,82±0,77
12. CCl ₄ +berberină bisulfat 5mg/kg 14zile	10	4,61±0,21	72,40±2,55	31,38±0,92

În lotul tratat cu coptizină bisulfat în doza de 1 mg/kg nivelul colesterolului nu s-a modificat esențial, în același timp coptizina bisulfat în doza de 5 mg/kg a determinat o majorare a parametrului respectiv până la 4,06 mmol/L comparativ cu rezultatele obținute la animalele din lotul martor (3,40 mmol/L) și lotul de control (3,41 mmol/L). Date similare s-au relevat și la animalele tratate cu berberină bisulfat în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg (4,13 mmol/L și 3,96 mmol/L) (tab. 4.5.).

Modificarea nivelului colesterolului în loturile cercetate după 14 zile de experiență.

După 14 zile de experiență nivelul colesterolului s-a majorat doar în lotul de animale tratate cu coptizină bisulfat în doza de 5 mg/kg până la 4,57 mmol/L și în lotul tratat cu berberină bisulfat în doza de 5 mg/kg până la 4,61 mmol/L. În loturile de animale tratate atât cu coptizină bisulfat, cât și cu berberină bisulfat în doza de 1 mg/kg, valorile colesterolului nu s-au modificat esențial comparativ cu lotul martor și cel de control (tab. 4.5.).

Modificarea nivelului proteinelor totale și albuminelor în loturile cercetate după 7 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatită toxică indusă cu CCl₄ s-a determinat o scădere neesențială atât a nivelului proteinelor totale (63,69 g/L), cât și a fracției albuminelor (25,61 g/L) comparativ cu rezultatele obținute la animalele din lotul martor (65,30 g/L și 26,06 g/L), iar raportul albuminelor în ambele loturi s-a menținut la același nivel (40% : 40%). (tab. 4.5.).

În loturile tratate cu coptizină bisulfat în doza de 1 mg/kg, s-a determinat o tendință de micșorare a nivelului proteinelor totale și albuminelor cu o majorare a ponderii albuminelor respectiv până la 44%. În același timp, în loturile tratate cu coptizină bisulfat în doza de 5 mg/kg

s-a determinat o majorare a conținutului proteinelor totale până la 70,22 g/L și a albuminelor până la 28,28 g/L comparativ cu rezultatele obținute la animalele din lotul martor și de control (tab. 4.5.). A crescut respectiv și ponderea albuminelor până la 41%.

În lotul de animale tratate cu bebebrină bisulfat în doza de 1 mg/kg modificări esențiale a nivelului proteinelor totale nu s-au determinat, doar a crescut ponderea albuminelor până la 45%. La utilizarea berberinei bisulfat în doza de 5 mg/kg s-a determinat o tendință de majorare a nivelului proteinelor totale până la 68,40 g/L și a albuminelor până la 30,01 g/L (tab. 4.5.) cu o majorare a ponderii albuminelor până la 44% comparativ cu 40% stabilite la animalele din lotul martor și de control.

Modificarea nivelului proteinelor totale și albuminelor în loturile cercetate după 14 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatită toxică indusă cu CCl_4 s-a determinat o restabilire a nivelului proteinelor totale cu creșterea lor până la 65,41 g/L comparativ cu rezultatele obținute după 7 zile de experiență (63,69 g/L), iar nivelul albuminelor s-a majorat semnificativ până la 27,92 g/L. Aceste modificări au contribuit la majorarea ponderii albuminelor până la 43%.

În lotul tratat cu coptizină bisulfat în doza de 1 mg/kg s-a determinat o micșorare a nivelului proteinelor totale până la 60,91 g/L și o majorare a nivelului albuminelor până la 30,49 g/L, cu o majorare a ponderii albuminelor până la 50%. În lotul tratat cu coptizină bisulfat în doza de 5 mg/kg s-a determinat o creștere atât a nivelului proteinelor totale (69,60 g/L), cât și a nivelului albuminelor (31,81 g/L) comparativ cu rezultatele obținute la animalele din lotul tratat cu doza de 1 mg/kg de 60,91 g/L și 30,49 g/L. Rezultate similare au fost obținute și în loturile tratate cu berberină bisulfat în ambele doze (tab. 4.5.).

Modificarea nivelului ureei și creatininei, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl_4 .

Modificarea nivelului ureei în loturile cercetate după 7 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl_4 (lotul de control), s-a determinat o micșorare a nivelului ureei până la 3,35 mmol/L ($p > 0,05$) comparativ cu valoarea ei de 4,12 mmol/L, obținută la animalele din lotul martor (tab. 4.6.).

În lotul tratat cu coptizină bisulfat în doza de 1 mg/kg nivelul ureei s-a micșorat neesențial până la 3,78 mmol/L (comparativ cu lotul martor), fiind mai puțin influențat de CCl_4 , iar în lotul tratat cu doza de 5 mg/kg nivelul ureei s-a micșorat până la 3,28 mmol/L ($p > 0,05$). În loturile tratate cu berberină bisulfat în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg s-a determinat o majorare esențială a nivelului ureei până la 5,09 mmol/L și 6,50 mmol/L respectiv (tab. 4.6.).

Tabelul 4.6. Modificarea nivelului ureei și creatininei, după utilizarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat, pe fondal de hepatite toxice induse cu CCl₄

Grupele de animale	Nr. animale, n	Ureea, mmol/L, M±m	Creatinina, mmol/L, M±m
1. Lotul martor	10	4,12±0,49	61,48±3,65
2. CCl ₄ după 7 zile (lotul de control)	10	3,35±0,16*	59,11±2,20*
3. CCl ₄ + coptizină bisulfat 1 mg/kg 7 zile	10	3,78±0,16	62,35±1,40
4. CCl ₄ + coptizină bisulfat 5 mg/kg 7 zile	10	3,28±0,29	76,70±3,40
5. CCl ₄ + berberină bisulfat 1 mg/kg 7 zile	10	5,09±0,26*	59,59±2,97*
6. CCl ₄ + berberină bisulfat 5 mg/kg 7 zile	10	6,50±0,26*	53,69±2,84*
7. Lotul martor	10	3,13±0,10	58,61±2,14
8. CCl ₄ după 14 zile (lotul de control)	10	3,04±0,15	59,62±2,72
9. CCl ₄ + coptizină bisulfat 1 mg/kg 14 zile	10	2,85±0,17	60,79±2,88
10. CCl ₄ + coptizină bisulfat 5 mg/kg 14 zile	10	3,72±0,29	61,95±4,59
11. CCl ₄ + berberină bisulfat 1 mg/kg 14 zile	10	5,54±0,18*	57,72±4,58*
12. CCl ₄ + berberină bisulfat 5 mg/kg 14 zile	10	5,88±0,19*	60,18±3,60

Notă: * - $p < 0,05$ comparativ cu lotul martor.

În lotul tratat cu coptizină bisulfat în doza de 1 mg/kg nivelul ureei s-a micșorat neesențial până la 3,78 mmol/L (comparativ cu lotul martor), fiind mai puțin influențat de CCl₄, iar în lotul tratat cu doza de 5 mg/kg nivelul ureei s-a micșorat până la 3,28 mmol/L ($p > 0,05$). În loturile tratate cu berberină bisulfat în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg s-a determinat o majorare esențială a nivelului ureei până la 5,09 mmol/L și 6,50 mmol/L respectiv (tab. 4.6.).

Modificarea nivelului ureei în loturile cercetate după 14 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl₄ (lotul de control), valoarea ureei s-a menținut la nivel scăzut, fiind de 3,04 mmol/L comparativ cu nivelul ei de 3,13 mmol/L caracteristic animalelor din lotul martor (tab. 4.6.).

În lotul tratat cu coptizină bisulfat în doza de 1 mg/kg nu s-au determinat modificări esențiale ale nivelului ureei, pe când în lotul tratat cu coptizină bisulfat în doza de 5 mg/kg s-a determinat o majorare a nivelului ei până la 3,72 mmol/L (tab. 4.6.).

În loturile tratate cu berberină bisulfat în ambele doze s-a relevat o creștere esențială a conținutului ureei până la 5,54 mmol/L și 5,88 mmol/L comparativ cu rezultatele obținute la animalele din lotul martor (3,13 mmol/L) și lotul de control (3,04 mmol/L) (tab. 4.6.).

Modificarea nivelului creatininei în loturile cercetate după 7 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl₄ (lotul de control), s-a determinat o tendință spre diminuare a nivelului creatininei până la 59,11 mmol/L comparativ cu valoarea de 61,48 mmol/L, obținută la animalele din lotul martor (tab. 4.6.).

În loturile tratate cu coptizină bisulfat în ambele doze, s-a determinat o creștere a conținutului creatininei până la 62,35 mmol/L pentru doza de 1 mg/kg și 76,70 mmol/L ($p < 0,05$)

pentru doza de 5 mg/kg (tab. 4.6.).

În loturile tratate cu berberină bisulfat în doza de 1 mg/kg și 5 mg/kg, s-a determinat o tendință de micșorare a nivelului creatininei până la 59,59 mmol/L și 53,69 mmol/L respectiv (tab. 4.6.).

Modificarea nivelului creatininei în loturile cercetate după 14 zile de experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl₄ (lotul de control), s-a determinat o tendință spre creștere a nivelului creatininei până la 59,62 mmol/L comparativ cu valoarea de 58,61 mmol/L, obținută la animalele din lotul martor (tab. 4.6.).

În loturile tratate cu coptizină bisulfat în ambele doze, s-a determinat o creștere a conținutului creatininei până la 60,79 mmol/L pentru doza de 1 mg/kg și 61,95 mmol/L pentru doza de 5 mg/kg. În loturile tratate cu berberină bisulfat în doza de 1 mg/kg nivelul creatininei s-a micșorat până la 57,72 mmol/L, iar la doza de 5 mg/kg s-a majorat până la 60,18 mmol/L (tab. 4.6.).

4.2. Influența coptizinei bisulfat asupra evoluției HTA modelate experimental

Modul actual de viață (stresul, obezitatea, alimentația incorectă, utilizarea produselor genetic modificate, hipodinamia, abuzul de alcool, fumatul etc.) și poluarea mediului ambiant cu materiale care interferează cu sănătatea umană și calitatea vieții (poluanți nedegradabili, bioxid de carbon, gaze de eșapament etc.) sunt factorii de risc, responsabili de dezvoltarea diferitor maladii ale organelor interne, inclusiv ale bolilor hepatice cronice. Conform datelor OMS, actualmente, se constată o creștere considerabilă a maladiilor cronice ale ficatului de diversă origine [2]. De asemenea, un factor foarte agresiv, considerat inițiatorul leziunilor hepatice sunt o serie de medicamente utilizate în tratamentul maladiilor umane, fiind unul din motivele de spitalizare și de dezvoltare a insuficienței hepatice grave, iar vârsta, starea nutrițională, preexistența unor boli hepatice, funcția renală afectată, administrarea îndelungată și dozele toxice cu medicamente sunt factori care contribuie la accentuarea acestor leziuni. În opinia cercetătorilor contemporani (Horga TM. (Mariasiu), 2016) hepatoprotecția este un subiect de interes mondial, deoarece afecțiunile hepatice sunt frecvent întâlnite, iar necesitatea transplanturilor de ficat este în creștere, pe când accesibilitatea la un transplant hepatic încă este foarte limitată [60].

Reieșind din cele expuse, s-a inițiat un studiu cu modelarea hepatitei toxice acute prin administrarea subcutană a soluției de tetraclorură de carbon a câte 0,4 ml/100g timp de 4 zile, conform metodei clasice de modelare a hepatitelor toxice, iar aprecierea influenței coptizinei bisulfat asupra evoluției afecțiunii modelate s-a efectuat prin examinarea parametrilor hepatici,

biochimici și hematologici generali testați după 7 și 14 zile de administrare intragastrală a soluțiilor cu coptizină bisulfat în diferite doze [113].

Studiul influenței coptizinei bisulfat asupra evoluției leziunii hepatice acute s-a efectuat prin administrarea dozelor de 10 mg/kg și 20 mg/kg și aprecierea efectului hepatoprotector.

Modificările ALAT, AsAT și a coeficientului de Ritis la animalele incluse în experiență. La modelarea hepatitei toxice acute prin CCl₄ la a 8-a zi s-a constatat o majorare a conținutului ALAT de la 56,8±2,4 mmol/L până la 190,6±8,2 mmol/L (p<0,05) și AsAT – de la 140,2±5,0 mmol/L până la 260,2±20,5 mmol/L (p<0,05). Această majorare a nivelului transaminazelor s-a menținut și după 2 săptămâni de la administrarea hepatotoxicului. În aceste condiții s-a determinat și o micșorare a coeficientului de Ritis de la 2,46±0,21 până la 1,36±0,25. (tab. 4.7).

Tabelul 4.7. Modificarea nivelului transaminazelor în ser și coeficientului de Ritis în HTA indusă prin CCl₄ și după utilizarea coptizinei bisulfat în doze de 10 și 20 mg/kg

Grupele de animale	Nr. animale, n	ALAT, mmol/L, M±m	AsAT, mmol/L, M±m	Coeficientul de Ritis, M±m
1. Lotul martor	10	56,8±2,4	140,2±5,0	2,46±0,21
2. CCl ₄ după 7 zile (lotul de control)	10	190,6±8,2*	260,2±20,5*	1,36±0,25*
		p ₁₋₂ <0,05	p ₁₋₂ <0,05	p ₁₋₂ <0,05
3. CCl ₄ + coptizină bisulfat 10 mg/kg 7 zile	10	60,0±1,8	153,1±7,3	2,55±0,4
		p ₁₋₃ >0,05	p ₁₋₃ >0,05	p ₁₋₃ >0,05
		p ₂₋₃ <0,05	p ₂₋₃ <0,05	p ₂₋₃ <0,05
4. CCl ₄ + coptizină bisulfat 20 mg/kg 7 zile	10	65,4±4,9	153,2±8,6	2,34±0,18
		p ₁₋₄ <0,05	p ₁₋₄ >0,05	p ₁₋₄ >0,05
		p ₂₋₄ >0,05	p ₂₋₄ <0,05	p ₂₋₄ <0,05
		p ₃₋₄ >0,05	p ₃₋₄ >0,05	p ₃₋₄ >0,05
5. CCl ₄ după 14 zile (lotul de control)	10	223,4±6,9*	440,4±29,7*	1,97±0,44*
		p ₁₋₅ <0,05	p ₁₋₅ <0,05	p ₁₋₅ <0,05
6. CCl ₄ + coptizină bisulfat 10 mg/kg 14 zile	10	59,6±0,9	128,1±3,9	2,15±0,43
		p ₁₋₆ >0,05	p ₁₋₆ >0,05	p ₁₋₆ >0,05
		p ₅₋₆ <0,05	p ₅₋₆ <0,05	p ₅₋₆ >0,05
7. CCl ₄ + coptizină bisulfat 20 mg/kg 14 zile	10	66,6±3,5	144,5±6,1	2,15±0,17
		p ₁₋₇ >0,05	p ₁₋₇ >0,05	p ₁₋₇ >0,05
		p ₅₋₇ <0,05	p ₅₋₇ <0,05	p ₅₋₇ >0,05
		p ₆₋₇ >0,05	p ₆₋₇ >0,05	p ₆₋₇ >0,05

Notă: * - p<0,05 comparativ cu lotul martor.

Administrarea coptizinei bisulfat în dozele de 10 mg/kg și 20 mg/kg timp de 7 și 14 zile, comparativ cu rezultatele obținute după administrarea tetraclorurii de carbon, a contribuit la menținerea conținutului ALAT și AsAT și coeficientului de Ritis practic la același nivel cu parametrii obținuți la animalele din lotul martor (tab. 4.7).

Modificările fosfatazei alcaline, fosfatazei acide și GGTP la animalele incluse în experiență. După injectarea CCl₄ timp de 4 zile, la a 8-a zi s-a determinat o majorare a activității fosfatazei alcaline de la 510,2±23,3 UI/L în lotul martor până la 1063,7±57,5 UI/L (p<0,05). La

utilizarea coptizinei bisulfat în dozele de 10 mg/kg și 20 mg/kg timp de 7 zile s-a constatat o micșorare a nivelului fosfatazei alcaline în comparație cu lotul cu hepatită toxică acută indusă cu CCl₄, dar care era nesemnificativ mai mare față de lotul martor (tab. 4.8).

Tabelul 4.8. Modificarea activității fosfatazei alcaline, fosfatazei acide și GGTP în ser în HTA indusă prin CCl₄ și după utilizarea coptizinei bisulfat în doze de 10 și 20 mg/kg

Grupele de animale	Nr.ani- male, n	Fosfataza alcalină, UI/L M±m	Fosfataza acidă, UI/L M±m	GGTP, UI/L M±m
1. Lotul martor	10	510,2±23,3	4,8±0,3	3,7±0,4
2. CCl ₄ după 7 zile (lotul de control)	10	1063,7±57,5*	3,7±0,3*	3,6±0,3*
		p ₁₋₂ <0,05	p ₁₋₂ <0,05	p ₁₋₂ >0,05
3. CCl ₄ + coptizină bisulfat 10 mg/kg 7 zile	10	862,3±49,7	2,5±0,3*	4,3±0,7
		p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₃ <0,05	p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₃ <0,05	p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₃ >0,05
4. CCl ₄ + coptizină bisulfat 20 mg/kg 7 zile	10	783,4±53,3	2,9±0,3*	3,4±0,2*
		p ₁₋₄ >0,05 p ₂₋₄ <0,05 p ₃₋₄ >0,05	p ₁₋₄ <0,05 p ₂₋₄ >0,05 p ₃₋₄ >0,05	p ₁₋₄ >0,05 p ₂₋₄ >0,05 p ₃₋₄ >0,05
5. CCl ₄ după 14 zile (lotul de control)	10	784,4±62,7*	3,7±0,3*	6,7±0,7*
		p ₁₋₅ <0,05	p ₁₋₅ <0,05	p ₁₋₅ <0,05
6. CCl ₄ + coptizină bisulfat 10 mg/kg 14 zile	10	790,5±47,7	4,2±0,4	4,1±0,4
		p ₁₋₆ >0,05 p ₅₋₆ >0,05	p ₁₋₆ >0,05 p ₅₋₆ >0,05	p ₁₋₆ >0,05 p ₅₋₆ <0,05
7. CCl ₄ + coptizină bisulfat 20 mg/kg 14 zile	10	711,9±53,2	4,1±0,3	4,2±0,5
		p ₁₋₇ >0,05 p ₅₋₇ >0,05 p ₆₋₇ >0,05	p ₁₋₇ >0,05 p ₅₋₇ >0,05 p ₆₋₇ >0,05	p ₁₋₇ >0,05 p ₅₋₇ <0,05 p ₆₋₇ >0,05

Notă: * - p<0,05 comparativ cu lotul martor;

În lotul hepatitei modelate cu CCl₄ la a 15-a zi s-a constatat că conținutul de fosfatază alcalină era de 784,4±62,7 UI/L față de 510,2±23,3 UI/L (p<0,05) din lotul martor, însă mai mică față de lotul hepatitei modelate cu CCl₄ la a 8-a zi - 1063,7±57,5 UI/L (p<0,05). La administrarea coptizinei bisulfat în ambele doze nu s-au determinat modificări esențiale ale fosfatazei alcaline, comparativ cu modificările apărute în lotul hepatitei modelate cu CCl₄ după 14 zile (tab 4.8).

În lotul hepatitei modelate cu CCl₄ la a 8-a zi s-a determinat o micșorare a conținutului fosfatazei acide până la 3,7±0,3 UI/L comparativ cu datele din lotul martor de 4,8±0,3 UI/L (p<0,05). Aceste valori s-au menținut la același nivel și la a 15-a zi. La administrarea timp de 7 zile a coptizinei bisulfat în dozele de 10 mg/kg și 20 mg/kg s-a constatat o diminuare semnificativă a nivelului fosfatazei acide atât față de lotul martor, cât și cel cu hepatită modelată cu CCl₄.

La utilizarea timp de 14 zile a coptizinei bisulfat în ambele doze conținutul fosfatazei acide s-a majorat până la $4,2 \pm 0,4$ UI/L la doza de 10 mg/kg și $4,1 \pm 0,3$ UI/L la doza de 20 mg/kg, comparativ cu rezultatele obținute în lotul hepatitei modelate cu CCl_4 de $3,7 \pm 0,3$ UI/L ($p > 0,05$).

În hepatita toxică acută, indusă de CCl_4 , activitatea GGTP nu s-a modificat esențial la a 8-a zi, dar s-a majorat semnificativ la a 15-a zi (tab. 4.8). La administrarea coptizinei bisulfat în doza de 10 mg/kg, timp de 7 zile nivelul enzimei s-a majorat până la $4,3 \pm 0,7$ UI/L ($p > 0,05$), comparativ cu rezultatele obținute în lotul hepatitei modelate cu CCl_4 de $3,6 \pm 0,3$ UI/L, în timp ce la doza de 20 mg/kg, după 7 zile de administrare, conținutul GGTP s-a micșorat nesemnificativ ($3,4 \pm 0,2$ UI/L) (tab. 4.8.). Utilizarea coptizinei bisulfat, timp de 14 zile a contribuit la diminuarea nivelului GGTP până la $4,1 \pm 0,4$ UI/L în lotul de animale care au utilizat dozele de 10 mg/kg și până la $4,2 \pm 0,5$ UI/L ($p < 0,05$) în lotul de animale care au utilizat dozele de 20 mg/kg, comparativ cu rezultatele obținute în cazul hepatitei modelate cu CCl_4 de $6,7 \pm 0,7$ UI/L la același interval de timp (tab.4.8.).

Modificările indicilor bilirubinei totale, directe și indirecte la animalele incluse în experiență. La șobolanii din lotul cu hepatite modelate cu CCl_4 la a 8-a zi s-a constatat o tendință de majorare a nivelului bilirubinei totale de la $40,1 \pm 2,6$ mmol/L până la $44,2 \pm 3,6$ mmol/L ($p > 0,05$), bilirubinei directe de la $23,0 \pm 1,4$ mmol/L până la $26,3 \pm 2,7$ mmol/L ($p > 0,05$) și bilirubinei indirecte - de la $17,1 \pm 1,3$ mmol/L până la $17,9 \pm 1,6$ mmol/L ($p > 0,05$) (tab. 4.9.).

Tabelul 4.9. Modificarea nivelului bilirubinei totale, directe și indirecte în ser în hepatita toxică indusă prin CCl_4 și la utilizarea coptizinei bisulfat

Grupele de animale	Nr. animale, n	Bilirubina totală, mmol/L M±m	Bilirubina directă, mmol/L M±m	Bilirubina indirectă, mmol/L M±m
1. Lotul martor	10	$40,1 \pm 2,6$	$23,0 \pm 1,4$	$17,1 \pm 1,3$
2. CCl_4 după 7 zile (lotul de control)	10	$44,2 \pm 3,6^*$ $p_{1-2} > 0,05$	$26,3 \pm 2,7^*$ $p_{1-2} > 0,05$	$17,9 \pm 1,6^*$ $p_{1-2} > 0,05$
3. CCl_4 + coptizină bisulfat 10 mg/kg 7 zile	10	$42,3 \pm 3,4$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$	$25,1 \pm 1,9$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$	$17,2 \pm 1,9$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
4. CCl_4 + coptizină bisulfat 20 mg/kg 7 zile	10	$47,2 \pm 2,7$ $p_{1-4} > 0,05$ $p_{2-4} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	$27,2 \pm 1,2$ $p_{1-4} > 0,05$ $p_{2-4} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	$20,0 \pm 1,7$ $p_{1-4} > 0,05$ $p_{2-4} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$
5. CCl_4 după 14 zile (lotul de control)	10	$39,0 \pm 3,7$ $p_{1-5} > 0,05$	$22,9 \pm 1,6$ $p_{1-5} > 0,05$	$16,1 \pm 2,3$ $p_{1-5} > 0,05$
6. CCl_4 + coptizină bisulfat	10	$40,6 \pm 2,2$	$23,1 \pm 1,3$	$17,5 \pm 1,0$

10 mg/kg 14 zile		P ₁₋₆ >0,05 P ₅₋₆ >0,05	P ₁₋₆ >0,05 P ₅₋₆ >0,05	P ₁₋₆ >0,05 P ₅₋₆ >0,05
7. CCl ₄ + coptizină bisulfat 20 mg/kg 14 zile	10	38,7±2,6 P ₁₋₇ >0,05 P ₅₋₇ >0,05 P ₆₋₇ >0,05	21,9±1,1 P ₁₋₇ >0,05 P ₅₋₇ >0,05 P ₆₋₇ >0,05	16,8±1,9 P ₁₋₇ >0,05 P ₅₋₇ >0,05 P ₆₋₇ >0,05

La administrarea coptizinei bisulfat în dozele de 10 mg/kg și 20 mg/kg, timp de 7 zile, pe fondal de hepatite toxice modelate, nu s-au depistat modificări esențiale ale conținutului bilirubinei totale și fracțiilor ei (tab. 4.9.). După 14 zile, la animalele din lotul cu hepatite toxice acute modelate cu CCl₄, nu s-au determinat devieri semnificative ale nivelului bilirubinei totale, directe și indirecte în comparație cu lotul martor. La administrarea coptizinei bisulfat în doza de 10 mg/kg, timp de 14 zile, nu s-au determinat devieri semnificative ale nivelului bilirubinei totale și fracțiilor ei, pe când la doza de 20 mg/kg de coptizină bisulfat, administrată timp de 14 zile, pe fondal de hepatite toxice modelate, a scăzut neesențial conținutul bilirubinei totale (38,7±2,6 mmol/L) (p>0,05), bilirubinei directe (21,9±1,1 mmol/L) (p>0,05) și bilirubinei indirecte (16,8±1,9 mmol/L) (p>0,05) comparativ cu indicii obținuți la șobolanii din lotul martor (40,1±2,6 mmol/L; 23,0±1,4 mmol/L; 17,1±1,3 mmol/L) (p>0,05) (tab. 4.9.).

Modificările activității LDH, nivelului seric al glucozei și probei cu timol la animalele incluse în experiență.

La șobolanii din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl₄, după 7 zile, nivelul lactatdehidrogenazei s-a majorat până la 1005,7±72,5 UI/L (p<0,05) comparativ cu nivelul LDH de 386,2±12,8 UI/L al șobolanilor din lotul martor, urmând să crească până la 1355,7±83,7 (p<0,05) UI/L la a 15-a zi de experiență (tab. 4.10.).

Tabelul 4.10. Modificarea activității LDH, nivelului glucozei și probei cu timol în hepatita toxică indusă prin CCl₄ și la utilizarea coptizinei bisulfat

Grupele de animale	Nr. animale, n	LDH, UI/L, M±m	Glucoza, mmol/L, M±m	Proba timol, UI, M±m
1. Lotul martor	10	386,2±12,8	5,2±0,3	4,17±0,1
2. CCl ₄ după 7 zile (lotul de control)	10	1005,7±72,5* P ₁₋₂ <0,05	4,6±0,2 P ₁₋₂ >0,05	3,41±0,08 P ₁₋₂ <0,05
3. CCl ₄ + coptizină bisulfat 10 mg/kg 7 zile	10	413,9±20,3 P ₁₋₃ >0,05 P ₂₋₃ <0,05	4,7±0,2 P ₁₋₃ >0,05 P ₂₋₃ >0,05	3,42±0,1 P ₁₋₃ <0,05 P ₂₋₃ >0,05
4. CCl ₄ + coptizină bisulfat 20 mg/kg 7 zile	10	375,2±21,6 P ₁₋₄ >0,05 P ₂₋₄ <0,05 P ₃₋₄ >0,05	4,6±0,2 P ₁₋₄ >0,05 P ₂₋₄ >0,05 P ₃₋₄ >0,05	3,43±0,08 P ₁₋₄ <0,05 P ₂₋₄ >0,05 P ₃₋₄ >0,05
5. CCl ₄ după 14 zile (lotul de control)	10	1355,7±83,7* P ₁₋₅ <0,05	5,6±0,1 P ₁₋₅ >0,05	4,19±0,12 P ₁₋₅ >0,05
6. CCl ₄ + coptizină bisulfat 10 mg/kg 14 zile	10	392,9±16,6 P ₁₋₆ <0,05	5,7±0,3 P ₁₋₆ >0,05	4,37±0,11 P ₁₋₆ >0,05

		p ₅₋₆ <0,05	p ₅₋₆ >0,05	p ₅₋₆ >0,05
7. CCl ₄ + coptizină bisulfat 20 mg/kg 14 zile	10	386,6±19,9 p ₁₋₇ <0,05 p ₅₋₇ <0,05 p ₆₋₇ >0,05	5,7±0,3 p ₁₋₇ >0,05 p ₅₋₇ >0,05 p ₆₋₇ >0,05	4,22±0,12 p ₁₋₇ >0,05 p ₅₋₇ >0,05 p ₆₋₇ >0,05

Notă: * - p<0,05 comparativ cu lotul martor.

La șobolanii din loturile cu hepatite toxice modelate cu CCl₄ și tratate cu coptizină bisulfat în doze de 10 mg/kg și 20 mg/kg, timp de 7 și 14 zile, modificări ale conținutului LDH nu s-au determinat, comparativ cu nivelele enzimei nominalizate la animalele din lotul martor (tab. 4.10.).

Nivelul seric al glucozei la șobolanii din loturile cu hepatite toxice modelate cu CCl₄ s-a micșorat neesențial la a 8-a zi (4,6±0,2 mmol/L) (p>0,05) și s-a majorat nesemnificativ la a 15-a zi (5,6±0,1 mmol/L) (p>0,05), comparativ cu nivelul glicemiei la animalele din lotul martor (5,2±0,3 mmol/L).

Utilizarea dozelor de 10 mg/kg și 20 mg/kg de coptizina bisulfat, practic nu au influențat modificările glicemiei induse de CCl₄, atât la animalele tratate timp de 7 zile, cât și ale celor tratate timp de 14 zile (tab. 4.10.).

Modificări neesențiale s-au obținut și în cazul studiului probei cu timol, fiind puțin micșorată la animalele din loturile cercetate după 7 zile și puțin majorată la animalele din loturile cercetate după 14 zile.

Modificările nivelului seric al colesterolului, proteinelor totale și albuminei la animalele incluse în experiență.

La șobolanii din lotul cu hepatite toxice induse de CCl₄, nivelul colesterolului total nu s-a modificat esențial după 7 zile de experiență, dar s-a determinat o majorare a lui după 14 zile de experiență până la 5,28±0,05 mmol/L (p<0,05) comparativ cu nivelul de 5,09±0,04 mmol/L obținut la șobolanii din lotul martor.

În loturile animalelor cu hepatite toxice induse cu CCl₄ și tratate cu coptizină bisulfat, în dozele de 10 mg/kg și 20 mg/kg, s-a determinat o micșorare a conținutului colesterolului total atât după 7 zile de experiență, cât și după 14 zile (tab. 4.11.).

Tabelul 4.11. Modificarea nivelului colesterolului, proteinelor totale și albuminei în ser în hepatita toxică indusă prin CCl₄ și la utilizarea coptizinei bisulfat

Grupele de animale	Nr. animale, n	Colesterolul total, mmol/L M±m	Proteina totală, g/L M±m	Albumina, g/L M±m
1. Lotul martor	10	5,09±0,04	58,3±0,5	35,5±0,8
2. CCl ₄ după 7 zile (lotul de control)	10	5,03±0,07 p ₁₋₂ >0,05	58,3±0,6 p ₁₋₂ >0,05	30,6±0,8* p ₁₋₂ <0,05

3. CCl ₄ + coptizină bisulfat 10 mg/kg 7 zile	10	4,97±0,07 p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₃ >0,05	60,3±0,8 p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₃ >0,05	34,3±0,4 p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₃ >0,05
4. CCl ₄ + coptizină bisulfat 20 mg/kg 7 zile	10	4,98±0,02 p ₁₋₄ >0,05 p ₂₋₄ >0,05 p ₃₋₄ >0,05	58,5±0,9 p ₁₋₄ >0,05 p ₂₋₄ >0,05 p ₃₋₄ >0,05	33,2±0,6 p ₁₋₄ <0,05 p ₂₋₄ <0,05 p ₃₋₄ >0,05
5. CCl ₄ după 14 zile (lotul de control)	10	5,28±0,05* p ₁₋₅ <0,05	59,2±0,7 p ₁₋₅ >0,05	35,1±0,3 p ₁₋₅ >0,05
6. CCl ₄ + coptizină bisulfat 10 mg/kg 14 zile	10	5,06±0,03 p ₁₋₆ >0,05 p ₅₋₆ <0,05	60,3±1,4 p ₁₋₆ >0,05 p ₅₋₆ >0,05	34,3±1,3 p ₁₋₆ >0,05 p ₅₋₆ >0,05
7. CCl ₄ + coptizină bisulfat 20 mg/kg 14 zile	10	5,18±0,11 p ₁₋₇ >0,05 p ₅₋₇ >0,05 p ₆₋₇ >0,05	58,9±0,6 p ₁₋₇ >0,05 p ₅₋₇ >0,05 p ₆₋₇ >0,05	35,1±0,7 p ₁₋₇ >0,05 p ₅₋₇ >0,05 p ₆₋₇ >0,05

Notă: * - p<0,05 comparativ cu lotul martor;

La șobolanii din lotul cu hepatite toxice induse de CCl₄, nu s-au constatat modificări esențiale ale nivelului proteinelor totale, atât după 7 zile de experiență, cât și după 14 zile; în același timp, s-a determinat o micșorare a conținutului albuminei până la 30,6±0,8 g/L (p<0,05), comparativ cu rezultatele obținute la animalele din lotul martor (35,28±0,05 g/L). (tab. 4.11.)

În loturile animalelor cu hepatite toxice induse cu CCl₄ și tratate cu coptizină bisulfat, în doze de 10 mg/kg și 20 mg/kg, după 7 zile de experiență, s-a restabilit nivelul albuminelor diminuat de CCl₄, iar după 14 zile de experiență, conținutul proteinelor totale și albuminei s-a menținut la nivelul datelor obținute la animalele din lotul martor (tab. 4.11.).

Modificările nivelului seric al ureei și creatininei la animalele incluse în experiență.

La șobolanii din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl₄, după 7 zile de experiență s-a constatat o majorare a nivelului ureei până la 13,2±1,1 mmol/L (p<0,05), comparativ cu rezultatele de 10,0±1,0 mmol/L, obținute la șobolanii din lotul martor. În loturile de animale tratate cu coptizină bisulfat în dozele de 10 mg/kg și 20 mg/kg, după 7 zile de experiență nu s-a influențat efectul hepatotoxicului (tab. 4.12.).

Tabelul 4.12. Modificarea nivelului ureei și creatininei în ser în hepatita toxică indusă prin CCl₄ și la utilizarea coptizinei bisulfat

Grupele de animale	Nr.ani- male, n	Ureea, mmol/L M±m	Creatinina, mmol/L M±m
1. Lotul martor	10	10,0±1,0	134,5±9,9
2. CCl ₄ după 7 zile (lotul de control)	10	13,2±1,1* p ₁₋₂ <0,05	113,3±4,7 p ₁₋₂ >0,05
3. CCl ₄ + coptizină bisulfat 10 mg/kg 7 zile	10	12,6±1,3 p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₃ >0,05	106,7±5,3* p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₃ >0,05
4. CCl ₄ + coptizină bisulfat	10	12,5±0,7*	120,4±6,3

20 mg/kg 7 zile		$p_{1-4}<0,05$ $p_{2-4}>0,05$ $p_{3-4}>0,05$	$p_{1-4}>0,05$ $p_{2-4}>0,05$ $p_{3-4}>0,05$
5. CCl ₄ după 14 zile (lotul de control)	10	$9,1\pm0,8^*$ $p_{1-5}<0,05$	$132,7\pm6,6$ $p_{1-5}>0,05$
6. CCl ₄ + coptizină bisulfat 10 mg/kg 14 zile	10	$7,1\pm0,6^*$ $p_{1-6}<0,05$ $p_{5-6}>0,05$	$120,4\pm5,1$ $p_{1-6}>0,05$ $p_{5-6}>0,05$
7. CCl ₄ + coptizină bisulfat 20 mg/kg 14 zile	10	$6,1\pm0,2$ $p_{1-7}<0,05$ $p_{5-7}<0,05$ $p_{6-7}>0,05$	$132,7\pm7,1$ $p_{1-7}>0,05$ $p_{5-7}>0,05$ $p_{6-7}>0,05$

Notă: * - $p<0,05$ comparativ cu lotul martor.

La a 15-a zi de experiență, în loturile de animale cu hepatite toxice induse de CCl₄ s-a determinat o micșorare a nivelului ureei până la $9,1\pm0,8$ mmol/L ($p<0,05$), comparativ cu lotul martor ($10,0\pm1,0$ mmol/L). În loturile de animale tratate cu coptizină bisulfat în ambele doze, s-a determinat o diminuare mai esențială a conținutului ureei ($7,1\pm0,6$ mmol/L și $6,1\pm0,2$ mmol/L) comparativ cu nivelul ei, obținut la șobolanii din lotul de control (tab.4.12.).

La șobolanii din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl₄, după 7 zile de experiență s-a constatat o micșorare neesențială a nivelului creatininei, iar după 14 zile nivelul ei a revenit practic la valorile stabilite la animalele din lotul martor (tab. 4.12.).

În loturile animalelor cu hepatite toxice induse cu CCl₄ și tratate cu coptizină bisulfat, în doză de 10 mg/kg, după 7 zile de experiență, s-a determinat o micșorare semnificativă a conținutului creatininei până la $106,7\pm5,3$ mmol/L ($p<0,05$), comparativ cu nivelul de $134,5\pm9,9$ mmol/L, obținute la animalele din lotul martor. La animalele din lotul tratat cu coptizină bisulfat în doza de 20 mg/kg timp de 7 zile, s-a determinat o diminuare neesențială a nivelului creatininei până la $120,4\pm6,3$ mmol/L ($p>0,05$), comparativ cu valorile de $134,5\pm9,9$ mmol/L determinate la animalele din lotul martor. După 14 zile de experiență, administrarea coptizinei bisulfat în doze de 10 mg/kg și 20 mg/kg nu a influențat semnificativ asupra nivelului creatininei (tab. 4.12.).

Modificările nivelului eritrocitelor, hemoglobinei și MCH-Hb/eritrocite la animalele incluse în experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl₄, după 7 zile de experiență s-a constatat o micșorare a conținutului de eritrocite până la $5,8\pm0,2 \times 10^6$ ($p<0,05$) comparativ cu lotul martor, comparativ cu rezultatele de $7,3\pm0,4 \times 10^6$ obținute la șobolanii din lotul martor. După 14 zile de experiență, la animalele din același lot, nivelul eritrocitelor s-a micșorat și mai pronunțat, numărul lor reducându-se până la $4,0\pm0,2 \times 10^6$ ($p<0,05$). În loturile de animale tratate cu coptizină bisulfat în dozele de 10 mg/kg și 20 mg/kg, timp de 7 și 14 zile, diminuarea nivelului eritrocitelor nu s-a determinat (tab. 4.13.).

Tabelul 4.13. Modificarea nivelului eritrocitelor, hemoglobinei și MCH-Hb/eritrocite în hepatita toxică indusă prin CCl₄ și la utilizarea coptizinei bisulfat

Grupele de animale	Nr. animale, n	Eritrocite, x10 ⁹ /L, M±m	Hemoglobină g/L, M±m	MCH-Hb/eritrocit, M±m
1. Lotul martor	10	7,3±0,4	139,6±2,8	20,4±0,8
2. CCl ₄ după 7 zile (lotul de control)	10	5,8±0,2* p ₁₋₂ <0,05	124,2±2,9* p ₁₋₂ <0,05	18,9±0,7 p ₁₋₂ >0,05
3. CCl ₄ + coptizină bisulfat 10 mg/kg 7 zile	10	6,5±0,3 p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₃ <0,05	148,4±6,1* p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₃ <0,05	20,0±0,9 p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₃ >0,05
4. CCl ₄ + coptizină bisulfat 20 mg/kg 7 zile	10	6,5±0,4 p ₁₋₄ >0,05 p ₂₋₄ >0,05 p ₃₋₄ >0,05	147,2±6,0* p ₁₋₄ >0,05 p ₂₋₄ >0,05 p ₃₋₄ >0,05	21,6±1,0 p ₁₋₄ >0,05 p ₂₋₄ >0,05 p ₃₋₄ >0,05
5. CCl ₄ după 14 zile (lotul de control)	10	4,0±0,2* p ₁₋₅ <0,05	105,4±3,7* p ₁₋₅ <0,05	25,8±0,4* p ₁₋₅ <0,05
6. CCl ₄ + coptizină bisulfat 10 mg/kg 14 zile	10	4,6±0,3 p ₁₋₆ <0,05 p ₅₋₆ >0,05	94,6±5,7 p ₁₋₆ <0,05 p ₅₋₆ >0,05	22,0±1,1 p ₁₋₆ >0,05 p ₅₋₆ <0,05
7. CCl ₄ + coptizină bisulfat 20 mg/kg 14 zile	10	4,5±0,3 p ₁₋₇ <0,05 p ₅₋₇ >0,05 p ₆₋₇ >0,05	99,1±4,2 p ₁₋₇ <0,05 p ₅₋₇ >0,05 p ₆₋₇ >0,05	22,7±1,3 p ₁₋₇ >0,05 p ₅₋₇ <0,05 p ₆₋₇ >0,05

Notă: * - p<0,05 comparativ cu lotul martor.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl₄, după 7 zile de experiență, de rând cu micșorarea numărului eritrocitelor, s-a determinat o reducere și a nivelului hemoglobinei până la 124,2±2,9 g/L (p<0,05), comparativ cu rezultatele de 139,6±2,8 g/L, obținute la animalele din lotul martor. În lotul dat, concomitent, s-a determinat și o diminuare neesențială a conținutului hemoglobinei într-un eritrocit (MCH-Hb/eritrocit). După 14 zile de experiență, în loturile cu hepatite toxice modelate cu CCl₄, s-a constatat o micșorare și mai accentuată a conținutului hemoglobinei, dar cu o creștere a MCH-Hb/eritrocit (tab. 4.13.).

În loturile de șobolani tratați cu coptizină bisulfat în dozele de 10 mg/kg și 20 mg/kg, timp de 7 zile, s-a înregistrat majorarea conținutului hemoglobinei până la 148,4±6,1 g/L și 147,2±6,0 g/L (p<0,05), comparativ cu rezultatele de 124,2±2,9 g/L obținute la animalele din lotul de control. În același timp, în loturile date, după 7 zile de experiență, indicele MCH-Hb/eritrocit nu s-a majorat și s-a menținut în limitele nivelelor obținute la animalele din lotul martor. După 14 zile de experiență, la animalele din aceleași loturi, nivelului hemoglobinei nu s-a modificat esențial, iar indicele MCH-Hb/eritrocit nu s-a majorat, comparativ cu rezultatele obținute la șobolanii din lotul de control (tab. 4.13.).

Modificările nivelului leucocitelor, formulei leucocitare și trombocitelor la animalele incluse în experiență.

La animalele din lotul cu hepatite toxice modelate cu CCl_4 , după 7 zile de experiență, s-a constatat o micșorare a numărului leucocitelor până la $5,6 \pm 0,3 \times 10^3$ ($p < 0,05$), comparativ cu rezultatele de $9,3 \pm 0,6 \times 10^3$ obținute la șobolanii din lotul martor. De asemenea, în lotul indicat, s-a constatat o majorare nesemnificativă a procentului formelor segmentate și o reducere esențială a celor nesegmentate. Modificările respective în formula leucocitară, la animalele din lotul de control, au avut același caracter și după 14 zile de experiență (tab. 4.14.).

Tabelul 4.14. Modificarea nivelului leucocitelor, formelor segmentate și nesegmentate în hepatita toxică indusă prin CCl_4 și la utilizarea coptizinei bisulfat

Grupele de animale	Nr. animale, n	Leucocite, $\times 10^9/\text{L}$, $M \pm m$	Neutrofile segmentate, $\times 10^9/\text{L}$, $M \pm m$	Neutrofile nesegmentate, $\times 10^9/\text{L}$, $M \pm m$
1. Lotul martor	10	$9,3 \pm 0,6$	$20,9 \pm 1,4$	$7,2 \pm 1,0$
2. CCl_4 după 7 zile (lotul de control)	10	$5,6 \pm 0,3^*$ $p_{1-2} < 0,05$	$26,1 \pm 2,6^*$ $p_{1-2} > 0,05$	$2,7 \pm 1,0^*$ $p_{1-2} < 0,05$
3. CCl_4 + coptizină bisulfat 10 mg/kg 7 zile	10	$10,8 \pm 1,0$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$	$23,6 \pm 3,6$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$	$2,4 \pm 0,5$ $p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$
4. CCl_4 + coptizină bisulfat 20 mg/kg 7 zile	10	$10,2 \pm 1,1$ $p_{1-4} > 0,05$ $p_{2-4} < 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	$25,8 \pm 2,7$ $p_{1-4} > 0,05$ $p_{2-4} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	$2,0 \pm 0,4$ $p_{1-4} < 0,05$ $p_{2-4} < 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$
5. CCl_4 după 14 zile (lotul de control)	10	$6,3 \pm 0,6^*$ $p_{1-5} < 0,05$	$29,2 \pm 2,5^*$ $p_{1-5} < 0,05$	$4,8 \pm 0,4^*$ $p_{1-5} < 0,05$
6. CCl_4 + coptizină bisulfat 10 mg/kg 14 zile	10	$6,5 \pm 0,7^*$ $p_{1-6} < 0,05$ $p_{5-6} > 0,05$	$28,1 \pm 2,8$ $p_{1-6} < 0,05$ $p_{5-6} > 0,05$	$4,7 \pm 0,8$ $p_{1-6} > 0,05$ $p_{5-6} > 0,05$
7. CCl_4 + coptizină bisulfat 20 mg/kg 14 zile	10	$6,7 \pm 0,6^*$ $p_{1-7} > 0,05$ $p_{5-7} > 0,05$ $p_{6-7} > 0,05$	$23,7 \pm 2,0$ $p_{1-7} > 0,05$ $p_{5-7} > 0,05$ $p_{6-7} > 0,05$	$4,1 \pm 1,4$ $p_{1-7} > 0,05$ $p_{5-7} > 0,05$ $p_{6-7} > 0,05$

Notă: * - $p < 0,05$ comparativ cu lotul martor.

În loturile animalelor cu hepatite toxice induse cu CCl_4 și tratate cu coptizină bisulfat, în doze de 10 mg/kg și 20 mg/kg, după 7 zile de experiență nivelul leucocitelor a crescut neesențial până la $10,8 \pm 1,0 \times 10^9/\text{L}$ și $10,2 \pm 1,1 \times 10^9/\text{L}$, comparativ cu rezultatele obținute la animalele din lotul martor $9,3 \pm 0,6 \times 10^9/\text{L}$, pe când valorile din lotul de control indică o diminuare vădită a leucocitelor până la $5,6 \pm 0,3 \times 10^9/\text{L}$ ($p < 0,05$), iar procentul formelor segmentate și nesegmentate nu s-a modificat esențial. În același timp, la administrarea coptizinei bisulfat, în ambele doze, timp de 14 zile, s-a determinat o scădere a nivelului leucocitelor până la $6,5 \pm 0,7$ și $6,7 \pm 0,6$ ($p < 0,05$) comparativ cu rezultatele de $9,3 \pm 0,6 \times 10^9/\text{L}$ obținute la animalele din lotul martor, fără a se modifica raportul formelor segmentate și nesegmentate (tab. 4.14.).

În loturile de animale cu hepatite toxice induse cu CCl_4 s-a determinat o tendință de diminuare a nivelelor limfocitelor după 7 zile cu o scădere în continuare a nivelelor la a 15-a zi de experiență. În loturile de șobolani tratați cu coptizina bisulfat în dozele de 10 mg/kg și 20 mg/kg, timp de 7 zile, s-a determinat o diminuare neesențială a nivelului limfocitelor, comparativ cu lotul martor și cel de control, cu o scădere mai pronunțată a nivelelor după 14 zile de experiență (tab. 4.15.).

Tabelul 4.15. Modificarea nivelului limfocitelor, eozinofilelor, bazofilelor și monocitelor în hepatita toxică indusă prin CCl_4 și la utilizarea coptizinei bisulfat

Grupele de animale	Nr. animale, n	Limfocite, $\times 10^9/\text{L}$, $M \pm m$	Eozinofile, $\times 10^9/\text{L}$, $M \pm m$	Bazofile, $\times 10^9/\text{L}$, $M \pm m$	Monocite, $\times 10^9/\text{L}$, $M \pm m$
1. Lotul martor	10	$64,5 \pm 2,0$	$1,0 \pm 0,4$	0 ± 0	$6,0 \pm 1,3$
2. CCl_4 după 7 zile (lotul de control)	10	$64,2 \pm 3,3$ $p_{1-2} > 0,05$	$0,5 \pm 0,2$ $p_{1-2} > 0,05$	0 ± 0 $p_{1-2} > 0,05$	$6,4 \pm 1,0$ $p_{1-2} > 0,05$
3. CCl_4 + coptizina bisulfat 10 mg/kg 7 zile	10	$65,7 \pm 3,9$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$	$0,7 \pm 0,2$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$	$0,2 \pm 0,1$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$	$7,1 \pm 1,3$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
4. CCl_4 + coptizina bisulfat 20 mg/kg 7 zile	10	$62,5 \pm 3,4$ $p_{1-4} > 0,05$ $p_{2-4} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	$0,8 \pm 0,3$ $p_{1-4} > 0,05$ $p_{2-4} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	$0,1 \pm 0,1$ $p_{1-4} > 0,05$ $p_{2-4} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	$8,3 \pm 1,3$ $p_{1-4} > 0,05$ $p_{2-4} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$
5. CCl_4 după 14 zile (lotul de control)	10	$58,8 \pm 2,3$ $p_{1-5} > 0,05$	$1,7 \pm 0,4$ $p_{1-5} > 0,05$	$0,3 \pm 0,2$ $p_{1-5} > 0,05$	$3,6 \pm 0,5$ $p_{1-5} < 0,05$
6. CCl_4 + coptizina bisulfat 10 mg/kg 14 zile	10	$57,8 \pm 3,2$ $p_{1-6} > 0,05$ $p_{5-6} > 0,05$	$1,3 \pm 0,5$ $p_{1-6} > 0,05$ $p_{5-6} > 0,05$	$0,2 \pm 0,2$ $p_{1-6} > 0,05$ $p_{5-6} > 0,05$	$7,0 \pm 1,6$ $p_{1-6} > 0,05$ $p_{5-6} > 0,05$
7. CCl_4 + coptizina bisulfat 20 mg/kg 14 zile	10	$58,8 \pm 6,7$ $p_{1-7} > 0,05$ $p_{5-7} > 0,05$ $p_{6-7} > 0,05$	$1,6 \pm 0,8$ $p_{1-7} > 0,05$ $p_{5-7} > 0,05$ $p_{6-7} > 0,05$	$0,2 \pm 0,2$ $p_{1-7} > 0,05$ $p_{5-7} > 0,05$ $p_{6-7} > 0,05$	$10,0 \pm 3,5$ $p_{1-7} > 0,05$ $p_{5-7} > 0,05$ $p_{6-7} > 0,05$

La animalele din loturile cu hepatită toxică indusă cu CCl_4 și loturile tratate cu coptizina bisulfat în ambele doze, după 7 zile, s-a determinat o scădere neesențială a nivelelor eozinofilelor, cu o majorare nesemnificativă a lor după 14 zile de experiență, iar nivelele bazofilelor pe parcursul experienței nu s-au modificat substanțial. De asemenea, în loturile de animale cu hepatite toxice induse cu CCl_4 , s-a determinat o scădere vădită a nivelului monocitelor după 14 zile de experiență. În cazul loturilor tratate cu coptizina bisulfat, în ambele doze, nivelul monocitelor nu a scăzut, având tendință spre o majorare mai exprimată în lotul tratat cu coptizina bisulfat în doza de 20 mg/kg timp de 14 zile (tab. 4.15.).

În loturile de animale cu hepatite toxice induse cu CCl_4 , după 7 zile de experiență, s-a

constatat o creștere a numărului trombocitelor până la $790,5 \pm 58,3 \times 10^9/L$ ($p < 0,05$) și după 14 zile până la $903,8 \pm 72,6 \times 10^9/L$ ($p < 0,05$), comparativ cu rezultatele obținute de $603,0 \pm 30,0 \times 10^9/L$ în lotul martor (tab. 4.16.).

Tabelul 4.16. Modificarea nivelului trombocitelor în hepatita toxică indusă prin CCl_4 și la utilizarea coptizinei bisulfat

Grupele de animale	Nr. animale, n	Trombocite, $\times 10^9/L$, $M \pm m$
1. Lotul martor	10	$603,0 \pm 30,0$
2. CCl_4 după 7 zile (lotul de control)	10	$790,5 \pm 58,3^*$ $p_{1-2} < 0,05$
3. CCl_4 + coptizină bisulfat 10 mg/kg 7 zile	10	$727,6 \pm 42,7^*$ $p_{1-3} < 0,05$; $p_{2-3} > 0,05$
4. CCl_4 + coptizină bisulfat 20 mg/kg 7 zile	10	$831,1 \pm 45,8^*$ $p_{1-4} < 0,05$; $p_{2-4} > 0,05$; $p_{3-4} > 0,05$
5. CCl_4 după 14 zile (lotul de control)	10	$903,8 \pm 72,6^*$ $p_{1-5} < 0,05$
6. CCl_4 + coptizină bisulfat 10 mg/kg 14 zile	10	$637,3 \pm 65,0$ $p_{1-6} > 0,05$; $p_{5-6} < 0,05$
7. CCl_4 + coptizină bisulfat 20 mg/kg 14 zile	10	$639,8 \pm 25,7$ $p_{1-7} > 0,05$; $p_{5-7} < 0,05$; $p_{6-7} > 0,05$

Notă: * - $p < 0,05$ comparativ cu lotul martor.

În loturile de animale tratate cu coptizină bisulfat în doza 10 mg/kg timp de 7 zile s-a determinat o micșorare a numărului trombocitelor până la $727,6 \pm 42,7 \times 10^9/L$ ($p < 0,05$) comparativ cu valorile de $790,5 \pm 58,3 \times 10^9/L$ obținute la animalele din lotul de control. În lotul tratat cu coptizină bisulfat în doza de 20 mg/kg, timp de 7 zile, nivelul trombocitelor s-a majorat până la $831,1 \pm 45,8 \times 10^9/L$ ($p > 0,05$) (tab. 4.16.). De asemenea, în loturile tratate cu coptizină bisulfat în ambele doze, timp de 14 zile, numărul trombocitelor practic nu s-a modificat, fiind aproximativ la același nivel cu rezultatele din lotul martor.

4.3. Activitatea regenerativă și gastroprotectoare a coptizinei bisulfat

Pentru aprecierea acțiunii regenerative a coptizinei bisulfat a fost inițiat un studiu pe șobolani albi cu leziuni ale mucoasei gastrice, modelate experimental cu indometacină. Animalele au fost repartizate în loturile respective și tratate cu soluții cu coptizină bisulfat de 1 mg/kg și 5 mg/kg, aprecierea acțiunii regenerative a fost evaluată după 6 zile de tratament, prin examinarea macroscopică a stării mucoasei gastrice, evidențierea prezenței ulcerelor și evaluarea comparativa a modificărilor stabilite la dozele cercetate [111].

După 24 ore de la administrarea indometacinei, la 5 șobolani preconizați pentru evidențierea prezenței leziunilor provocate de indometacină, pe suprafața mucoasei gastrice au fost determinate ulcere și eroziuni de diverse dimensiuni, în medie a câte $10,4 \pm 1,14$ la un animal.

Defectele ulcerose au fost localizate în toate regiunile stomacului, dimensiunile variind de la 0,4x0,6 mm până la 1,2x1,7 mm. Suprafețele ulcerelor au fost neregulate, de culoare brun-întunecată, bine evidențiate și cu diverse grade de afectare a mucoasei (fig. 4.1.).

Rezultatele examinării mucoaselor gastrice după 6 zile de tratament

La șobolanii din lotul martor (administrată sol. 0,9% NaCl) au fost depistate leziuni ulcerose de diverse dimensiuni în medie a câte $7,5 \pm 1,12$ la un animal. Defectele ulcerose au fost localizate în toate regiunile stomacului, dimensiunile variind de la 0,4x0,7 mm până la 1,1x1,8 mm. Suprafețele ulcerelor au fost neregulate, de culoare brună intensă, bine delimitate și cu diverse grade de afectare a mucoasei (fig. 4.2.).



Figura 4.1. Aspectul mucoasei gastrice după administrarea indometacinei la șobolanii din lotul martor



Figura 4.2. Aspectul mucoasei gastrice după 6 zile de experiență la șobolanii din lotul martor

La șobolanii din lotul tratat cu soluția cu coptizină bisulfat în doza de 1 mg/kg au fost depistate leziuni superficiale de diverse dimensiuni, în medie a câte $6,3 \pm 1,13$ la un animal. Leziunile examinate au fost de diverse dimensiuni, localizate difuz pe suprafața mucoasei, de culoare brun-deschisă. Mucoasa adiacentă fără modificări și incluziuni patologice (fig. 4.3.).



Figura 4.3. Aspectul mucoasei gastrice la șobolanii din lotul tratat cu coptizină bisulfat în doza de 1mg/kg după 6 zile de tratament



Figura 4.4. Aspectul mucoasei gastrice la șobolanii din lotul tratat cu coptizină bisulfat în doza de 5 mg/kg după 6 zile de tratament

La șobolanii tratați cu soluție de coptizină bisulfat în doză de 5 mg/kg, au fost depistate un număr scăzut de leziuni superficiale ale mucoasei de dimensiuni mici, în medie a câte $2,6 \pm 1,12$ la un animal. Leziunile examinate au fost slab evidențiate, de culoare roză accentuată, mucoasa adiacentă fără modificări (fig. 4.4.).

4.4. Sinteza capitolului 4

Coptizina bisulfat, la utilizarea timp de 7 zile în doză de 1 mg/kg, a manifestat efecte benefice asupra sindromului moderat de citoliză în hepatite toxice relevate prin diminuarea activității transaminazelor și restabilirea coeficientului de Ritis. Sindromul ușor de colestază în hepatita toxică acută a fost diminuat prin scăderea activității FA, nivelului bilirubinei totale și fracțiilor ei, precum și prin restabilirea raportului FA/AlAT. Coptizina bisulfat în doză de 1 mg/kg în termenele tardive (14 zile) a diminuat sindromul de colestază prin normalizarea activității FA și a raportului FA/AlAT majorat de CCl_4 . În doză de 5 mg/kg coptizina bisulfat nu a influențat semnificativ sindromul de citoliză și colestază în afecțiunea hepatică toxică, dar a determinat efecte benefice de restabilire a nivelului glucozei, proteinelor totale, albuminei și ureei. Substanța de referință berberina bisulfat, în dozele cercetate, practic nu a influențat evoluția sindromului de citoliză și colestază în hepatita modelată experimental, fiind inferioară coptizinei bisulfat administrată în doză de 1 mg/kg.

Administrarea coptizinei bisulfat în dozele de 10 și 20 mg/kg, în hepatita toxică acută modelată experimental, a contribuit la ameliorarea activității transaminazelor și coeficientului de Ritis, activității LDH, la diminuarea activității FA în termenele precoce și a activității GGTP în termenele tardive ale leziunilor hepatice, la corecția efectelor hepatotoxice ale CCl_4 după 7 zile de administrare și a determinat normalizarea numărului trombocitelor și monocitelor după 14 zile de experiență.

Utilizarea coptizinei bisulfat în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg în tratamentul ulcerelor modelate experimental a demonstrat accelerarea dozodependentă a regenerării ulcerelor, mai eficace fiind doza de 5 mg/kg.

5. SINTEZA REZULTATELOR OBȚINUTE

Rostopasca, de rând cu proprietățile benefice, e cunoscută și ca o plantă periculoasă, utilizarea căreia impune prudență. Se cunoaște că rostopasca este toxică în stare proaspătă, când 20-30 de grame ingerate duc la o intoxicație severă, iar 50-60 grame produc intoxicație mortală. În stare uscată, ea este mai puțin toxică, dar necesită precauție în administrarea sa, deoarece pot surveni accidente, uneori grave [46, 95, 99]. Toxicitatea extractelor din rostopască este datorată potențării reciproce a acțiunilor nefaste a alcaloizilor în cazul utilizării asociate a lor. De exemplu, a fost demonstrat ca coptizina, de rând cu alți alcaloizi, contribuie la potențarea toxicității berberinei și altor alcaloizi. Aceste dificultăți din partea interacțiunii alcaloizilor din rostopască au determinat necesitatea de a extrage alcaloizii în mod separat și studia toxicitatea lor. Studiile toxicității individuale a alcaloizilor au demonstrat diverse grade de toxicitate a lor, evidențiind berberina, palmatina, jatrorrhizina, coptizina drept alcaloizi cu un grad mai crescut de toxicitate [82, 101, 137, 171].

Metodele de extracție a coptizinei, descrise în literatură, permit obținerea unui produs nepurificat cu conținut de berberină, chelidonină și alți compuși organici și neorganici. Studiul inocuității coptizinei nepurificate a stabilit un grad mediu de toxicitate a ei fiind de 852,12 mg/kg. Gradul mediu de toxicitate a coptizinei nepurificate, de asemenea este explicat de conținutul în componența sa a altor alcaloizi și compuși neorganici, care sunt absorbiți mai intens datorită acțiunii suprimante a coptizinei asupra P-glicoproteinei. De asemenea și biodisponibilitatea coptizinei date este influențată de impuritățile prezente, care probabil posedă o interacțiune de tip farmacocinetic la nivel de absorbție [136, 147, 150].

Obținerea unui produs de coptizină mai purificat care va diminua toxicitatea ei, va majora biodisponibilitatea și va potența acțiunea hepatoprotectoare proprie a fost scopul elaborării metodei de extragere a alcaloidului, descrise și implementate de către colaboratorii Casian I. și Casian A., conferențieri cercetători a Centrului Științific a Medicamentului din cadrul IP USMF "Nicolae Testemițanu". Metoda dată constă din câteva etape consecutive, care includ obținerea inițială a extractului din rostopască, apoi extragerea bisulfatului de coptizină nepurificat și ulterior purificarea lui cu obținerea unui produs pur practic fără conținut de sulfați neorganici și fără impurități organice de origine străină [12].

Conform proprietăților biochimice stabilite coptizina bisulfat obținută a fost orientată pentru studiul ei și aprecierea influenței asupra funcțiilor și parametrilor activității hepatice. Studiarea coptizinei, obținute sub formă de bisulfat a stabilit scopul și obiectivele cercetărilor efectuate în teza dată.

Cercetările toxicologice preclinice permit evidențierea caracterului și gradului de exprimare a daunelor aduse organismului animalelor experimentale de către substanța cercetată și inocuității ei. În cadrul experimentelor de cercetare a toxicității acute s-a demonstrat că după administrarea internă a coptizinei bisulfat la șobolani în dozele de la 25 mg/kg până la 2000 mg/kg și în doza maxim posibilă de dizolvare 2600 mg/kg nu s-a constatat decesul animalelor. Din aceste considerente a fost imposibilă determinarea DL_{50} ; conform tabelului 2.1. coptizina bisulfat a fost determinată ca o substanță biologic activă relativ inofensivă (DL_{50} fiind >1500 mg/kg) [59]. De asemenea, inocuitatea coptizinei bisulfat a fost confirmată prin modificările neesențiale ale tabloului sângelui periferic la animalele din lotul tratat cu coptizină bisulfat în doza maximă administrabilă de 2600 mg/kg.

Analiza parametrilor biochimici în cadrul toxicității acute a demonstrat că coptizina bisulfat a produs o hipoglicemie ușoară, o creștere neesențială a conținutului proteinelor totale, ureei și creatininei fără a-l modifica pe cel al albuminei.

Diminuarea nivelului seric al glucozei, în studii experimentale, este argumentată de influența coptizinei bisulfat asupra unor ținte implicate în metabolismul glucidic, și anume transportorul glucozei (GLUT2), nitroxid sintazei inductibile (iNOS), receptorului 1 de eliberare a insulinei etc., care se manifestă prin stimularea secreției de insulină, diminuarea rezistenței la insulină și favorizarea utilizării glucozei de către țesuturi. De asemenea, prezența compoziției inelare în structura chimică a derivaților izochinolinici inclusiv și a coptizinei bisulfat, este responsabilă de inhibarea aldoreductazei, enzimă cheie a căii poliolice de transformare a glucozei în sorbitol, responsabil de dezvoltarea complicațiilor tardive ale diabetului zaharat [32, 152, 159].

Majorarea nivelului ureei și creatininei este în corelație cu creșterea nivelului proteinelor totale pe care o putem considera ca o reacție de răspuns a organismului la acțiunea factorului stresant prezent în timpul administrării intragastrale a substanței cercetate și volumului maxim de lichid admisibil pentru administrarea intragastrală [168, 170, 175].

Studiul parametrilor metabolismului lipidic a relevat o reducere mai importantă a conținutului colesterolului total și beta-lipoproteinelor la doza unimomentană de 2600 mg/kg a alcaloidului. Diminuarea conținutului colesterolului de coptizina bisulfat este argumentată de mecanismul descris de către savanții Pang B. et al. (2015) care au confirmat, ca sinteza colesterolului este influențată de coptizină prin reglarea feedback negativă a expresiei 3-hidroxi-3-metil-glutaril coenzim-A reductazei, precum și prin intensificarea clearance-ului lipidelor, și prin reglarea feedback pozitivă a receptorilor LDL, colesterol-1-alfa-hidroxilazei și expresiei proteinei 2 decuplate [27, 84, 105].

Coptizina bisulfat în doza maxim admisibilă de 2600 mg/kg a contribuit la majorarea nivelului bilirubinei totale și celei indirecte, fără a modifica fracția bilirubinei directe. Stabilitatea fracției bilirubinei directe ne indică despre inocuitatea hepatică a coptizinei bisulfat. Creșterea nivelului bilirubinei totale poate fi lămurită pe baza acumulării coptizinei bisulfat în căile biliare cu inițierea unui proces nesemnificativ de stază biliară, în cazul administrării dozelor excesive de substanță activă.

Coptizina bisulfat după o doză de 2600 mg/kg a determinat o creștere nesemnificativă a activității fosfatazei alcaline și GGTP, fiind un indiciu al debutului de stază biliară, proces caracteristic în cazul dozelor mari de substanțe cu tip de excreție biliară. Majorarea neesențială a activității AsAT și diminuarea AlAT cu o creștere moderată a indicelui de Ritis (probabil datorate acumulării substanței cercetate în căile biliare) ne confirmă acțiunea hepatoprotectoare a coptizinei bisulfat stabilită experimental.

La cercetarea toxicității cronice a coptizinei bisulfat în doze de la 1/1000 (2,5 mg/kg) până la 1/10 (250 mg/kg) din doza maxim admisibilă pentru administrare de 2600 mg/kg, toate animalele incluse în experiență au ramas în viață, având un regim de activitate obișnuit. La administrarea coptizinei bisulfat în doze mici s-a determinat o micșorare nesemnificativă a nivelului glucozei în sânge, iar la doza de 250 mg/kg s-a constatat hipoglicemie. Rezultatele obținute de noi vin în concordanță cu datele unor autori [40, 62, 78, 87], care evidențiază mecanismele specifice hipoglicemiante ale coptizinei și au fost descrise anterior.

Rezumând cele expuse remarcăm că, coptizina bisulfat poate exercita efecte benefice în diabetul zaharat prin influența asupra unor ținte implicate în metabolismul glucidic, care pot stimula secreția de insulină, ameliora rezistența la insulină, favoriza utilizarea glucozei, regla citokinele inflamatorii și îmbunătăți metabolismul, manifestând astfel efecte curative sinergice și complementare în tratamentul diabetului zaharat [19, 27, 34, 66].

La determinarea parametrilor metabolismului lipidic conținutul colesterolului total s-a majorat neesențial la administrarea coptizinei bisulfat în doze mici (2,5 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 25 mg/kg), iar în doze mari (250 mg/kg) a manifestat tendință spre micșorare. Modificările obținute ne demonstrează influența dozodependentă a coptizinei bisulfat asupra nivelului colesterolului, acțiunea hipolipemiantă a dozelor mari de coptizină bisulfat fiind demonstrată și în cazul studiului toxicității acute prin administrarea dozei de 2600 mg/kg intragastral [42, 69, 105].

Ameliorarea metabolismului lipidic (diminuarea nivelului colesterolului, trigliceridelor și LDL cu creșterea HDL), conform datelor din literatură se explică prin faptul că, coptizina bisulfat exercită un efect hipolipemiant prin micșorarea sintezei colesterolului (prin reglarea

feedback negativă a expresiei HMGCo-A), creșterea utilizării lui (prin reglarea feedback pozitivă a receptorilor LDL, CYP7A1) și accelerarea excreției colesterolului (prin majorarea fracției acizilor biliari eliminați prin masele fecale) [16, 22, 24]. Cele relatate sugerează ideea că, coptizina bisulfat poate fi utilă pentru prevenirea bolilor legate de hipercolesterolemie.

Analizând valorile bilirubinei totale și fracțiilor ei după administrarea dozelor mici și mari de coptizină bisulfat s-a demonstrat o tendință dozodependentă de majorare a valorilor parametrilor cercetați, fiind mai exprimate la doze mari. Acest fapt a fost confirmat și în cazul studiului toxicității acute prin administrarea unică a dozei de 2600 mg/kg. Creșterea nivelului bilirubinei totale poate fi explicată, probabil, prin faptul că, odată cu majorarea dozelor coptizinei bisulfat, crește și concentrația ei la nivelul căilor biliare, făcând dificilă viteza de excreție a bilei și, retrograd, ridică presiunea la nivelul canalelor hepatobiliare, ce contribuie la extravazarea bilirubinei totale în patul vascular [46, 95, 108, 109, 171].

Nivelele serice ale transaminazelor (AsAT și AlAT) după 30 de zile de administrare a coptizinei bisulfat practic nu s-au modificat. Acest fapt ne denotă că substanța cercetată, indiferent de dozele administrate, nu manifestă acțiune nefastă asupra funcțiilor fiziologice ale hepatocitelor intacte; nu provoacă semne de stază biliară, fapt confirmat prin stabilitatea nivelelor enzimei AsAT și nu manifestă fenomene de citoliză caracteristice administrării unor medicamente, fapt confirmat de stabilitatea nivelelor enzimei AlAT [14, 46, 108, 159].

Majorarea neesențială a activității fosfatazei alcaline nu este în corelație cu nivelele transaminazelor, astfel putem constata că această creștere poate fi legată de unele particularități tehnice de conservare sau transportare a probelor de sânge și nu de acțiunea deteriorantă a substanței cercetate, de exemplu o creștere neesențială a fosfatazei alcaline poate fi observată în cazul păstrării probelor de sânge în frigider. De asemenea, creșterea neesențială a activității lactatdehidrogenazei și conținutului GGTP după utilizarea coptizinei bisulfat în dozele respective timp de 30 zile, nu este un indiciu al dereglării funcțiilor hepatice, deoarece afectările hepatice sunt asociate cu un nivel mult mai mare al lor și sunt în corelație cu majorarea semnificativă a nivelelor fosfatazei alcaline și transaminazelor hepatice [46, 159].

Cercetând inocuitatea coptizinei bisulfat autohtone au fost confirmate și rezultatele respective obținute de către alți cercetători și descrise în sursele din literatura științifică din ultimii ani, unde se relatează că, acțiune benefică asupra funcțiilor ficatului au și alți derivați izochinolinici înrudiți cu coptizina cu efecte antioxidante, coleretice, antiinflamatoare și imunomodulatoare (berberina, protopina, cheleritrina, sanguinarina, acidul chelidonic) [95, 158]. Studiile experimentale au demonstrat, că coptizina bisulfat nu alterează funcțiile ficatului.

Cele relatate denotă rolul acțiunii antioxidante a coptizinei bisulfat în prevenirea efectelor citolitice ale stresului oxidativ, asigurată de captarea de către ea a radicalilor liberi (hidroxil, peroxil, hipoclorid), anionilor (superoxid, singlet), precum și de creșterea activității enzimelor antioxidante (catalaza, superoxid dismutaza MnSOD) [14, 63, 79, 123, 145].

În cadrul experimentelor de cercetare a biodisponibilității coptizinei bisulfat la șoareci s-a determinat o corelație dintre doza ei și concentrația substanței în ficat și bilă după administrarea intragastrală. Analiza rezultatelor obținute ne-a demonstrat că coptizina bisulfat se concentrează în ficat cu eliminarea prin bilă și ulterior prin scaun. Cantitatea majorată de substanță în materiile fecale ne-a relevat despre faptul, că o parte importantă nu se absoarbe suficient din tubul digestiv, ceea ce demonstrează despre prezența ciclului enterohepatic de circulație a ei.

Analiza literaturii referitor la farmacocinetica alcaloizilor din *Chelidonium majus* ne-a indicat un număr relativ mic de surse cu date destul de contradictorii. În primul rând, aceasta se referă la absorbția și biodisponibilitatea alcaloizilor din rostopască; în acest aspect specificându-se diferență dintre nivele plasmatice după administrarea extractelor din plantă și a alcaloizilor puri. În al doilea rând, s-a încercat de a elucidă o corelație dintre concentrațiile alcaloizilor și efectele farmacologice, respectiv de a evidenția capacitatea de distribuție în diferite țesuturi și organe. În al treilea rând, s-a cercetat corelația dintre concentrația alcaloizilor puri și procesele de metabolizare la nivelul ficatului sau chiar intestinului, fenomene ce presupun rolul unor metaboliți ai alcaloizilor, responsabili de efectele farmacologice [3, 33, 130, 136, 144].

Coeficientul de permeabilitate al coptizinei nepurificate a fost între $0,49-0,64 \times 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$, mai mic decât al berberinei, dar mai mare ca la palmatină și jatrorrhizină, fapt ce demonstrează la om o permeabilitate slabă a alcaloizilor [33].

Studiile pe intestin de șobolan au demonstrat, că alcaloizii se absorb preponderent în jejun și ileon, dar mai semnificativ în jejun. Procentul cumulativ al absorbției intestinale pentru alcaloizi timp de 4 ore a fost de peste 15,75%. Rezultatele obținute relevă că alcaloizii, inclusiv coptizina nepurificată, se caracterizează printr-o permeabilitate și absorbție slabă, iar efluxul prin P-gp și metabolismul hepatic sunt responsabili de biodisponibilitatea redusă și la concentrații plasmatice reduse la administrarea internă [33, 89].

Biodisponibilitatea coptizinei nepurificate poate fi redusă datorită metabolizării la primul pasaj hepatic cu formarea unui metabolit activ prin reacția de demetilare oxidativă. Concomitent, s-a constatat că coptizina (cel mai puternic din alcaloizii din rostopască) reduce metabolismul berberinei datorită inhibării CYP2D6 în ficat, iar ea se supune metabolizării cu formarea a 17 metaboliți, inclusiv 11 neconjugați, rezultați prin hidroxilare, hidrogenare, demetilare, dehidrogenare și 6 conjugați cu acid glucuronic și sulfuric [130]. În pofida unei absorbții reduse

a coptizinei la administrarea orală, alcaloidul se distribuie preponderent în ficat. Totodată, s-a demonstrat că, la utilizarea extractului integru din rostopască, alcaloizii, în deosebi coptizina, vor avea influențe benefice asupra farmacocineticii compușilor activi [86, 87, 168].

Studiile de farmacocinetică au demonstrat, că extractele de alcaloizi au o biodisponibilitate relativ mică, aceasta fiind influențată de activitatea P-glicoproteinei în intestin, metabolizarea la nivel hepatic cu participarea izoenzimelor CYP2D6, CYP 1A2 și formarea metaboliților [21, 48, 124, 153]. În opinia noastră, coptizina purificată sub formă de bisulfat s-a dovedit a fi un produs cu o biodisponibilitate mai înaltă comparativ cu soluțiile cu conținut sumar de alcaloizi [115].

La modelarea HTA cu CCl_4 s-a constatat o majorare semnificativă a activității ALAT cu o creștere mai puțin importantă a activității AsAT. Rezultatele obținute ne demonstrează despre o leziune a membranelor hepatocitelor cu eliberarea fracției citoplasmatică a ALAT ce constituie 80% din activitatea totală a enzimei în ficat. În același timp, activitatea AsAT în ser a crescut doar cu circa 40%, deoarece fracția citoplasmatică a acesteia constituie doar 20% din ponderea enzimei în ficat. În acest context, s-a determinat și o micșorare de 2 ori a coeficientului de Ritis.

Utilizarea coptizinei bisulfat în doza de 1 mg/kg timp de 7 zile pe fondalul hepatitelor induse de CCl_4 a preîntâmpinat majorarea activității transaminazelor, menținându-le în limitele lotului martor, fapt confirmat și prin valorile coeficientului de Ritis [110]; doza de 5 mg/kg practic nu a prevenit majorarea activității ALAT cu diminuarea celei a AsAT, coeficientul de Ritis constituind 1,42 în lotul cu coptizină bisulfat față de 1,18 în cel cu CCl_4 . Ținând cont de rezultatele obținute putem conchide că, coptizina bisulfat în doza de 1 mg/kg a manifestat un efect hepatoprotector cu preîntâmpinarea dezvoltării leziunii hepatice modelate experimental (fig. 5.1., 5.2. și 5.3.).

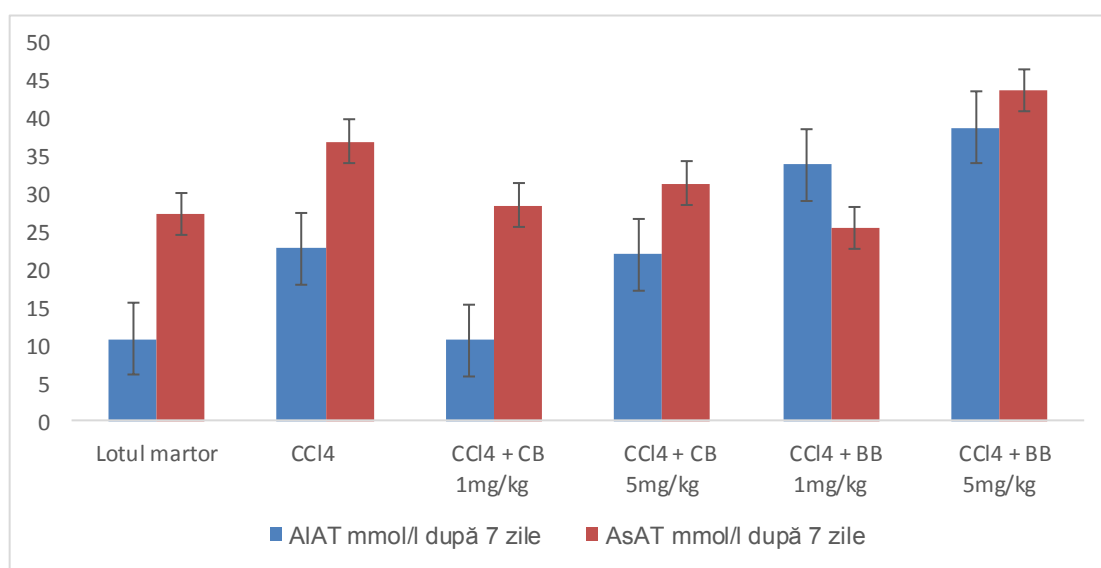


Figura 5.1. Influența coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat asupra activității ALAT în HTA

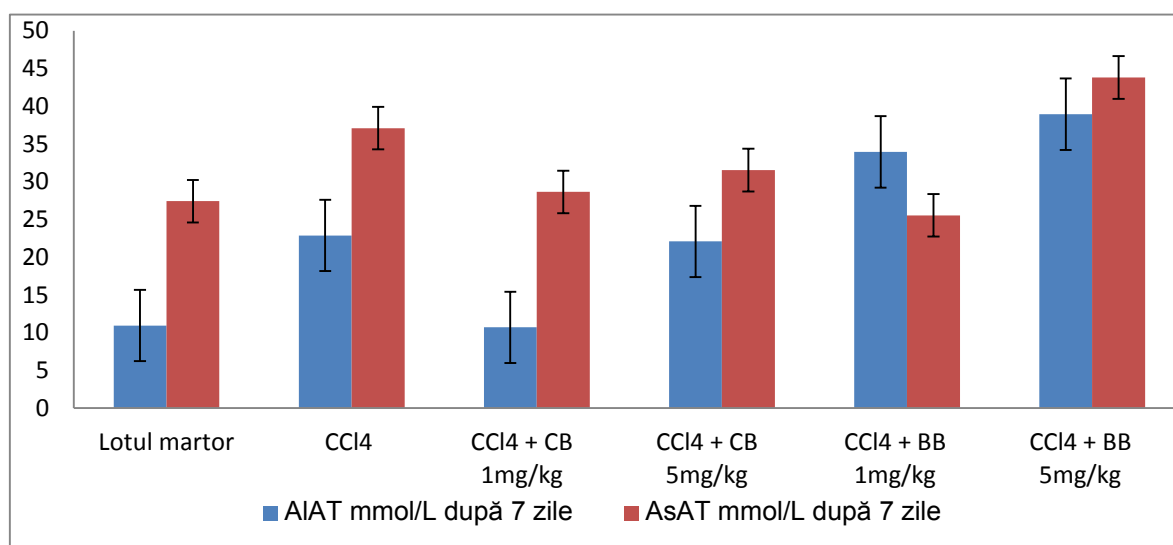


Figura 5.2. Influența coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat asupra activității AsAT în HTA

La utilizarea berberinei bisulfat în doza de 1 mg/kg timp de 7 zile pe fundalul modelării afecțiunii hepatice s-a constatat, că nivelul AsAT a fost în limitele animalelor din lotul martor, în timp ce nivelul ALAT a crescut esențial față de ambele loturi, remarcându-se și printr-o micșorare dramatică a coeficientului de Ritis. În același timp, la administrarea berberinei bisulfat în doza de 5 mg/kg timp de 7 zile, activitatea transaminazelor a crescut atât față de lotul martor, cât și cel cu hepatita experimentală, efect confirmat și prin coeficientul de Ritis caracteristic prin valori echivalente cu nivelele obținute la animalele cu leziune hepatică (fig. 5.1., 5.2. și 5.3.).

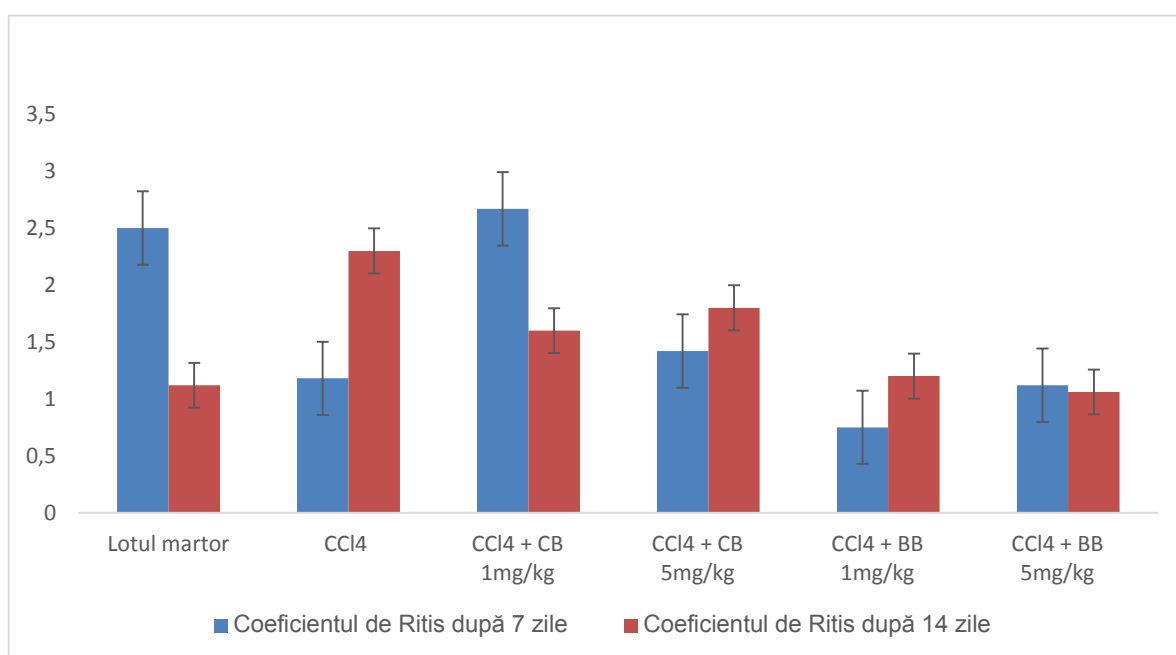


Figura 5.3. Influența coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat asupra coeficientul de Ritis în HTA

La a 15-a zi de experiență, la animalele din lotul de control s-a determinat o revenire a activității AlAT practic la nivelul lotului martor, iar celei a AsAT chiar sub valorile acestuia, coeficientul de Ritis constituind 1,6 față de 2,3 în lotul martor. Tendința de normalizare a activității transaminazelor, îndeosebi a AsAT, peste 2 săptămâni după dozele toxice de CCl₄ poate fi determinată de includerea mecanismelor compensatorii de accelerare a neutralizării hepatocitelor afectate. Administrarea coptizinei bisulfat în doza de 1 mg/kg, timp de 14 zile, a menținut în limitele lotului martor activitatea AsAT cu valori nesemnificativ majorate ale AlAT, iar coeficientul de Ritis s-a majorat până la 1,8 față de 1,6 în lotul cu CCl₄; iar în doza de 5 mg/kg activitatea AlAT a rămas majorată față de lotul cu leziune hepatică, cea a AsAT a fost puțin sub valorile lotului martor. Administrarea berberinei bisulfat în aceleași condiții a menținut în limitele lotului martor activitatea AsAT cu o majorare celei a AlAT față de animalele intacte și cele cu leziune hepatică experimentală, fapt ce a determinat un coeficient de Ritis sub valorile lotului martor (fig. 5.1., 5.2. și 5.3.).

Analizând modificarea activității transaminazelor la animalele cu hepatită experimentală tratate cu coptizină bisulfat putem remarca un efect protector al ei în doza de 1 mg/kg, cu preîntâmpinarea dezvoltării afecțiunii hepatice. În același timp, coptizina bisulfat în doza de 5mg/kg, după 7 zile de experiență, practic nu preîntâmpina leziunea toxică produsă de CCl₄, iar după 14 zile determina chiar o majorare a activității transaminazelor. Cele relatate indică despre un efect dependent de doză.

De asemenea la a 8-a zi după modelarea HTA s-a constatat o creștere nesemnificativă a activității fosfatazei alcaline (fig. 5.4.), administrarea coptizinei bisulfat în ambele doze a preîntâmpinat majorarea activității enzimei, berberina bisulfat în doza de 1 mg/kg a crescut activitatea fosfatazei alcaline, iar în doza de 5 mg/kg activitatea enzimei s-a micșorat semnificativ în ambele loturi (de control și martor). Cercetând activitatea fosfatazei alcaline după 14 zile de la modelarea afecțiunii hepatice toxice, am stabilit, că la animalele din lotul de control s-a determinat o majorare a nivelului ei, fapt ce ne dovedește despre instalarea unui sindrom de colestază. Administrarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat timp de 2 săptămâni în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg a contribuit la diminuarea semnificativă a activității fosfatazei alcaline, preparatele influențând benefic hepatita toxică acută prin diminuarea sindromului de colestază (fig. 5.4.). Datele obținute de către noi sunt în concordanță cu cele descrise de către cercetători [46, 146, 171].

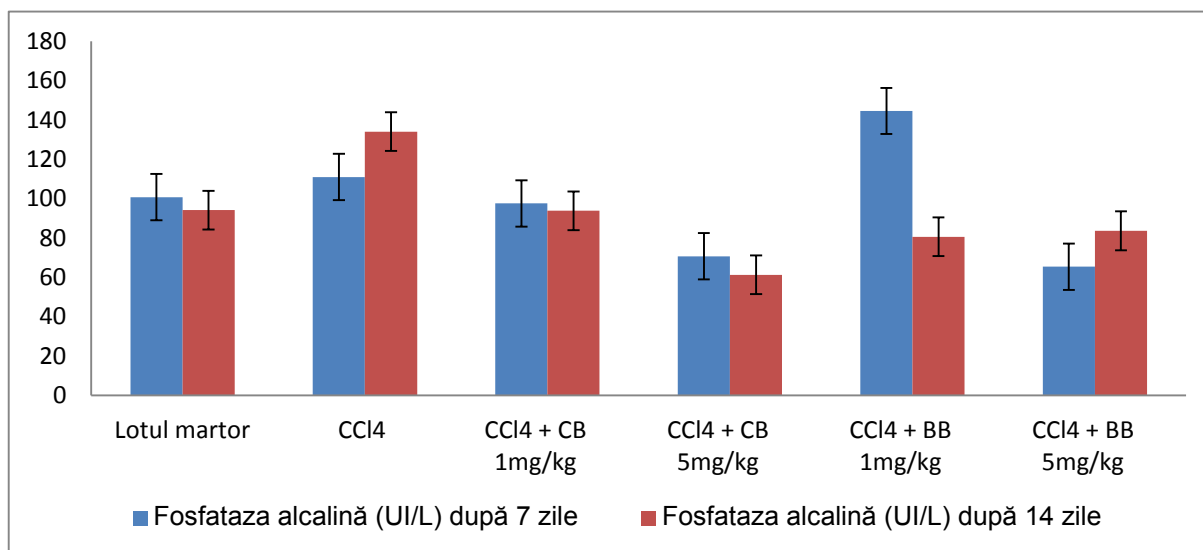


Figura 5.4. Influența coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat asupra activității FA în HTA

Pentru aprecierea caracterului leziunii hepatice s-a determinat raportul activitatea fosfatazei alcaline/alaninaminotransferazei (FA/AlAT). La determinarea acestui indice la animalele cu hepatită experimentală (lotul de control) la a 8-a zi s-a constatat o reducere a raportului FA/AlAT, fapt ce ne dovedește despre predominarea în acești termeni a sindromului de citoliză (fig.5.5.).

Administrarea coptizinei bisulfat timp de 7 zile în doza de 1 mg/kg a preîntâmpinat creșterea activității FA și AlAT, menținând raportul acestora în limitele lotului martor, iar în doza de 5 mg/kg raportul FA/AlAT s-a micșorat prin reducerea activității FA fără a influența creșterea celei a AlAT. Berberina bisulfat în doza de 1 mg/kg a determinat un raport al FA/AlAT similar cu cel al animalelor cu hepatită toxică prin creșterea activității ambelor enzime, iar în doza de 5 mg/kg a demonstrat o scădere esențială a raportului datorită micșorării activității FA și majorării celei a AlAT (fig. 5.5.).

Analiza raportului FA/AlAT după 14 zile a demonstrat o majorare a acestui indice la animalele din lotul de control până la 10,5 în comparație cu lotul martor de 7,7, fapt ce ne relevă despre predominarea fenomenelor de colestază. Coptizina bisulfat în doza de 1 mg/kg a contribuit la normalizarea activității FA, ce a și determinat revenirea raportului respectiv chiar sub limitele lotului martor, iar în doza de 5 mg/kg, de asemenea, a redus semnificativ activitatea FA, dar nu a majorat-o pe cea a AlAT, contribuind la diminuarea esențială a raportului FA/AlAT. Berberina bisulfat, în ambele doze, a influențat benefic activitatea FA, dar a crescut-o pe cea a AlAT, ce a determinat o micșorare a raportului respectiv (fig. 5.5.).

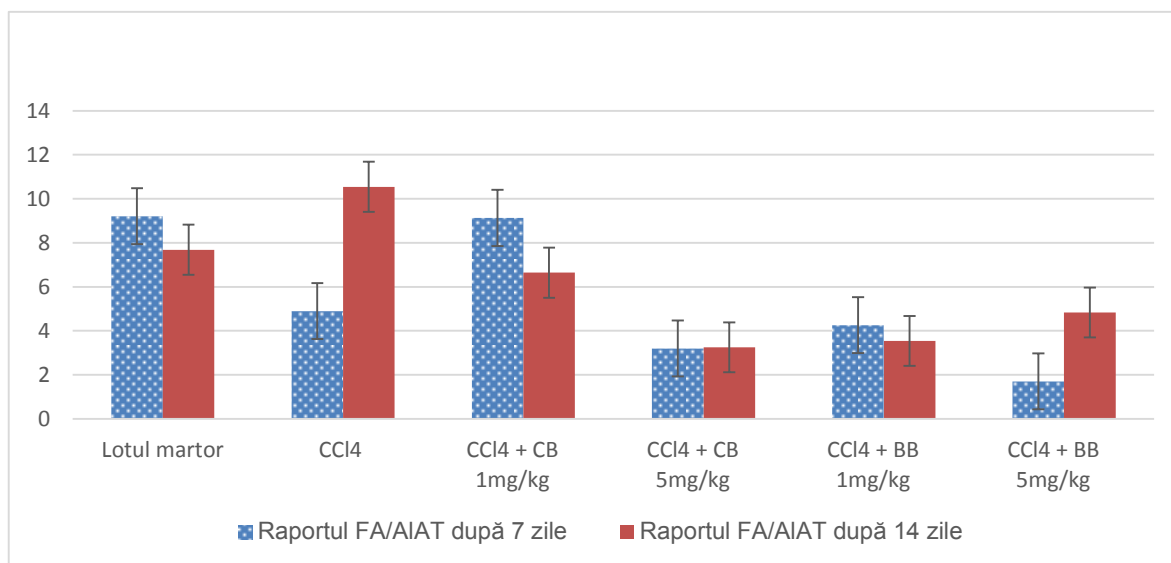


Figura 5.5. Influența coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat asupra raportului FA/AlAT în hepatita toxică acută

În baza celor relatate putem conchide, că administrarea dozelor toxice de CCl₄ s-a soldat cu dezvoltarea, în termenii precoci, a unui sindrom moderat de citoliză relevat prin majorarea activității transaminazelor, în deosebi a AlAT, și micșorarea vădită a raportului de Ritis, precum și a unui sindrom ușor de colestază confirmat prin creșterea neesențială a activității FA. În termenii mai tardivi (14 zile) s-a constatat o regresie a sindromului de citoliză (normalizarea practic a activității transaminazelor) cu accentuare celui de colestază (majorarea activității FA și a raportului FA/AlAT).

Administrarea coptizinei bisulfat în doza de 1 mg/kg s-a dovedit a avea efecte benefice asupra hepatitei toxice la utilizarea timp de 7 zile exprimate prin micșorarea activității transaminazei și FA, iar în termenele tardive (14 zile), a diminuat manifestările sindromului de colestază determinat prin diminuarea activității FA, precum și prin restabilirea raportului FA/AlAT. În condiții similare, coptizina bisulfat în doza de 5 mg/kg nu a influențat pozitiv evoluția afecțiunii hepatice toxice [46, 95]. Berberina bisulfat practic nu a influențat evoluția hepatitei experimentale în dozele cercetate, fiind inferioară coptizinei bisulfat în doza de 1 mg/kg.

Creșterea, sub acțiunea CCl₄, a nivelului bilirubinei totale, directe și indirecte, ne denotă prezența sindromului de citoliză în termeni precoci. Administrarea coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat în doze de 1 mg/kg și 5 mg/kg timp de 7 zile, s-a soldat cu o creștere proporțională a bilirubinei totale, directe și indirecte (fig. 5.6.).

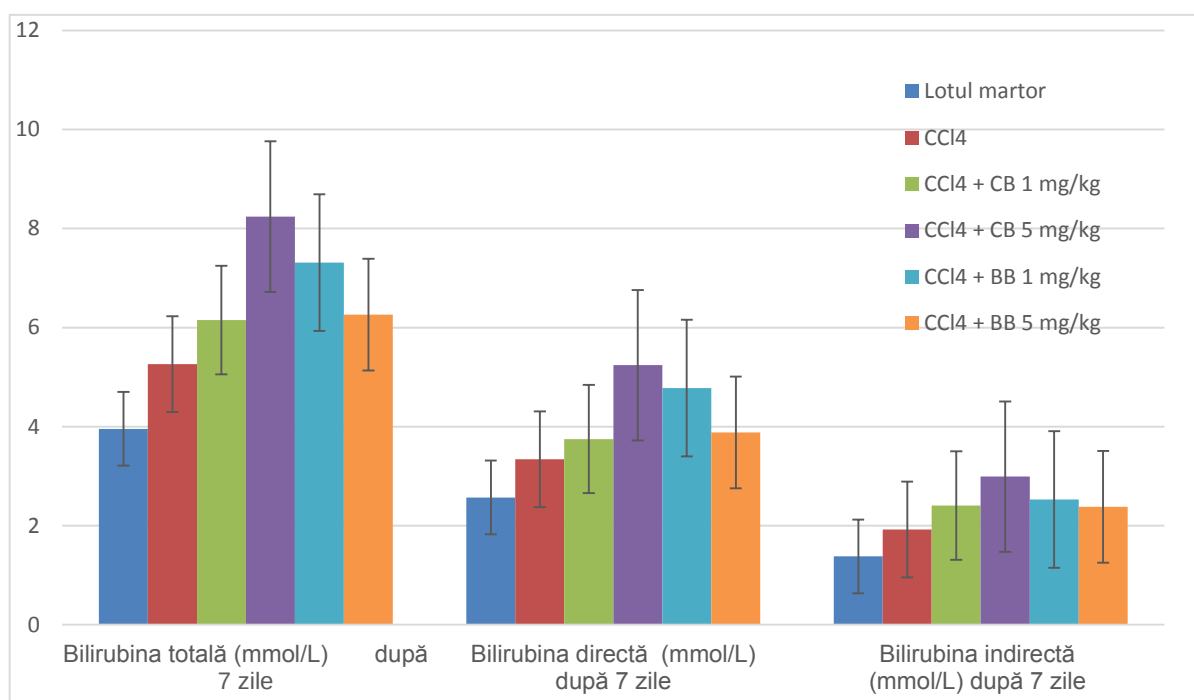


Figura 5.6. Influența coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat la administrarea timp de 7 zile asupra nivelului bilirubinei și fracțiilor ei în HTA

La a 15-a zi după modelarea HTA în lotul de control s-a constatat o micșorare neesențială a nivelului bilirubinei totale, directe și indirecte. Administrarea coptizinei bisulfat în doza de 1 mg/kg a determinat o micșorare a nivelului bilirubinei totale și fracțiilor ei față de lotul martor și cel cu leziune hepatică, iar în doza de 5 mg/kg a înregistrat o majorare a conținutului lor. După 14 zile de utilizare a berberinei bisulfat în doza de 1 mg/kg la animalele cu leziune hepatică s-a constatat o majorare a nivelului bilirubinei totale, directe și indirecte, iar în doza de 5 mg/kg a determinat o micșorare a conținutului bilirubinei și fracțiilor ei (fig. 5.7.) [46, 61, 146, 171].

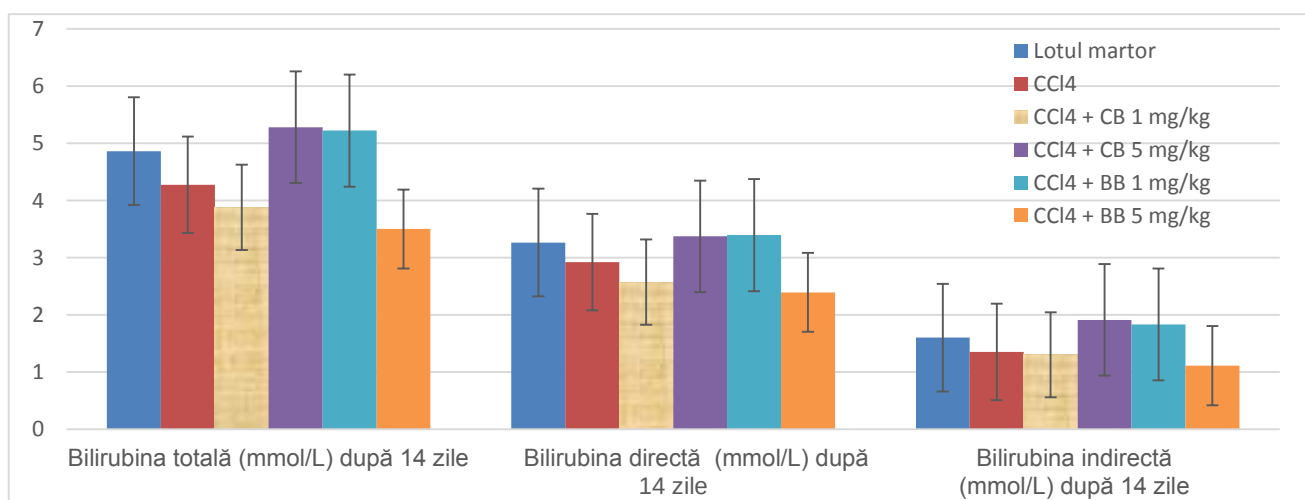


Figura 5.7. Influența coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat în dozele de 1 și 5 mg/kg la administrarea timp de 14 zile asupra nivelului bilirubinei și fracțiilor ei în HTA

Cele relatate denotă prezența unui sindrom ușor de colestază argumentat prin creșterea nivelului bilirubinei totale, directe și indirecte în termeni precoci, iar în termenii mai târzi se constată regresia lui prin diminuarea nivelului bilirubinei. Coptizina bisulfat în doza de 1 mg/kg s-a dovedit a avea efecte benefice asupra hepatitei toxice la utilizarea timp de 14 zile, exprimate prin micșorarea nivelului bilirubinei totale și fracțiilor ei, substanța de referință fiind inferioară ei în aceleași condiții [46, 95].

La determinarea activității LDH s-a constatat că leziunea hepatică a diminuat nivelul enzimei în ambele termene. Utilizarea coptizinei bisulfat în doza de 1 mg/kg practic a preîntâmpinat micșorarea activității enzimei, iar în doza de 5 mg/kg nu a influențat acțiunea hepatotoxicului. La administrarea berberinei bisulfat în ambele doze timp de 7 zile nivelul LDH a coborât sub cel al animalelor din lotul cu afecțiune hepatică. Activitatea LDH la a 15-a zi după modelarea HTA nu s-a modificat semnificativ sub influența coptizinei bisulfat în ambele doze în comparație cu animalele din lotul de control, iar berbebrina bisulfat în doza de 5 mg/kg a contribuit la menținerea activității LDH în limitele lotului martor. Deosebirile evidente ale valorilor LDH la utilizarea coptizinei bisulfat în diferite doze denotă efectul dozodependent și posibilitatea ajustării lor corespunzător situației clinice.

La animalele din lotul de control la a 8-a zi s-a determinat o micșorare a nivelului glucozei în sânge fără a modifica conținutul ei după 14 zile. Administrarea coptizinei bisulfat în doza de 1 mg/kg în ambele termene nu a influențat hipoglicemia indusă de hepatotoxic, iar în cea de 5 mg/kg, în termene identice, a contribuit la o majorare neesențială a conținutului glucozei. La a 8-a zi berberina bisulfat, în dozele cercetate, practic a menținut nivelul glicemiei la limitele lotului martor, iar utilizarea berberinei bisulfat în ambele doze timp de 14 zile pe fundalul HTA a contribuit la creșterea semnificativă a glicemiei. Rezultatele înregistrate ne demonstrează efectul hipoglicemiant dozodependent al coptizinei bisulfat comparativ cu substanța de referință.

La animale cu hepatite toxice atât la a 8-a zi, cât și la a 15-a zi nu s-au constatat modificări esențiale ale nivelului colesterolului total. Administrarea coptizinei bisulfat în doza de 1 mg/kg și 5 mg/kg, timp de 7 și 14 zile de experiență, a influențat neesențial conținutul colesterolului total. Date similare s-au obținut și la utilizarea berberinei bisulfat în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg. Există însă studii, în care autorii evidențiază, sub acțiunea coptizinei, diminuarea nivelului colesterolului total și trigliceridelor cu limitarea stresului oxidativ prin scăderea expresiei monoxidului de azot și dialdehidei malonice și majorarea expresiei superoxid dismutazei și glutatation peroxidazei [17, 34, 66]. Rezultatele cercetării denotă, că în doze mici alcaloidul nu influențează parametrul respectiv.

Pentru stabilirea posibilei corelații între doza de coptizină bisulfat și gradul de manifestare

a acțiunii hepatoprotectoare s-a recurs la studierea influenței alcaloidului în dozele de 10 mg/kg și 20 mg/kg asupra evoluției hepatitei toxice acute [46, 100, 113, 159].

La modelarea hepatitei toxice acute după 7 și a 14 zile de experiență s-a constatat o majorare a conținutului AlAT și AsAT cu o micșorare a coeficientului de Ritis, fapt ce denotă despre dezvoltarea unei HTA cauzate de acțiunea toxică a tetraclorurii de carbon (fig. 5.8 și 5.9).

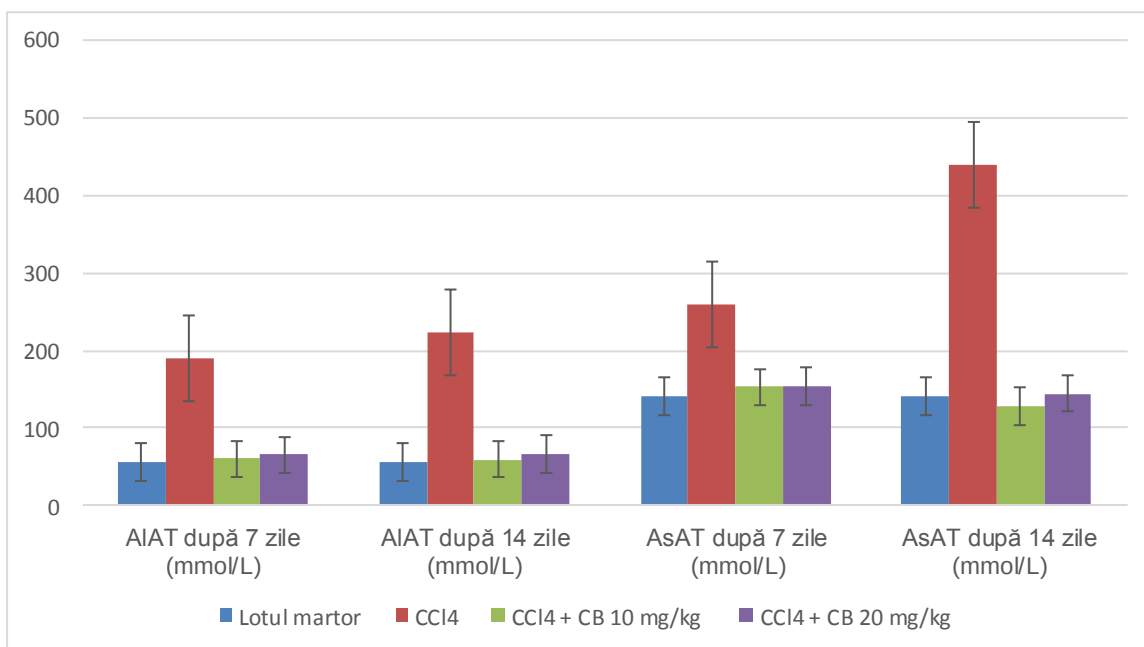


Figura 5.8. Modificarea activității AlAT și AsAT în hepatita toxică acută la utilizarea coptizinei bisulfat

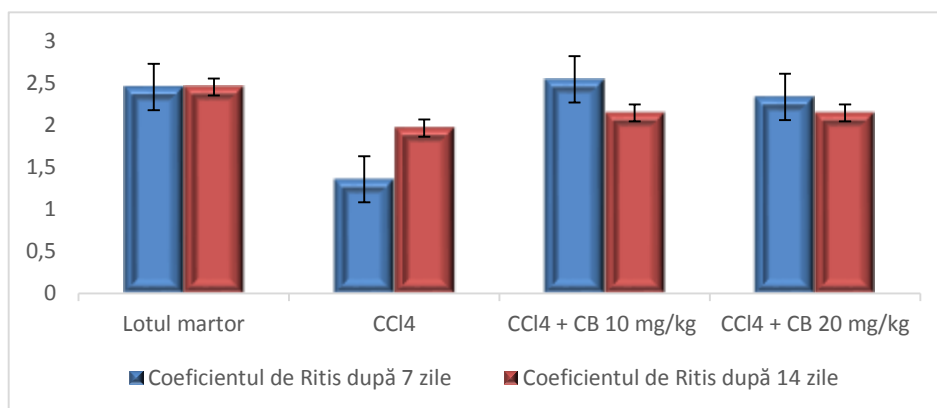


Figura 5.9. Modificarea coeficientului de Ritis în HTA la utilizarea coptizinei bisulfat

Administrarea coptizinei bisulfat în dozele de 10 mg/kg și 20 mg/kg în ambele intervale de timp a contribuit la menținerea nivelelor enzimelor AlAT și AsAT și coeficientului de Ritis practic la nivelul rezultatelor obținute la animalele din lotul martor (fig. 5.8 și 5.9), fiind astfel

unul din indicii care confirmă acțiunea hepatoprotectoare a substanței cercetate pe modele de hepatite toxice modelate experimental [43, 146].

De asemenea, la șobolanii cu HTA s-a determinat și o creștere a activității fosfatazei alcaline, care este în corelație cu majorarea transaminazelor descrise anterior și caracterizează sindromul citolitic. La utilizarea coptizinei bisulfat în ambele doze deja după 7 zile s-a constatat o micșorare a nivelului fosfatazei alcaline comparativ cu lotul de control, la care nivelele enzimei au început să se diminueze spre a 15-a zi de experiență (fig. 5.10). Diminuarea precoce a nivelelor fosfatazei alcaline în loturile de animale tratate cu coptizină bisulfat este un alt indice, care adevărește acțiunea hepatoprotectoare a ei și corespunde datelor cercetătorilor și celor descrise în Monografia OMS [43, 146, 171].

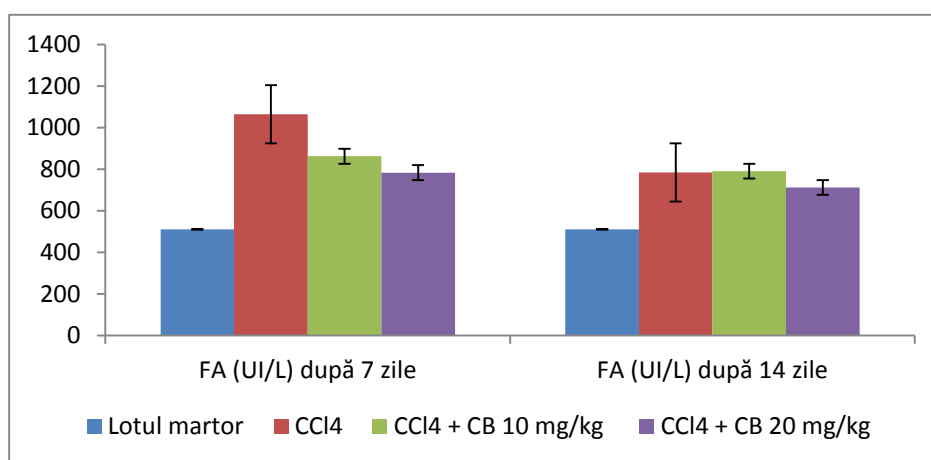


Figura 5.10. Modificarea activității fosfatazei alcaline în hepatita toxică acută la utilizarea coptizinei bisulfat

Și rezultatele cercetării nivelelor serice ale fosfatazei acide la animalele cu hepatită toxică acută, au accentuat prezența proceselor citolitice active pe parcursul experienței. Administrarea coptizinei bisulfat în ambele doze a diminuat nivelul fosfatazei acide cu tendință de echivalare cu nivelul ei în lotul martor. Datele obținute ne fac să concluzionăm despre diminuarea agresivității hepatitei toxice experimentale [43].

Activitatea enzimei GGTP în lotul cu hepatită toxică acută, a fost în permanentă creștere, majorându-se semnificativ după 14 zile de experiență; faptul relatat denotă despre acțiunea distructivă a toxicului asupra membranelor hepatocitelor. Administrarea coptizinei bisulfat în doza de 20 mg/kg a diminuat conținutul GGTP (fig. 5.11.) confirmând, de asemenea, acțiunea hepatoprotectoare a alcaloidului cercetat [46, 61, 95, 146].

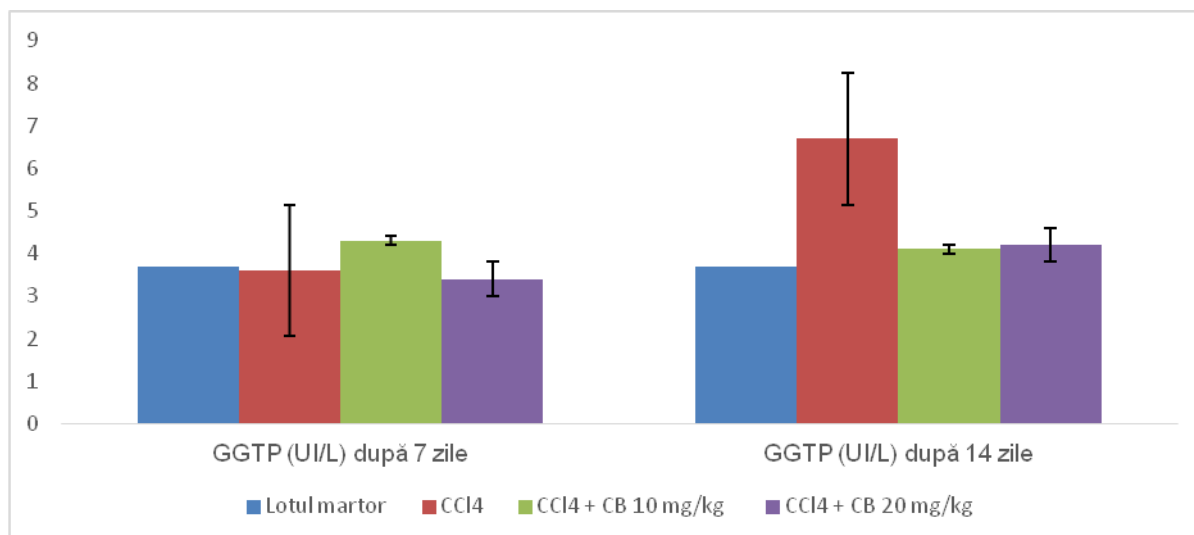


Figura 5.11. Modificarea activității GGTP în HTA la utilizarea coptizinei bisulfat

Prezența sindromului de colestază și afectare toxică a ficatului a fost remarcată prin majorarea nivelului bilirubinei totale și fracțiilor ei la animalele din lotul de control. La administrarea coptizinei bisulfat în dozele de 10 mg/kg și 20 mg/kg timp de 14 zile conținutul bilirubinei totale (BT), bilirubinei directe (BD) și bilirubinei indirecte (BI) au prezentat nivele mai joase comparativ cu lotul de control. Astfel putem afirma că, sub influența coptizinei bisulfat are loc diminuarea manifestărilor sindromului de colestază și restabilirea vădită a funcțiilor hepatice în termeni tardivi (fig. 5.12.).

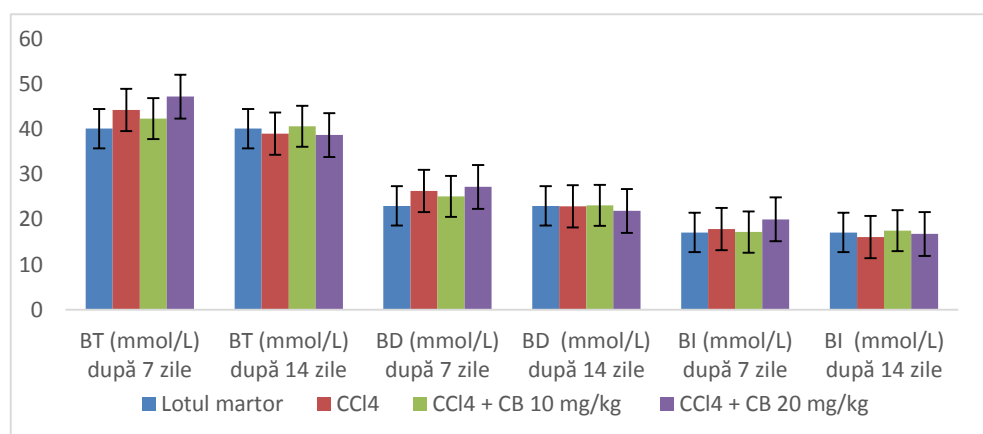


Figura 5.12. Modificarea nivelului bilirubinei totale, directe și indirecte în hepatita toxică acută la utilizarea coptizinei bisulfat

Este cunoscut faptul, că unele funcții fiziologice ale ficatului includ procesele de menținere a metabolismului integru al organismului, din care cauză au fost analizate rezultatele influenței coptizinei bisulfat asupra metabolismului proteic, lipidic și glucidic.

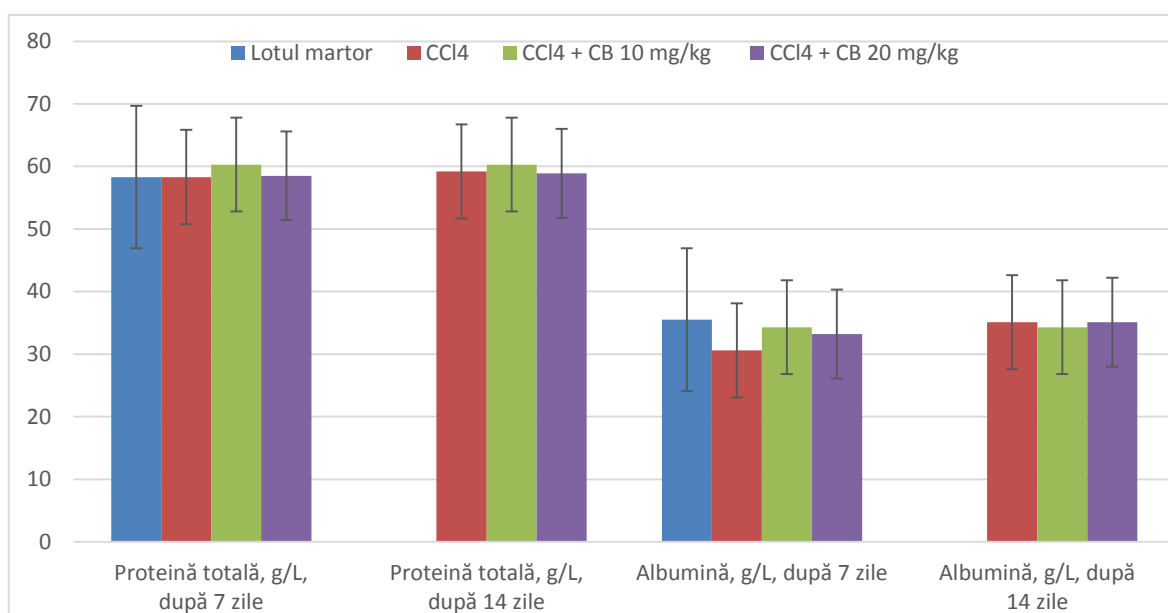


Figura 5.13. Modificarea nivelului proteinelor totale și albuminei în hepatita toxică acută la utilizarea coptizinei bisulfat

Conținutul proteinelor totale la animalele incluse în experiență ne indică valori echivalente în toate loturile cercetate, cu excepția concentrației albuminelor în lotul de control, care a fost la un nivel mai scăzut pe durata întregii experiențe. În loturile tratate cu coptizină bisulfat nivelele scăzute ale albuminelor s-au ameliorat la a 15-a zi de experiență (fig. 5.13.), confirmând acțiunea coptizinei bisulfat de normalizare a metabolismului proteic, ca rezultat al ameliorării funcției de sinteză proteică a ficatului.

Tendința de majorare a nivelului colesterolului total la animalele cu HTA este argumentată de afectarea hepatocitelor și inițierea procesului de impregnare lipidică a lui și de scăderea nivelului de albumine care sunt transportorii lipidelor spre țintele de metabolizare și depozitare a lor. În loturile tratate cu coptizină bisulfat, nivelele colesterolului nu au suferit modificări de importanță practică, fiind echivalente cu rezultatele obținute la animalele din lotul martor (fig. 5.14). Prevenirea majorării colesterolului total de către coptizina bisulfat este justificată de acțiunea hepatoprotectoare a ei și de menținere a metabolismului proteic [8, 22, 57]. O altă ipoteză de acțiune a coptizinei bisulfat asupra metabolismului lipidic este demonstrată în cazul studiului toxicității cronice în care a fost stabilită acțiunea ei hipolipemiantă [56, 76, 105].

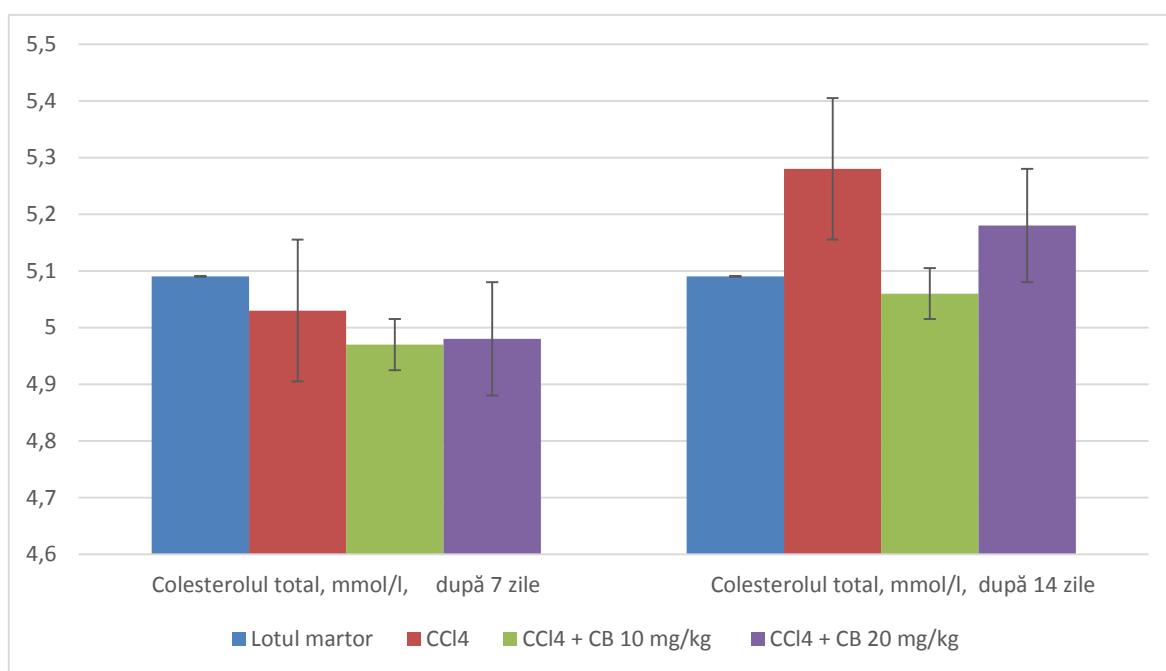


Figura 5.14. Modificarea nivelului colesterolului total în HTA la utilizarea CB

Un factor al distrucției tisulare este reprezentat de nivelul seric al lactatdehidrogenazei. În cazul hepatitelor toxice nivelul ei a crescut vădit, fenomen reprezentat foarte demonstrativ de către rezultatele obținute la animalele cu HTA, unde nivelul enzimei s-a majorat de aproximativ 3-4 ori pe parcursul experienței. Menținerea de către coptizina bisulfat, a valorilor LDH în limitele nivelelor lotului martor, a confirmat acțiunea hepatoprotectoare absolută a ei (fig. 5.15).

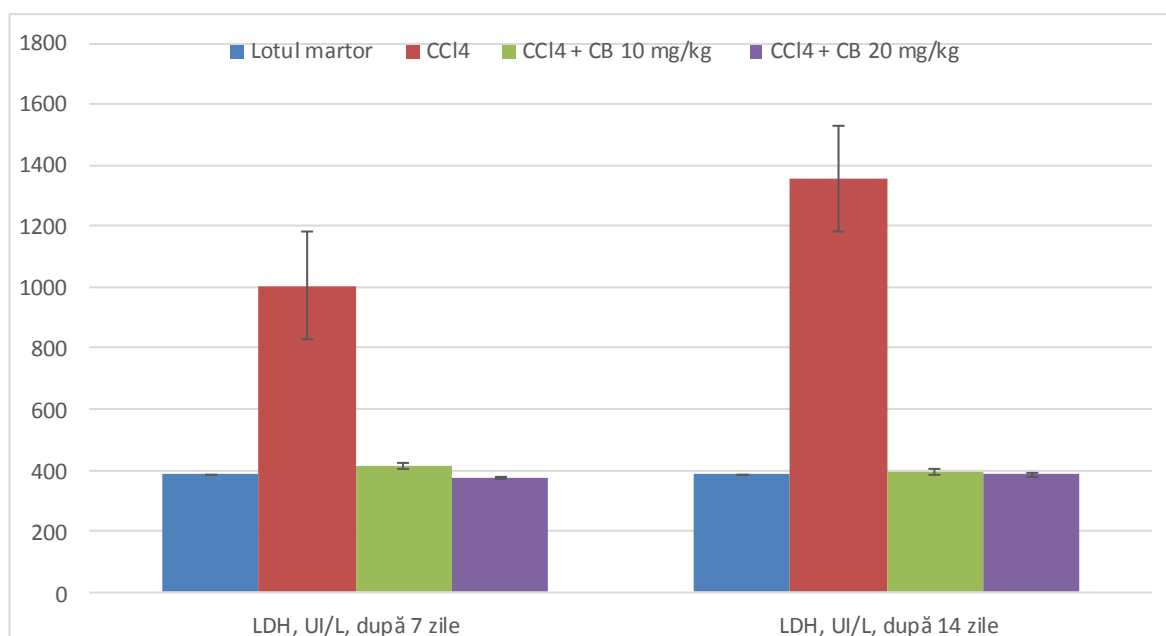


Figura 5.15. Modificarea activității LDH în HTA la utilizarea CB

În consecință majorarea activității LDH a contribuit la micșorarea nivelului glucozei la animalele din lotul cu HTA la a 8-a zi de experiență; restabilirea valorilor glucozei după 14 zile

de experiență probabil, este argumentată de includerea mecanismelor suplimentare de adaptare ale organismului. Coptizina bisulfat nu a modificat esențial, hipoglicemia indusă de hepatotoxic pe parcursul experienței, fapt explicat de acțiunea proprie hipoglicemiantă a alcaloidului, demonstrată și în studiul toxicității cronice.

Reieșind din faptul că ficatul este un furnizor de substanțe implicate în procesul de formare a celulelor sanguine, au fost efectuate studii de determinare a modificărilor posibile la nivelul formulei hematiilor sângelui periferic. Tetraclorura de carbon a determinat o micșorare semnificativă a nivelului eritrocitelor, hemoglobinei, leucocitelor cu o majorare a numărului trombocitelor. Administrarea coptizinei bisulfat în dozele de 10 mg/kg și 20 mg/kg a contribuit la înlăturarea efectelor nedorite ale hepatotoxicului asupra conținutului hematiilor, fapt explicat de acțiunea favorabilă a substanței cercetate asupra funcțiilor ficatului.

Cercetarea proprietăților regenerative și gastroprotectoare ale coptizinei bisulfat a fost selectată în dependență de calea de administrare în cercetări clinice, de afectarea asociată a mucoasei gastrice în maladiile hepatobiliare și pancreatice și pentru a exclude posibila acțiune iritantă a ei asupra tubului digestiv [37].

Rezultatele obținute au relevat că, la șobolanii din lotul martor la finele experienței s-au păstrat leziunile ulceroase de diverse dimensiuni, localizate în toate regiunile stomacului. Utilizarea coptizinei bisulfat în tratamentul ulcerelor experimentale a contribuit la accelerarea dozodependentă a regenerării lor, mai eficace fiind doza de 5 mg/kg [111].

Conform reviuului literaturii, unii cercetători atribuie coptizinei acțiune gastroprotectoare prin mecanismul de reglare favorabilă a stării antioxidante și antiinflamatorii, mediată prin calea de semnalizare Nrf2 și translocarea MAPK p38: reduce semnificativ producerea speciilor de oxigen reactiv intracelular, crește conținutul de glutatation și activitatea superoxid dismutazei, glutatation peroxidazei în HepG2 celule [18, 61, 90].

CONCLUZII GENERALE

1. La administrarea dozei maxime (2600 mg/kg) de coptizină bisulfat nu s-au stabilit modificări esențiale asupra conținutului parametrilor hematologici, biochimici și metabolici, nu a fost influențată activitatea enzimelor hepatice și poate fi apreciată ca substanță cu nivel minim de toxicitate: gradul 6 (Hodge HC. et al., recomandări OMS).
2. Coptizina bisulfat (1 mg/kg) a demonstrat efect hepatoprotector, comparativ cu berberina bisulfat, exprimat prin normalizarea activității transaminazelor până la nivelul lotului martor, micșorarea activității FA (97,6 UI/L) în termeni precoci, iar în termeni tardivi, în doză similară, reducerea sindromului de colestază prin diminuarea activității FA (93,81 UI/L), nivelului bilirubinei totale (3,87 mmol/L) și fracțiilor ei (2,57 mmol/L și 1,3 mmol/L respectiv), restabilirea raportului FA/AlAT (6,64).
3. Corelația între doza de coptizină bisulfat și gradul de manifestare a acțiunii hepatoprotectoare a fost demonstrată în ambele doze (10 și 20 mg/kg) prin restabilirea activității transaminazelor, coeficientului de Ritis și LDH la nivelul lotului martor; diminuarea precoce a activității fosfatazei alcaline, iar în termeni tardivi - a nivelelor bilirubinei totale și fracțiilor ei, reducerea activității GGTP comparativ cu lotul de control și restabilirea raportului FA/AlAT.
4. Coptizina bisulfat a demonstrat o biodisponibilitate mai superioară la administrarea intragastrală, cu acumulare maximă în ficat în doză de 20 mg/kg, cu creșterea proporțională în timp, atingând concentrația maximă peste 3 ore în ficat și bilă și cu eliminarea pe cale intestinală (conținutul fiind de 3410 μg/g).
5. Coptizina bisulfat în doza de 5 mg/kg a contribuit la accelerarea dozodependentă a regenerării ulcerelor în tratamentul ulcerelor modelate experimental.

RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Coptizina bisulfat poate fi recomandată în cercetările clinice ulterioare pentru confirmarea acțiunii hepatoprotectoare la bolnavii cu afecțiuni hepatice asociate cu sindromul de citoliză și colestază moderată.
2. În baza rezultatelor preclinice obținute pot fi cercetate clinic efectele metabolice ale coptizinei bisulfat de tipul hipercolesterolemiei și hipoproteinemiei.
3. Datorită biodisponibilității specifice de creare a unor concentrații suficiente în ficat și bilă, coptizina bisulfat, poate fi recomandată pentru obținerea formelor farmaceutice enterosolubile.
4. Coptizina bisulfat poate fi recomandată în studii clinice ulterioare pentru confirmarea acțiunii gastroprotectoare la pacienții cu ulcere gastro-duodenale și afecțiuni ale tubului digestiv.

BIBLIOGRAFIE

1. ARORA, D., SHARMA, A. A review on phytochemical and pharmacological potential of genus *Chelidonium*. In: *Pharmacogn. J.* 2013 Jul 5, pp. 184–190. ISSN: 0975-3575.
2. BACINSCHI, N. Preparate hepatotrope și medicina bazată pe dovezi. În: *Curierul medical*. 2012, nr.3 (327), pp. 21-25. ISSN: 1875-0666.
3. BAO, TD., L, YJ., YANG, Q. et al. LC/MS determination of berberine and palmatin in rats plasma after oral administration of extracts *Rhizoma Coptidis* and its pharmacokinetics study. In: *Chin J Exp Trad Med Formul.* 2010, nr. 16, pp. 186–189. ISSN: 1005-9903.
4. BING, L., WANG, G., JIE, Y. et al. Berberine inhibits human hepatoma cell invasion without cytotoxicity in healthy hepatocytes. In: *PLoS One*. 2011, nr. 6(6), pp. e21416. ISSN: 1932-6203.
5. BISWAS, SJ. *Chelidonium majus*: a review on pharmacological activities and clinical effects. In: *Global J. Res. Med. Plants Indigen. Med.* 2013, nr.2, pp. 238–245. ISSN: 2277-4289.
6. CAHLÍKOVÁ, L., OPLETAL, L., KURFÜRST, M. et al. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory compounds from *Chelidonium majus* (Papaveraceae). In: *Nat. Prod. Commun.* 2010, nr. 5, pp. 1751–1754. ISSN: 15559475.
7. CAO, Q., HONG, S., LI, Y. et al. Coptisine suppresses tumor growth and progression by down-regulating MFG-E8 in colorectal cancer. In: *RSC Adv.* 2018, nr.8 (54), pp. 30937–30945. ISSN: 2046-2069.
8. CAO, Y., BEI, W., HU, Y. et al. Hypcholesterolemia of *Rhizoma Coptidis* alkaloids is related to the bile acid by up-regulated CYP7A1 in hyperlipidemic rats. In: *Phytomedicine*. 2012, nr. 19(8-9), pp. 686-92. ISSN: 1618-095X.
9. CAO, Y., PAN, Q., CAI, W. et al. Modulation of gut microbiota by berberine improves steatohepatitis in high-fat diet-fed BALB/C mice. In: *Arch Iran Med.* 2016, nr. 19(3), pp.197-203. ISSN: 1735-3947.
10. CAPISTRANO, IR., WOUTERS, A., LARDON, F. et al. *In vitro* and *in vivo* investigations on the antitumour activity of *Chelidonium majus*. In: *Phytomedicine*. 2015, nr. 22:14, pp. 1279–1288. ISSN: 0944-7113.
11. CASIAN, I., CASIAN, A. Izolarea coptizinei din herba de rostopască (*Chelidonium majus* L.). Certificat de înregistrare a obiectelor dreptului de autor și drepturilor conexe Seria OȘ Nr. 3195 din 08.09.2011.
12. CASIAN I., CASIAN A. Izolarea coptizinei din herbă de rostopască (*Chelidonium majus*

- L.). În: *Intellectus*. 2013, nr.1, pp. 92-95. ISSN: 1810-7079.
13. CHAI, FN., MA, WY., ZHANG, J. et al. Coptizine from *Rhizoma Coptidis* exerts an anti-cancer effect on hepatocellular carcinoma by up-regulating miR-122. In: *Biomed Pharmacother.* 2018, nr. 103, pp. 1002-1011. ISSN: 1950-6007.
 14. CHAI, FN., ZHANG, J., XIANG, HM. et al Protective effect of Coptizine from *Rhizoma Coptidis* on LPS/D-GalN-induced acute liver failure in mice through up-regulating expression of miR-122. In: *Biomed Pharmacother.* 2018, nr. 98, pp. 180-190. ISSN: 0753-3322.
 15. CHANG, W., LI, K., GUAN, F. et al. Berberine pretreatment confers cardioprotection against ischemia-reperfusion injury in a rat model of type 2 diabetes. In: *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2016, nr. 21, pp. 486–494. ISSN: 1940-4034.
 16. CHEN, B., XUE, DF., HAN, B. et al. Regulatory effect of coptizine on key genes involved in cholesterol metabolism. In: *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2015, nr. 40(8), pp. 1548-53. ISSN: 1001-5302.
 17. CHEN, G., YANG, X., LI, L. et al. Jia-Wei-Jiao-Tai-Wan ameliorates type 2 diabetes by improving β cell function and reducing insulin resistance in diabetic rats. In: *BMC Complement Altern Med.* 2017, nr. 17(1), pp. 507. ISSN: 1472-6882.
 18. CHEN, HB., LUO, CD., LIANG, JL. et al. Anti-inflammatory activity of coptizine free base in mice through inhibition of NF- κ B and MAPK signaling pathways. In: *Eur J Pharmacol.* 2017, nr. 811, pp. 222-231. ISSN: 1879-0712.
 19. CHEN, HY., YE, XL., HE, K. et al. Cytotoxicity and antihyperglycemic effect of minor constituents from *Rhizoma Coptis* in HepG2 cells. In: *Fitoterapia*. 2012, nr. 83(1), pp. 67-73. ISSN: 1873-6971.
 20. CHEN, K., WANG, YL., CHEN, Y. Evaluation on intestinal absorption of alkaloids extracted by different methods from *Rhizoma Coptidis-Rheum rhabarum* herbal pair via everted gut sacs. In: *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2015, nr. 40(24), pp. 4853-9. ISSN: 1001-5302.
 21. CHEN, N., GUO, CE., CHEN, H. et al. Simultaneous determination of six coptis alkaloids in urine and feces by LC-MS/MS and its application to excretion kinetics and the compatibility mechanism of Jiao-Tai-Wan in insomniac rats. In: *Biomed Chromatogr.* 2018, nr. 25, pp e4248. ISSN: 1099-0801.
 22. CHI, L., PENG, L., PAN, N. et al. The anti-atherogenic effects of berberine on foam cell formation are mediated through the upregulation of sirtuin 1. In: *Int J Mol Med*. 2014, nr. 34(4), pp. 1087–1093. ISSN: 1791-244X.

23. CHOI, JS., ALI, MY., JUNG, HA. et al. Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity of alkaloids from *Rhizoma Coptidis* and their molecular docking studies. In: *J Ethnopharmacol.* 2015, nr. 171, pp. 28-36. ISSN: 1872-7573.
24. CHOI, JS., KIM, JH., ALI, MY. et al. Anti-adipogenic effect of epiberberine is mediated by regulation of the RAF/MEK1/2/ERK1/2 and AMPK α /AKT pathways. In: *Arch Pharm Res.* 2015, nr. 38, pp. 2153–2162. ISSN: 0253-6269.
25. CHOI, JS., KIM, JH., ALI, MY. et al. Coptis chinensis alkaloids exert anti-adipogenic activity on 3T3-L1 adipocytes by downregulating C/EBP- α and PPAR- γ . In: *Fitoterapia.* 2014, nr. 98, pp. 199-208. ISSN: 1873-6971.
26. CHU, M., DING, R., CHU, ZY. et al. Role of berberine in anti-bacterial as a high-affinity LPS antagonist binding to TLR4/MD-2 receptor. In: *BMC Complement Altern Med.* 2014, nr. 14, pp. 89–97. ISSN: 1472-6882.
27. CHUEH, WH., LIN, JY. Berberine, an isoquinoline alkaloid in herbal plants, protects pancreatic islets and serum lipids in nonobese diabetic mice. In: *J Agri Food Chem.* 2011, nr. 59, pp. 8021–8027. ISSN: 1520-5118.
28. CHUEH, WH., LIN, JY. Berberine, an isoquinoline alkaloid, inhibits streptozotocin-induced apoptosis in mouse pancreatic islets through down-regulating Bax/Bcl-2 gene expression ratio. In: *Food Chem.* 2012, nr. 132, pp. 252–260. ISSN: 1873-7072.
29. CIOBANU, N., COJOCARU-TOMA, M., POMPUȘ, I. și al. *Plante din colecția centrului științific de cultivare a plantelor medicinale USMF "Nicolae Testemițanu"*. Chișinău: S.n. (Tipogr. "Print Caro"), 2019, 214 p. ISBN 978-9975-56-660-5.
30. CIRIĆ, A., VINTERHALTER, B., ŠAVIKIN-FODULović, K. et al. Chemical analysis and antimicrobial activity of methanol extracts of celandine (*Chelidonium majus L.*) plants growing in nature and cultured in vitro. In: *Arch. Biol. Sci.* 2008, nr. 60 (1), pp. 7–8. ISSN:1821-4339.
31. COJOCARU-TOMA, Maria. *Produse vegetale și fitopreparate din Republica Moldova: Compendiu pentru lucrări de laborator la Farmacognozie*. Chișinău: CEP Medicina, 2017, 330 p. ISBN 978-9975-82-059-2.
32. COK, A., PLAISIER, C., SALIE, MJ. et al. Berberine acutely activates the glucose transport activity of GLUT1. In: *Biochimie.* 2011, nr. 93, pp. 1187–1192. ISSN: 1638-6183.
33. CUI, HM., ZHANG, QY., WANG, JL. et al. Poor permeability and absorption affect the activity of four alkaloids from Coptis. In: *Mol Med Rep.* 2015, nr. 12(5), pp. 7160-8. ISSN: 1791-3004.

34. CUI, L., LIU, M., CHANG, X. et al. The inhibiting effect of the *Coptis chinensis* polysaccharide on the type II diabetic mice. In: *Biomed Pharmacother.* 2016, nr. 81, pp.111–119. ISSN: 1950-6007.
35. DELJANIN, M., NIKOLIC, M., BASKIC, D. et al. *Chelidonium majus* crude extract inhibits migration and induces cell cycle arrest and apoptosis in tumor cell lines. In: *J. Ethnopharmacol.* 2016, nr. 190, pp. 362–371. ISSN: 0378-8741.
36. DERELANCO, MG., LONG, GT. Effect of corticosteroids on Indometacin-induced intestinal ulceration in the rat. In: *Digestive Diseases and Sciences.* 1980, Vol. 25, No. 11, pp. 830-838. ISSN: 1421-9875.
37. DERELANCO, MICHAEL, J., AULETTA, CAROL, A. *Handbook of Toxicology.* Third Edition. In: *CRC Press*, 3 edition, 2014, 1022 pp. ISBN: 9781439890134.
38. DIUG, O., DIUG, E. *Specia Chelidonium majus L. – sursă de noi forme farmaceutice.* Univ. de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu". Chișinău: "Digital Hardware" SRL, 2010, 162 p. ISBN 978-9975-4022-2-4.
39. DOGARU, M., RAD, I. ș. a. *Farmacologie experimentală.* Târgu Mureș: University press, 2008, 329 p.
40. FAN, H., CHEN, YY., BEI,WJ. et al. *In vitro* Screening for Antihepatic Steatosis Active Components within *Coptidis Rhizoma* Alkaloids Extract Using Liver Cell Extraction with HPLC Analysis and a Free Fatty Acid-Induced Hepatic Steatosis HepG2 Cell Assay. In: *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013, nr. 2013, pp. 459390. ISSN: 1741-4288.
41. FENG, M., ZOU, Z., ZHOU, X. et al. Comparative effect of berberine and its derivative 8-cetylberberine on attenuating atherosclerosis in ApoE-/-mice. In: *Int Immunopharmacol.* 2017, nr. 43, pp. 195–202. ISSN: 1878-1705.
42. FENG, M., KONG, SZ., WANG, ZX. et al. The protective effect of coptisine on experimental atherosclerosis Apoe(-/-) mice is mediated by MAPK/NF-κB-dependent pathway. In: *Biomed Pharmacother.* 2017, nr. 93, pp. 721–729. ISSN: 1950-6007.
43. FENG, Y., CHEUNG, F., NAGAMATSU, T. et al. Hepatoprotective effect and its possible mechanism of *Coptidis rhizoma* aqueous extract on carbon tetrachloride-induced chronic liver hepatotoxicity in rats. In: *J Ethnopharmacol.* 2011, nr. 138(3), pp. 683-90. ISSN: 1872-7573.
44. FRIEDEMANN, T., SCHUMACHER, U., TAO, Y. et al. Neuroprotective activity of coptisine from *Coptis chinensis* (Franch). In: *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015, nr. 2015, pp. 827308–827316. ISSN: 1741-4288.
45. FRIEDEMANN, T., YING, Y., WANG, W. et al. Neuroprotective effect of *Coptis*

- chinensis* in MPP+ and MPTP-Induced Parkinson's Disease Models. In: *Am J Chinese Med.* 2016, nr. 44, pp. 907–925. ISSN: 1793-685.
46. GILCA, M., GAMAN, L., PANAIT, E. et al. *Chelidonium majus* - an integrative review: traditional know-ledge versus modern findings. In: *Forsch Komplementmed.* 2010, nr. 17(5), pp. 241-8. ISSN: 1661-4127.
 47. GONCIAR, Veaceslav. *Optimizarea farmacologică și utilizarea rațională a enterosorbției*: teza de doct.habilitat în științe medicale. Chișinău, 2008, 260 p.
 48. GONG, Z., CHEN, Y., ZHANG, R. et al. Pharmacokinetic comparison of berberine in rat plasma after oral administration of berberine hydrochloride in normal and post inflammation irritable bowel syndrome rats. In: *Int J Mol Sci.* 2014, nr. 15, pp. 456–467. ISSN: 1422-0067.
 49. GUDUMAC, V., TAGADIUC, O., RÎVNEAC, V. ș.a. *Investigații biochimice. Elaborare metodică*. Chișinău, 2010, vol.II, 97 p. ISBN: 978-9975-106-05-4.
 50. GUO, T., SHIHLUNG, W., GUO, X. et al. Berberine ameliorates hepatic steatosis and suppresses liver and adipose tissue inflammation in mice with diet-induced obesity. In: *Sci Rep.* 2016, nr. 6, pp. 22612–22620. ISSN: 2045-2322.
 51. GUO, J., WANG, SB., YUAN, TY. et al. Coptisine protects rat heart against myocardial ischemia/reperfusion injury by suppressing myocardial apoptosis and inflammation. In: *Atherosclerosis.* 2013, nr. 231, pp. 384–391. ISSN: 1879-1484.
 52. GUPTA, S., SINGH, N, JAGGI, AS. Alkaloids as aldose reductase inhibitors, with special reference to berberine. In: *J Altern Complement Med.* 2014, nr. 20(3), pp. 195-205. ISSN: 1557-7708.
 53. HAN, YL., YU, HL., LI, D. et al. *In vitro* inhibition of Huanglian [*Rhizoma Coptidis* (L.)] and its six active alkaloids on six cytochrome P450 isoforms in human liver microsomes. In: *Phytother Res.* 2011, nr. 25(11), pp. 1660-5. ISSN: 1099-1573.
 54. HASANEIN, P., GHAFAARI-VAHED, M., KHODADADI, I. Effects of isoquinoline alkaloid berberine on lipid peroxidation, antioxidant defense system, and liver damage induced by lead acetate in rats. In: *Redox Rep.* 2017, nr. 22(1), pp. 42-50. ISSN: 1743-2928.
 55. HAVELEK, R., SEIFRTOVA, M., KRALOVEC, K. et al. Chelidonine and homochelidonine induce cell death through cell cycle checkpoints and MAP kinase pathways. In: *Nat. Prod. Commun.* 2016, nr. 12, pp. 1419–1430. ISSN: 1555-9475.
 56. HE, K., MA, H., XU, HS. et al. Anti-hyperlipidemic effects of *Rhizoma Coptidis* alkaloids are achieved through modulation of the enterohepatic circulation of bile acid and cross-talk

- between the gut microbiota and the liver. In: *J Funct Foods*. 2017, nr. 35, pp. 205–215. ISSN: 1756-4646.
57. HE, K., YE, X., WU, H. et al. The safety and anti-hypercholesterolemic effect of coptizine in Syrian golden hamsters. In: *Lipids*. 2015, nr. 50 (2), pp. 185-94. ISSN: 1558-9307.
 58. HE, K., KOU, SM, ZOU, ZY et al. Hypolipidemic effects of alkaloids from *Rhizoma Coptidis* in diet-induced hyperlipidemic hamsters. In: *Planta Med*. 2016, nr. 82, pp. 690–697. ISSN: 1439-0221.
 59. HODGE, HC., STERNER, JH. Tabulation of Toxicity Classes. In: *American Industrial Hygiene Association Quarterly*. 1949, Volume 10, Issue 4, pp. 93-96. Published online – 2008. ISSN: 0096-820X.
 60. HORGA, TM (MARIAȘIU). *Cercetări privind hepatotoxicitatea unor xenobiotice și hepatoprotecția indusă de extracte și principii bioactive de origine vegetală*: rezumat. tz. de doctor în științe medicale. Arad, 2016, 39 p.
 61. HU, YR., MA, H., ZOU, ZY. et al. Activation of Akt and JNK/Nrf2/NQO1 pathway contributes to the protective effect of coptizine against AAPH-induced oxidative stress. In: *Biomed Pharmacother*. 2017, nr. 85, pp. 313-322. ISSN: 1950-6007.
 62. HUANG, T., XIAO, Y., YI, L. et al. Coptisine from *Rhizoma Coptidis* suppresses HCT-116 cells-related tumor growth in vitro and in vivo. In: *Sci Rep*. 2017, nr. 7, pp. 38524–38534. ISSN: 2045-2322.
 63. HUANG, Z., HAN, Z., YE, B. et al. Berberine alleviates cardiac ischemia/reperfusion injury by inhibiting excessive autophagy in cardiomyocytes. In: *Eur J Pharmacol*. 2015, nr. 762, pp. 1–10. ISSN: 1879-0712.
 64. JESIONEK, W., FORNAL, E., MAJER-DZIEDZIC, B. et al. Investigation of the composition and antibacterial activity of Ukrain™ drug using liquid chromatography techniques. In: *J. Chromatogr*. 2016 A 1429 (), 340–347. ISSN: 0021-9673.
 65. JIANG, S., WANG, Y., REN, D. et al. Antidiabetic mechanism of coptis chinensis polysaccharide through its antioxidant property involving the JNK pathway. In: *Pharmaceutical Biol*. 2015, nr. 53, pp. 1022–1029. ISSN: 1744-5116.
 66. JIANG, YY., CUI, HM., WANG, JL. et al. Protective role of berberine and *Coptis chinensis* extract on T2MD rats and associated islet Rin-5f cells. In: *Mol Med Rep*. 2017, nr. 16, pp. 6981–6991. ISSN: 1791-3004.
 67. JIN, H., JIN, X., CAO, B. et al. Berberine affects osteosarcoma via downregulating the caspase-1/IL-1 β signaling axis. In: *Oncol Rep*. 2017, nr. 37(2), pp. 729–736. ISSN: 1791-

2431.

68. JUNG, HA., YOON, NY., BAE, HJ. et al. Inhibitory activities of the alkaloids from *Coptidis Rhizoma* against aldose reductase. In: *Arch Pharm Res.* 2008, nr. 31(11), pp. 1405-12. ISSN: 0253-6269.
69. KAI, H., HU, Y., HANG, M. et al. *Rhizoma Coptidis* alkaloids alleviate hyperlipidemia in B6 mice by modulating gut microbiota and bile acid pathways. In: *Biochim Biophys Acta.* 2016, nr. 1862, pp. 1696–1709. ISSN: 1878-2434.
70. KAUFMANN, D., KAUR, DA., TAHRANI, A. et al. Extracts from traditional Chinese medicinal plants inhibit acetylcholinesterase, a known Alzheimer's disease target. In: *Molecules.* 2016, nr. 21, pp. 1161–1176. ISSN 1420-3049.
71. KEDZIA, B., HOŁDERNA-KEDZIA, E. The effect of alkaloids and other groups of plant compounds on bacteria and fungi. In: *Post. Fitoter.* 2013, nr. 1, pp. 8–16. ISSN: 1731-2477.
72. KEDZIA, B., ŁOZYKOWSKA, K., GRYSZCZYŃSKA, A. Chemical composition and contents of biological active substances in *Chelidonium majus* L. In: *Post. Fitoter.* 2013, nr. 3, pp. 174–181. ISSN: 1731-2477.
73. KIM, EK., KWON, KB., HAN, MJ. et al. *Coptidis rhizoma* extract protects against cytokine-induced death of pancreatic beta-cells through suppression of NF-kappaB activation. In: *Exp Mol Med.* 2007, nr. 39(2), pp. 149-59. ISSN: 2092-6413.
74. KIM, SH., HONG, JH., LEE, YC. Chelidonine, a principal isoquinoline alkaloid of *Chelidonium majus*, attenuates eosinophilic airway inflammation by suppressing IL-4 and eotaxin-2 expression in asthmatic mice. In: *Pharmacol. Rep.* 2015, nr. 67, pp. 1168–1177. ISSN: 1734-1140.
75. KORIEM, KM., ARBID, MS., ASAAD, GF. *Chelidonium majus* leaves methanol extract and its chelidonine alkaloid ingredient reduce cadmium-induced nephrotoxicity in rats. In: *J. Nat. Med.* 2013, nr. 67, pp. 159–167. ISSN: 1861-0293.
76. KOU, S., HAN, B., WANG, Y. et al. Synergetic cholesterol-lowering effects of main alkaloids from *Rhizoma Coptidis* in HepG2 cells and hypercholesterolemia hamsters. In: *Life Sci.* 2016, nr. 151, pp. 50-60. ISSN: 1879-0631.
77. KROCOVA, E., HAVELEK, R., TEJKALOVA, V., et al. Comparative cytotoxicity of chelidonine and homochelidonine, the dimethoxy analogues isolated from *Chelidonium majus* L. (Papaveraceae), against human leukemic and lung carcinoma cells. In: *Phytomedicine.* 2016, nr. 23, pp. 253–266. ISSN: 0944-7113.
78. KWON, KB., KIM, EK., LIM, JG. et al. Protective effect of *Coptidis Rhizoma* on S-

- nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP)-induced apoptosis and necrosis in pancreatic RINm5F cells. In: *Life Sci.* 2005, nr. 76(8), pp. 917-29. ISSN: 1879-0631.
79. KWON, OJ., KIM, MY., SHIN, SH. et al. Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of *Rhei Rhizoma* and *Coptidis Rhizoma* Mixture on Reflux Esophagitis in Rats. In: *Evid Based Complement Alternat Med.* 2016, nr. 2016, pp. 2052180. ISSN: 1741-4288.
 80. LA, X., ZHANG, L., LI, Z. et al. Berberine-induced autophagic cell death by elevating GRP78 levels in cancer cells. In: *Oncotarget.* 2017, nr. 8, pp. 20909–20924. ISSN: 1949-2553.
 81. LEE, YC., KIM, SH., ROH, SS. et al. Suppressive effects of *Chelidonium majus* methanol extract in knee joint, regional lymph nodes, and spleen on collagen-induced arthritis in mice. In: *J. Ethnopharmacol.* 2007, nr. 112, pp. 40–48. ISSN: 0378-8741.
 82. LEE, YH., KIM, D., LEE, MJ. et al. Subchronic toxicity study of *Coptidis Rhizoma* in rats. In: *J Ethnopharmacol.* 2014, nr. 152, pp. 457–463. ISSN: 1872-7573.
 83. LI, J., MENG, X., FAN, X. et al. Pharmacodynamic material basis of *Rhizoma Coptidis* on insulin resistance. In: *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 2010, nr. 35(14), pp. 1855-8. ISSN: 1001-5302.
 84. LI, JC., SHEN, XF., MENG, XL. A traditional Chinese medicine JiuHuangLian (*Rhizoma Coptidis* steamed with rice wine) reduces oxidative stress injury in type 2 diabetic rats. In: *Food Chem Toxicol.* 2013, nr. 59, pp. 222-9. ISSN: 1873-6351.
 85. LI, Y., ZHOU, Y., SI, N. et al. Comparative Metabolism Study of Five Protoberberine Alkaloids in Liver Microsomes from Rat, Rhesus Monkey, and Human. In: *Planta Med.* 2017, nr. 83(16), pp. 1281-1288. ISSN: 0032-0943.
 86. LIU, G., HE, W., CAI, H. et al. The simultaneous determination of berberine, palmatine, coptisine, epiberberine and jatrorrhizine in rat plasma by LC-MS/MS and a pharmacokinetic comparison after the oral administration of *Rhizoma Coptidis* and Jiao-Tai-Wan extract. In: *Anal Methods.* 2014, nr. 6, pp. 2998. ISSN: 1759-9679.
 87. LIU, S., ZHANG, X., QIU F. et al. Metabolic Interaction of the Active Constituents of *Coptis chinensis* in Human Liver Microsomes. In: *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015, nr. 2015, pp. 802903. ISSN: 1741-4288.
 88. LIU, XT., CHEN, X., JIN, R. Protective effects of *Rhizoma Coptidis* on acute myocardial ischemia injured cardiomyocytes in vivo and in vitro. In: *Chin J Infor Trad Chin Med.* 2010, pp. 28–30. ISSN: 1005-5304.
 89. LIU, Y., HAO, H., XIE, H. et al. Extensive intestinal first-pass elimination and predominant hepatic distribution of berberine explain its low plasma levels in rats. In:

Drug Metab Disp Bio Fate Chem. 2010, nr. 38, pp. 1779–1784. ISSN: 1521-009X.

90. LUO, C., CHEN, H., WANG, Y. et al. Protective effect of coptisine free base on indometacin-induced gastric ulcers in rats: characterization of potential molecular mechanisms. In: *Life Science*. 2018, nr. 193, pp. 47-56. ISSN: 0024-3205.
91. MA, BL., MA, YM., SHI, R. et al. Identification of the toxic constituents in *Rhizoma Coptidis*. In: *J Ethnopharmacol.* 2010, nr. 128(2), pp. 357-64. ISSN: 1872-7573.
92. MA, BL., YIN, C., ZHANG, BK. et al. Naturally occurring proteinaceous nanoparticles in *Coptidis Rhizoma* extract act as concentration-dependent carriers that facilitate berberine absorption. In: *Sci Rep.* 2016, nr. 6, pp. 20110. ISSN: 2045-2322.
93. MA, YM., MA, BL. Pharmacokinetic properties, potential herb-drug interactions and acute toxicity of oral *Rhizoma Coptidis* alkaloids. In: *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2013, nr. 9(1), pp. 51-61. ISSN: 1744-7607.
94. MA, H., HU, YR., ZOU, ZY. et al. Antihyperglycemia and antihyperlipidemia effect of protoberberine alkaloids from *Rhizoma Coptidis* in HepG2 cell and diabetic kk-ay mice. In: *Drug Develop Res.* 2016, nr. 77 (4), pp. 163–170. ISSN: 1098-2299.
95. MAJI, AK., PRATIM, B. *Chelidonium majus* L. (Greater celandine) – A Review on its Phytochemical and therapeutic Proprieties. In: *International journal of Herbal medicine.* 2015, nr. 3(1), pp. 10-27. ISSN: 2321-2187.
96. MAZZANTI, G., MARIANI, P., FRANCHITTO, A. et al. *Chelidonium majus* is not hepatotoxic in Wistar rats, in a 4 weeks feeding experiment. In: *J. Ethnopharmacol.* 2009, nr. 126, pp. 518–524. ISSN: 0378-8741.
97. MENG, F., ZUO, G., HAO, X. et al. Antifungal activity of the benzo [c] phenanthridine alkaloids from *Chelidonium majus* Linn against resistant clinical yeast isolates. In: *J. Ethnopharmacol.* 2009, nr. 125, pp. 494–496. ISSN: 0378-8741.
98. MENG, FC., WU, ZF., YIN, ZQ. et al. *Coptidis Rhizoma* and its main bioactive components: recent advances in chemical investigation, quality evaluation and pharmacological activity. In: *Chin Med.* 2018, nr. 13, pp. 13. ISSN: 1749-8546.
99. MIKOŁAJCZAK, PL., KĘDZIA, B., OŻAROWSKI, M. et al. Evaluation of anti-inflammatory and analgesic activities of extracts from herb of *Chelidonium majus* L. In: *Cent Eur J Immunol.* 2015, nr. 40(4), pp. 400–410. ISSN: 1644-4124.
100. MITRA, S., SUR, RK, ROY, A. et al. Effect of *Chelidonium majus* L. on Experimental Hepatic Tissue Injury. In: *Phytotherapy research*, 1996, vol. 10, pp. 354-356. ISSN:1099-1573.
101. MOHAMMADZADEH, N., MEHRI, S., HOSSEINZADEH, H. *Berberis vulgaris* and its

- constituent berberine as antidotes and protective agents against natural or chemical toxicities. In: *Iran J Basic Med Sci*. 2017, nr. 20(5), pp. 538–551. ISSN: 2008-3874.
102. MÓRICZ, ÁM., FORMAL, E., CHOMA, IM. et al. Effect-directed isolation and identification of antibacterial *Chelidonium majus* L. In: *Alkaloids. Chromatographia*. 2015, nr. 78, pp. 707–716. ISSN: 1612-1112.
 103. NADOVA, S., MIADOKOVA, E., ALFOLDIOVA, L. et al. Potential antioxidant activity, cytotoxic and apoptosis-inducing effects of *Chelidonium majus* L. extract on leukemia cells. In: *Neuroendocrinol. Lett*. 2008, nr. 29, pp. 649–652. ISSN: 2354-4716.
 104. NOUREINI, SK., WINK, M. Transcriptional down regulation of hTERT and senescence induction in HepG2 cells by chelidonine. In: *World J. Gastroenterol*. 2009, nr. 15, pp. 3603–3610. ISSN: 2219-2840.
 105. PANG, B., YU, XT., ZHOUE T Q. al. Effect of *Rhizoma Coptidis* (Huang Lian) on Treating Diabetes Mellitus. In: *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015, nr. 2015, pp. 921416. ISSN: 1741-4288.
 106. PANTANO, F., MANNOCCHI, G., MARINELLI, E. et al. Hepatotoxicity induced by greater celandine (*Chelidonium majus* L.): a review of the literature. In: *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci*. 2017, nr. 21, pp. 46–52. ISSN: 2284-0729.
 107. PAȘCA, D. I. Alcaloid din *Chelidonium majus*, utilizat în tratamentul cancerului. În: *Științe exacte și științe ale naturii*. 2013, Vol. 5, pp. 155-158. ISSN: 2066-3250.
 108. PAUL, A., DAS, S., SAMADDER, A., et al. Poly (lactide-coglycolide) nano-encapsulation of chelidonine, an active bioingredient of greater celandine (*Chelidonium majus*), enhances its ameliorative potential against cadmium induced oxidative stress and hepatic injury in mice. In: *Envir. Toxicol. Phar*. 2013, nr. 36, pp. 937–947. ISSN: 1382-6689.
 109. PAULSEN, J., YAHYAZADEH, M., HÄNSEL, S. et al. D. 13,14-Dihydrocoptisine - The genuine alkaloid from *Chelidonium majus*. In: *Phytochemistry*. 2015, nr. 111, pp. 149–153. ISSN: 1873-3700.
 110. **PEREDELUCU, Rodica.** Influența comparativă a coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat asupra evoluției hepatitei toxice acute. În: *Moldovan Journal of Health Sciences. Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*. 2019, vol. 19, nr.2, pp. 14-25. ISSN 2345-1467.
 111. **PEREDELUCU, R.,** GONCIAR, V., SCUTARI, C. Gastroprotective action of coptizine bisulfate on experimental gastric ulcer. В: *Новітні тенденції в діагностиці та лікуванні внутрішніх хвороб*. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 100-річчю від дня народження академіка Л. Т. Малої, 15 – 16 жовтня 2019 р. / за ред. О. М. Біловола та ін., – Харків., 2019. – с. 162-163.

112. **PEREDEL**CU, R., GONCIAR, V., SCUTARI, C., CAZACU, V. Proprietățile farmacologice ale alcaloizilor din rostopască. În: *Sănătate publică, Economie și Management în Medicină*. 2018, nr. 4 (78), pp. 100-105. ISSN 1729-8687.
113. **PEREDEL**CU, R., GONCIAR, V., SCUTARI, C., CAZACU, V. The influence of coptisine bisulfate on the evolution of acute toxic hepatitis. In: *World Science*. 2018, No 8(36) Vol.2, pp. 42-46. ISSN: 2413-1032. doi.org/10.31435/rsglobal_ws/30082018/6065.
114. **PEREDEL**CU, Rodica, GONCIAR, Veaceslav, SCUTARI, Corina. Influența coptizinei asupra parametrilor hepatici. În: *Sănătate publică, Economie și Management în Medicină*. 2018, nr. 1-2 (75-76), pp. 76-79. ISSN: 1729-8687.
115. **PEREDEL**CU, R. A. Studii de biodisponibilitate a coptizinei bisulfat. În: *Farmacia etică: istorie, realități și perspective*. 2018, pp. 204-209. ISBN 978-9975-3159-5-1.
116. **PEREDEL**CU, R., GONCIAR, V., CASIAN, I., CASIAN, A., SCUTARI, C. Biodisponibilitatea coptizinei bisulfat în cadrul cercetărilor preclinice. În: *Zilele Medicamentului "Medicamentul de la idee la clinică". Ediția a XXVI-a*. 29-31 martie, Iași, 2018, pp. 140-142. ISSN-L 1843-1038.
117. **PEREDEL**CU, R.A. Acute toxicity of coptisine. In: *IX Ukrainian International Scientific Conference: Current Aspects of Clinical Pharmacology According to Evidence-based Medicine Achievements*. 16-17 November, 2017.- Vinnytsia, Hilan-LTD: BHMU, 2017, c. 83-90. ISBN 978-966-924-657-8.
118. **PEREDEL**CU, R.A., GONCIAR, V.I., SCUTARI, C.D. Acute toxicity research of coptisine. In: *New achievements of world science. Proceedings of VII International scientific conference "New achievements of world science"*. Jun 22, 2017, Morrisville, Lulu Press., 2017, p. 90. ISBN 978-1-387-08722-8.
119. **PEREDEL**CU, Rodica. Studiul toxicității acute și cronice a bisulfatului de coptizină pe șobolani albi. În: *Simpozionul Internațional "DISPONIBILITĂȚI CREATIVE ÎN LUME"*. Ediția a VI-a din 15 februarie 2015, Ed. PIM, Iași, România, p. 281-284. ISSN: 2284-6700.
120. **PEREDEL**CU, R., GONCIAR, V., SCUTARI, C., CAZACU, V. și al. Unele particularități farmacologice ale coptizinei. În: *Analele științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Zilele universității. 19-21 octombrie 2011. Ediția a XII-a*. 2011, vol.1, pp. 351-355. ISSN 1857-1719.
121. POORMAZAHERI, H., BAGHBAN, K., KHOSRAVI, DN. et al. High-content analysis of chelidonine and berberine from Iranian *Chelidonium majus* L. ecotypes in different ontogenetical stages using various methods of extraction. In: *J. Agric. Sci. Technol*. 2017,

vol. 19, pp.1381–1391. ISSN: 2345-3737.

122. QIAN, XC., ZHANG, L., TAO, Y. et al. Simultaneous determination of ten alkaloids of crude and wine-processed *Rhizoma Coptidis* aqueous extracts in rat plasma by UHPLC-ESI-MS/MS and its application to a comparative pharmacokinetic study. In: *J Pharm Biomed Anal.* 2015, nr. 105, pp. 64-73. ISSN: 1873-264X.
123. QIN-WEI, Z., YONG-GUANG, LI. Berberine attenuates myocardial ischemia reperfusion injury by suppressing the activation of PI3K/AKT signaling. In: *Exp Ther Med.* 2016, nr.11, pp. 978–984. ISSN: 1792-1015.
124. QU, Q., QU, J., HAN, L. et al. Inhibitory effects of phytochemicals on metabolic capabilities of CYP2D6(*)1 and CYP2D6(*)10 using cell-based models *in vitro*. In: *Acta Pharmacol Sin.* 2014, nr. 35(5), pp. 685-96. ISSN: 1745-7254.
125. RAN, Q., WANG, J., WANG, L. et al. *Rhizoma Coptidis* as a Potential Treatment Agent for Type 2 Diabetes Mellitus and the Underlying Mechanisms: A Review. In: *Front Pharmacol.* 2019, nr. 10, pp. 805. ISSN: 1663-9812.
126. RAO, PC., BEGUM, S., SAHAI, M. et al. Coptizine-induced cell cycle arrest at G2/M phase and reactive oxygen species-dependent mitochondria-mediated apoptosis in non-small-cell lung cancer A549 cells. In: *Tumour Biol.* 2017, nr. 39(3), pp. 1010428317694565. ISSN: 1423-0380.
127. SEIDLER-ŁOZYKOWSKA, K., KEDZIA, B., BOCIANOWSKI, J., et al. Content of alkaloids and flavonoids in celandine (*Chelidonium majus* L.) herb at the selected developmental phases. In: *Acta Sci. Pol. Hortorum. Cultus.* 2016, nr. 15, pp. 161–172. ISSN 1644-0692.
128. SIMIONOVICI, M., CÎRSTEALĂ, VLĂDESCU, C. *Cercetarea farmacologică și prospectarea medicamentelor*. București, Ed. Medicală, 1983, pp. 329-385.
129. STICKEL, F., PÖSCHL, G., SEITZ, HK. et al. Acute Hepatitis Induced by Greater Celandine (*Chelidonium majus*). In: *Scandinavian Journal of Gastroenterology.* 2003, Vol. 38, Issue 5, pp. 565-568. Published online: 08 Jul 2009. ISSN: 1502-7708.
130. SU, J., MIAO, Q., MIAO, P. et al. Pharmacokinetics and Brain Distribution and Metabolite Identification of Coptizine, a Protoberberine Alkaloid with Therapeutic Potential for CNS Disorders, in Rats. In: *Biol Pharm Bull.* 2015, nr. 38(10), pp. 1518-28. ISSN: 1347-5215.
131. TAN, HL., CHAN, KG., PUSPARAJAH, P. et al. *Rhizoma Coptidis*: A Potential Cardiovascular Protective Agent. In: *Front Pharmacol.* 2016, nr. 7, p. 362. ISSN: 1663-9812.

132. TESCHKE, R., GLASS, X., SCHULZE, J. et al. Suspected Greater Celandine hepatotoxicity: liver-specific causality evaluation of published case reports from Europe. In: *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2012, nr. 24(3), pp. 270-80. ISSN: 1473-5687.
133. TESCHKE, R., GLASS, X., SCHULZE, J. Herbal hepatotoxicity by Greater Celandine (*Chelidonium majus*): causality assessment of 22 spontaneous reports. In: *Regul Toxicol Pharmacol.* 2011, nr. 61(3), pp. 282-91. ISSN: 1096-0295.
134. WANG, H., MU, W., SHANG, H. et al. The Antihyperglycemic Effects of *Rhizoma Coptidis* and Mechanism of Actions: A Review of Systematic Reviews and Pharmacological Research. In: *Biomed Res Int.* 2014, nr. 2014, p. 798093. ISSN: 2314-6141.
135. WANG, J., YUAN, Z., KONG, H. et al. Exploring the mechanism of *Rhizoma Coptidis* in treating type II diabetes mellitus based on metabolomics by gas chromatography-mass spectrometry. In: *Se Pu.* 2012, nr. 30(1), pp. 8-13. ISSN: 1000-8713.
136. WANG, J., WANG, L., LOU, GH. et al. *Coptidis Rhizoma*: a comprehensive review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology. In: *Pharm Biol.* 2019, nr. 57(1), pp. 193-225. ISSN: 1744-5116.
137. WANG, L., YE, X., LI, X. et al. [Metabolism, transformation and distribution of *Coptis chinensis* total alkaloids in rat]. In: *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 2010, nr. 35(15), pp. 2017-20. ISSN: 1001-5302.
138. WANG, Y., LIU, J., MA, A., CHEN, Y. Cardioprotective effect of berberine against myocardial ischemia/reperfusion injury via attenuating mitochondrial dysfunction and apoptosis. In: *International J Clin Exp Med.* 2015, nr. 8, pp. 14513–14519. ISSN: 1940-5901.
139. WANG, Y., WANG, Q., ZHANG, L. et al. Coptisine protects cardiomyocyte against hypoxia/reoxygenation-induced damage via inhibition of autophagy. In: *Biochem Biophys Res Commun.* 2017, nr. 490, pp. 231–238. ISSN: 1090-2104.
140. WEI, Q., ZHAO, M., LI, X. Extraction of chelerythrine and its effects on pathogenic fungus spore germination. In: *Pharmacogn. Mag.* 2017, nr. 13, p. 600. ISSN: 0976-4062.
141. WU, H., WANG, YZ., WANG, DZ. et al. [Effects of alkaloids from *coptidis rhizoma* on blood lipid metabolism and low-density lipoprotein receptor mRNA in golden hamsters]. In: *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 2014, nr. 39(11), pp. 2102-5. ISSN: 1001-5302.
142. WU, J., ZHANG, H., HU, B. et al. Coptizine from *Coptis chinensis* inhibits production of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 murine macrophage cells. In: *Eur J Pharmacol.* 2016, nr. 5, pp. 780:106-14. ISSN: 1879-0712.

143. XIAO, X., CHEN, Z., WU, Z. Insights into the antineoplastic mechanism of *Chelidonium majus* via systems pharmacology approach. In: *Quantitative Biology*. 2019, nr. 7(1), pp.42–53. ISSN: 2095-4697.
144. YAN, Y., ZHANG, H., ZHANG, Z. Pharmacokinetics and tissue distribution of coptizine in rats after oral administration by liquid chromatography-mass spectrometry. In: *Biomed Chromatogr*. 2017, nr. 31(7). ISSN: 1099-0801.
145. YAO, W., WANG, X., XIAO, K. Protective effect of berberine against cardiac ischemia/reperfusion injury by inhibiting apoptosis through the activation of Smad7. In: *Mole Cell Prob*. 2018, nr. 38, pp. 38-44. ISSN: 1096-1194.
146. YE, X., FENG, Y., TONG, Y. et al. Hepatoprotective effects of *Coptidis rhizoma* aqueous extract on carbon tetrachloride-induced acute liver hepatotoxicity in rats. In: *J Ethnopharmacol*. 2009, nr. 124(1), pp. 130-6. ISSN: 1872-7573.
147. YI, J., YE, X., WANG, D. et al. Safety evaluation of main alkaloids from *Rhizoma Coptidis*. In: *J Ethnopharmacol*. 2013, nr. 145(1), pp. 303-10. ISSN: 1872-7573.
148. YOKOZAWA, T., ISHIDA, A., KASHIWADA, Y. et al. *Coptidis Rhizoma*: protective effects against peroxynitrite-induced oxidative damage and elucidation of its active components. In: *J Pharm Pharmacol*. 2004, nr. 56(4), pp. 547-56. ISSN: 1873-264X.
149. YONG, Y., BAOSHUN, Z., CHUNYA, C. Cardiovascular pharmacological activity of berberine. In: *Chin Trad Pat Med*. 2011, nr. 33, pp. 867–869. ISSN: 1749-8546.
150. YU, CP., HUANG, CY., LIN, SP. et al. Activation of P-glycoprotein and CYP 3A by *Coptidis Rhizoma* in vivo: Using cyclosporine as a probe substrate in rats. In: *J Food Drug Anal*. 2018, nr. 26(2S), pp. S125-S132. ISSN: 1021-9498.
151. YU, L., LI, F., ZHAO, G. et al. Protective effect of berberine against myocardial ischemia reperfusion injury: Role of notch1/hes1-pten/AKT signaling. In: *Apoptosis*. 2015, nr. 20, pp. 796–810. ISSN: 1573-675X.
152. YUE, SJ., LIU, J., FENG, WW. et al. System Pharmacology-Based Dissection of the Synergistic Mechanism of *Huangqi* and *Huanglian* for Diabetes Mellitus. In: *Front Pharmacol*. 2017, nr. 5, pp. 8:694. ISSN: 1663-9812.
153. ZHANG, X., QIU, F., JIANG, J. et al. Intestinal absorption mechanisms of berberine, palmatine, jatrorrhizine, and coptizine: involvement of P-glycoprotein. In: *Xenobiotica*. 2011, nr. 41(4), pp. 290-6. ISSN: 1366-5928.
154. ZHANG, ZH., DENG, AJ., YU, JQ. et al. [Advance in studies on pharmacological activity of coptizine hydrochloride]. In: *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2013, nr. 38(17), pp. 2750-4. ISSN: 1001-5302.

155. ZHANG, ZH., MI, C., WANG, KS. et al. Chelidonine inhibits TNF- α -induced inflammation by suppressing the NF- κ B pathways in HCT116 cells. In: *Phytother. Res.* 2018, nr. 32, pp. 65–75. ISSN: 1099-1573.
156. ZHOU, H., JIANG, T., WANG, Z. et al. Screening for potential α -Glucosidase inhibitors in *Coptis chinensis franch* extract using ultrafiltration LC-ESI-MSn. In: *Pak J Pharm Sci.* 2014, nr. 27(6 Suppl), pp. 2007-12. ISSN: 1011-601X.
157. ZHOU, L., YANG, F., LI, G. et al. Coptisine induces apoptosis in human hepatoma cells through activating 67-kDa Laminin receptor/cGMP signaling. In: *Front Pharmacol.* 2018, nr. 9, pp. 517–533. ISSN: 1663-9812.
158. ZHOU, X., PENG, YZ., HUANG, T. [Effects of alkaloids from *Coptidis Rhizoma* on mouse peritoneal macrophages in vitro]. In: *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 2015, nr.40(23), pp. 4660-6. ISSN: 1001-5302.
159. ZIELIŃSKA, S., JEZIEŃSKA-DOMARADZKA, A., WÓJCIAK-KOSIOR, M. et al. Greater Celandine's Ups and Downs-21 Centuries of Medicinal Uses of *Chelidonium majus* From the Viewpoint of Today's Pharmacology. In: *Front Pharmacol.* 2018, nr. 9, p.299. ISSN: 1663-9812.
160. ZOU, C., LV, C., WANG, Y. et al. Larvicidal activity and insecticidal mechanism of *Chelidonium majus* on *Lymantria dispar*. In: *Pestic Biochem Physiol.* 2017, nr. 142, pp.123-132. ISSN: 1095-9939.
161. ZOU, ZY., HU, YR., MA, H. et al. Coptizine attenuates obesity-related inflammation through LPS/TLR-4-mediated signaling pathway in Syrian golden hamsters. In: *Fitoterapia.* 2015, nr. 105, pp. 139-46. ISSN: 1873-6971.
162. ZUO, GY., MENG, FY., HAO, XY. Antibacterial alkaloids from *Chelidonium majus* Linn (*Papaveraceae*) against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* 2008, nr. 11, pp. 90–94. ISSN: 1482-1826.
163. БЕСПАЛОВА, Н.В., ПАСТУШЕНКОВ А.Л. *Фармакогнозия с основами фитотерапии.* Ростов-на-Дону. Изд-во «Феникс», 2016, 384 с. ISBN 978-5-222-26388-4.
164. ДЕМЕНТЬЕВА, И.И., ЧАРНАЯ, М.А., МОРОЗОВ, Ю.А. *Патология системы гемостаза.* Москва, ГЭОТАР-Медиа, 2013, 288 с. ISBN: 978-5-9704-2477-3.
165. ЗУЗУК Б.М., КУЦИК Р.В., ФЕДЯК И.О. Чистотел большой *Chelidonium majus* L. Аналитический обзор. В: *Provizor.* 2006, №10, с. 30-32. provisor.com.ua/archive/2006/N9/art_15.php.
166. КАРПИЩЕНКО, А.И. *Медицинская лабораторная диагностика: программы и*

- алгоритмы: руководство для врачей.* Москва, ГЭОТАР-Медиа, 2014, 696 с. ISBN: 978-5-9704-2958-7.
167. КИШКУН, А.А. *Клиническая лабораторная диагностика: учебное пособие.* Москва, ГЭОТАР-Медиа, 2010, 976 с. ISBN: 978-5-9704-1550-4.
168. КУКЕС, В.Г. *Клиническая фармакокинетика: теоретические, прикладные и аналитические аспекты: руководство.* Москва, ГЭОТАР-Медиа, 2009, 432 с. ISBN: 978-5-9704-0972-5.
169. ЛАНГ, Т.А., СЕСИК, М. *Как описывать статистику в медицине. Руководство для авторов, редакторов и рецензентов.* Москва, Практическая Медицина, 2011, 480 с. - ISBN: 978-5-98811-173-3, 978-1-930513-69-3.
170. МИРОНОВ, А.Н., БУНАТЯН, Н.Д. и др. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая.* Москва, Гриф и К, 2013, 944 с.
171. *Монографии ВОЗ о лекарственных растениях, широко используемых в Новых независимых государствах (ННГ).* Всемирная Организация Здравоохранения, 2010, с.75-92. ISBN: 978- 92-4-459-772-9.
172. ПРОЗОРОВСКИЙ В.Б. *Статистическая обработка результатов фармакологических исследований.* В: *Психофармакол. Биол. Наркол.* 2007, т. 7, № 3-4, с. 2090-2120.
173. ПРОНЧЕНКО, Г.Е. *Путешествие в мир фармакогнозии.* Москва, ГЭОТАР-Медиа, 2010, 176 с. ISBN 978-5-9704-1724-9.
174. ПРОНЧЕНКО, Г.Е., ВАНДЫШЕВ, В.В. *Растения - источники лекарств и БАД: учеб. пособие.* Москва, ГЭОТАР-Медиа, 2016, 224 с. ISBN: 978-5-9704-3938-8.
175. ХАБРИЕВ, Р.У., ВЕРСТАКОВА, О.Л., АРЗАМАСЦЕВ, Е.В. и др. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ.* Второе изд., перераб. и дополн. Москва, ОАО Изд-во «Медицина», 2005, 832 с. ISBN: 5-225-04219-8.

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA

UNIVERSITATEA
DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU”
DIN REPUBLICA MOLDOVA



MINISTRY OF HEALTH OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA

STATE MEDICAL
AND PHARMACEUTICAL UNIVERSITY
„NICOLAE TESTEMIȚANU”
OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA

MO 2004, Chișinău, bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165; tel. (+37322) 24-34-08; fax: 24-23-44; e-mail: rector@usmf.md; www.usmf.md

***Aviz favorabil al
Comitetului de Etică a Cercetării***

La Proiectul tezei de doctorat cu titlul „**Proprietățile farmacologice și toxicologice ale Coptizinei**”, realizat de către doctorandul : Peredlcu Rodica, Conducătorul Științific : Veaceslav Gonciar, d.h.m., prof. univ.

Comitetul de Etică a Cercetării USMF „Nicolae Testemițanu”, examinând la ședința din 26 martie 2012 următoarele documente:

1. Forma de solicitare pentru evaluarea etică a cercetării.
2. Protocolul proiectului.
3. Adnotarea la tema tezei de doctor în medicină.
4. CV-urile conducătorului științific și doctorandului.

A decis că proiectul de cercetare „**Proprietățile farmacologice și toxicologice ale Coptizinei**”, realizat de către doctorandul Peredlcu Rodica corespunde exigențelor etice.

Lista nominală a membrilor CEC prezenți în ședință: Rojnoveanu Gheorghe, Rusu Natalia, Curocichin Ghenadie, Nacu Viorel, Gramma Rodica, Spinei Larisa, Nemerenco Ala, Paulescu Andrei, Gavriluc Mihail.

Președintele
Comitetului de Etică a Cercetării

Mihail Gavriluc

APROB



Regional USMF "Nicolae Testemițanu"

Emil Ceban Emil Ceban,
profesor universitar, dr. hab. șt. med.

ACT DE IMPLEMENTARE

Prin prezentul act confirmăm, de comun acord cu alți autori, implementarea rezultatelor obținute de către dna Rodica Peredelcu, asistent universitar la Catedra de farmacologie și farmacie clinică a Universității de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu". Pe parcursul realizării tezei de doctor în științe medicale "Proprietățile farmacologice și toxicologice ale Coptizinei" rezultatele cercetării au fost implementate în activitatea științifico-didactică a Catedrei de farmacologie și farmacie clinică în compartimentele: "Medicația tubului digestiv" la disciplina Farmacologie; "Farmacia clinică a gastritelor și bolii ulceroase", "Farmacia clinică a hepatitelor acute și cronice" la disciplina Farmacie clinică; a programelor de instruire postuniversitară a farmaciștilor și farmaciștilor-rezidenți la disciplina Farmacie clinică în compartimentul "Farmacia clinică a preparatelor hepatoprotectoare"

Șef Catedră de farmacologie și farmacie clinică,
dr. hab. șt. med., profesor universitar

Gonciar Veaceslav

Gonciar Veaceslav

Dr. șt. med., conferențiar universitar

Scutari Corina

Scutari Corina



APROB

Rektor al USMF "Nicolae Testemițanu"

Emil Ceban,
profesor universitar, dr. hab. șt. med.

ACT DE IMPLEMENTARE

în procesul didactic a rezultatelor cercetărilor științifice a asistentului universitar la
Catedra de farmacologie și farmacie clinică a USMF "Nicolae Testemițanu"
Rodica Peredelcu

1. *Denumirea ofertei pentru implementare:* Acțiunea hepatoprotectoare a Coptizinei bisulfat - remediu nou din materie primă autohtonă.
2. *Autorul ofertei:* Peredelcu Rodica, asistent universitar la Catedra de farmacologie și farmacie clinică a USMF "Nicolae Testemițanu".
3. *Sursa de informație:*
 - Peredelcu R., Gonciar V., Scutari C. Aprecierea acțiunii hepatoprotectoare a Coptizinei bisulfat prin metoda de modelare a hepatitei toxice acute. Certificat de inovator nr. 5730, eliberat de către Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu", Chișinău, R. Moldova. 2019.11.25.
 - Peredelcu R., Gonciar V., Scutari C., Cazacu V. The influence of coptisine bisulfate on the evolution of acute toxic hepatitis. In: World Science. *Warsaw, Poland*. 2018, № 8(36) Vol.2, ISSN: 2413-1032. https://doi.org/10.31435/rsglobal_ws/30082018/6065.
4. *Locul și timpul implementării:* la Catedra de farmacologie și farmacie clinică a USMF "Nicolae Testemițanu", la cursuri și lucrări practice la temele: "Preparate hepatoprotectoare", "Preparate cu acțiune asupra tubului digestiv", "Principiile tratamentului intoxicațiilor acute" pentru studenții anului III și V ai facultății de Medicină în anul de studii 2019-2020.
5. *Rezultatele implementării:* Comisia în componența șefului Catedrei de farmacologie și farmacie clinică a USMF "Nicolae Testemițanu", dr. hab. șt. med., profesor universitar Bacinschi Nicolae și dr. șt. med., conferențiar universitar Stratu Ecaterina confirmă, că datele experimentale despre proprietățile hepatoprotectoare și eficacitatea Coptizinei bisulfat în tratamentul asociat al intoxicațiilor endo- și exogene, afecțiunilor hepatice sunt incluse în procesul didactic la temele: "Preparate hepatoprotectoare", "Preparate cu acțiune asupra tubului digestiv", "Principiile tratamentului intoxicațiilor acute". Informația implementată în procesul didactic completează și suplimentează datele științifice noi despre preparatele hepatoprotectoare, care sunt pe larg utilizate în practica medicală. Proprietățile farmacologice ale Coptizinei bisulfat, remediu de origine autohtonă, obținut printr-un procedeu nou, deschid posibilități noi de optimizare și utilizare rațională și farmacoeconomică a preparatelor hepatoprotectoare în tratamentul complex al diferitor maladii și stări patologice.
6. *Obiecții și propuneri:* nu sunt.

Șef Catedră de farmacologie și farmacie clinică,
dr. hab. șt. med., profesor universitar

Bacinschi Nicolae

Dr. șt. med., conferențiar universitar

Stratu Ecaterina



APROB

Rector al USMF "Nicolae Testemițanu"

Emil Ceban,
profesor universitar, dr. hab. șt. med.

ACT DE IMPLEMENTARE

în procesul științific a rezultatelor cercetărilor științifice a asistentului universitar la
Catedra de farmacologie și farmacie clinică a USMF "Nicolae Testemițanu"
Rodica Peredelcu

1. *Denumirea ofertei pentru implementare:* Inofensivitatea Coptizinei bisulfat prin evaluarea rezultatelor cercetărilor preclinice.
2. *Autorul ofertei:* Peredelcu Rodica, asistent universitar la Catedra de farmacologie și farmacie clinică a USMF "Nicolae Testemițanu".
3. *Sursa de informație:*
 - Peredelcu R.A. Acute toxicity of coptisine. IX Ukrainian International Scientific Conference. Current Aspects of Clinical Pharmacology According to Evidence-based Medicine Achievements.- 16-17 November, 2017.- Vinnytsia, Ukraina, Hilan-LTD: BHMV, 2017, c. 83-90.
 - Peredelcu R., Gonciar V., Scutari C. Determinarea inofensivității Coptizinei bisulfat prin evaluarea rezultatelor toxicității acute. Certificat de inovator nr. 5729, eliberat de către Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu", Chișinău, R. Moldova. 2019.11.25.
 - Peredelcu R.A., Gonciar V.I., Scutari C.D. Acute toxicity research of coptizine. New achievements of world science. Proceedings of VII International scientific conference "New achievements of world science". Jun 22, 2017, Morrisville, Lulu Press; 2017, p. 90.
4. *Locul și timpul implementării:* Laboratorul de evaluare preclinică și clinică a medicamentului a Centrului Științific al Medicamentului din cadrul USMF "Nicolae Testemițanu" în anul 2019.
5. *Rezultatele implementării:* Comisia în componența șefului Laboratorului de evaluare preclinică și clinică a medicamentului a Centrului Științific al Medicamentului din cadrul USMF "Nicolae Testemițanu", dr. șt. med., conferențiar universitar Parii Sergiu și cercetătorul științific Nicolai Eugen confirmă, că datele științifice experimentale despre determinarea inofensivității Coptizinei bisulfat prin evaluarea rezultatelor obținute în cercetări preclinice sunt binevenite și raționale pentru cercetarea clinică și a altor efecte farmacologice presupuse cu includerea ulterioară în farmacoterapia maladiilor tubului digestiv (gastrite hiperacide, ulcere gastroduodenale, hepatite acute și cronice de diversă origine, inclusiv asociate cu encefalopatia hepatică).
6. *Obiecții și propuneri:* nu sunt.

Șef Laborator de evaluare preclinică și
clinică a medicamentului,
dr. șt. med., conferențiar universitar

Cercetător științific

Parii Sergiu

Nicolai Eugen



APROB

Rector al USMF "Nicolae Testemițanu"

Emil Ceban,
profesor universitar, dr. hab. șt. med.

ACT DE IMPLEMENTARE

în procesul didactic a rezultatelor cercetărilor științifice a asistentului universitar la
Catedra de farmacologie și farmacie clinică a USMF "Nicolae Testemițanu"
Rodica Peredelcu

1. *Denumirea ofertei pentru implementare:* Studii de farmacocinetică a Coptizinei bisulfat.
2. *Autorul ofertei:* Peredelcu Rodica, asistent universitar la Catedra de farmacologie și farmacie clinică a USMF "Nicolae Testemițanu".
3. *Sursa de informație:*
 - Peredelcu R. A. Studii de biodisponibilitate a Coptizinei bisulfat. În: Farmacia etică: istorie, realități și perspective. Conferința științifică cu participare internațională, dedicată memoriei Vasile Procopișin – Patriarhul farmaciei Moldave, doctor habilitat în științe farmaceutice, profesor universitar și Nadejda Ciobanu, doctor în științe farmaceutice, conferențiar universitar, 19-21 aprilie 2018.- [Chișinău]: S.n., 2018 (Tipogr. "Imprint Star").- p. 204-209. ISBN 978-9975-3159-5-1.
 - Peredelcu R., Gonciar V., Casian I., Casian A., Scutari C. Biodisponibilitatea Coptizinei bisulfat în cadrul cercetărilor preclinice. În: Zilele Medicamentului "Medicamentul de la idee la clinică" Ediția a XXVI-a, 29-31 martie, Iași, 2018, p. 140-142. ISSN-L 1843-1038.
4. *Locul și timpul implementării:* la Catedra de tehnologie a medicamentelor a USMF "Nicolae Testemițanu", la următoarele teme: "Determinarea farmacocineticii în doză unică de administrare în model monocompartimental deschis la administrare intravenoasă rapidă", "Determinarea farmacocineticii în doză unică de administrare în model monocompartimental deschis la administrare extravasculară" la disciplina **Biofarmacie și farmacocinetică** în anul de studii 2019-2020.
5. *Rezultatele implementării:* Comisia în componența șefului Catedrei de tehnologie a medicamentelor a USMF "Nicolae Testemițanu", dr. hab. șt. farm., profesor universitar Diug Eugen și dr. șt. farm., conferențiar universitar Ciobanu Cristina confirmă datele experimentale despre studiile farmacocineticii Coptizinei bisulfat, care au fost incluse în procesul didactic ce completează și suplimentează date noi despre determinarea farmacocineticii în model monocompartimental deschis în diferite căi de administrare.
6. *Obiectul și propunerile:* nu sunt.

Șef Catedră de tehnologie a medicamentelor
dr. hab. șt. farm., profesor universitar

Dr. șt. farm., conferențiar universitar

Diug Eugen

Ciobanu Cristina

EUROPA - ROMÂNIA - REPUBLICA MOLDOVA - IAȘI

FACULTATEA DE FIZICĂ de la UNIVERSITATEA "AL. I. CUZA" DIN IAȘI - ROMÂNIA,

FACULTATEA DE ARTE VIZUALE ȘI DESIGN ȘI

FACULTATEA DE INTERPRETARE, COMPOZIȚIE ȘI STUDII MUZICALE TEORETICE de la

UNIVERSITATEA DE ARTE "GEORGHE ENESCU" DIN IAȘI - ROMÂNIA,

UNIVERSITATEA DE STUDII EUROPENE DIN MOLDOVA,

FACULTATEA DE DREPT de la

UNIVERSITATEA DE STUDII POLITICE ȘI ECONOMICE EUROPENE

"CONSTANTIN STERE" DIN MOLDOVA ȘI

ASOCIAȚIA CULTURAL-ȘTIINȚIFICĂ "VASILE POGOR" IAȘI

ACORDĂ LA

Simpozionul Internațional

"DISPONIBILITĂȚI CREATIVE ÎN LUME"

Ediția a VI-a din 15 februarie 2015

de la Iași - România

PREMIUL I

Doamnei lect. univ. PEREDELUCU RODICA

de la Facultatea de Farmacie din cadrul Universității de Stat de Medicină și Farmacie

"Nicolae Testemițanu" din Chișinău - Republica Moldova

pentru lucrarea "Studiul toxicității acute și cronice a bisulfatului de coptizină

pe șobolani albi" înscrisă la secțiunea a III-a: Medicină și farmacie.

UNIVERSITATEA
"AL. I. CUZA" DIN IAȘI - RO

UNIVERSITATEA DE ARTE
"GEORGHE ENESCU" - RO

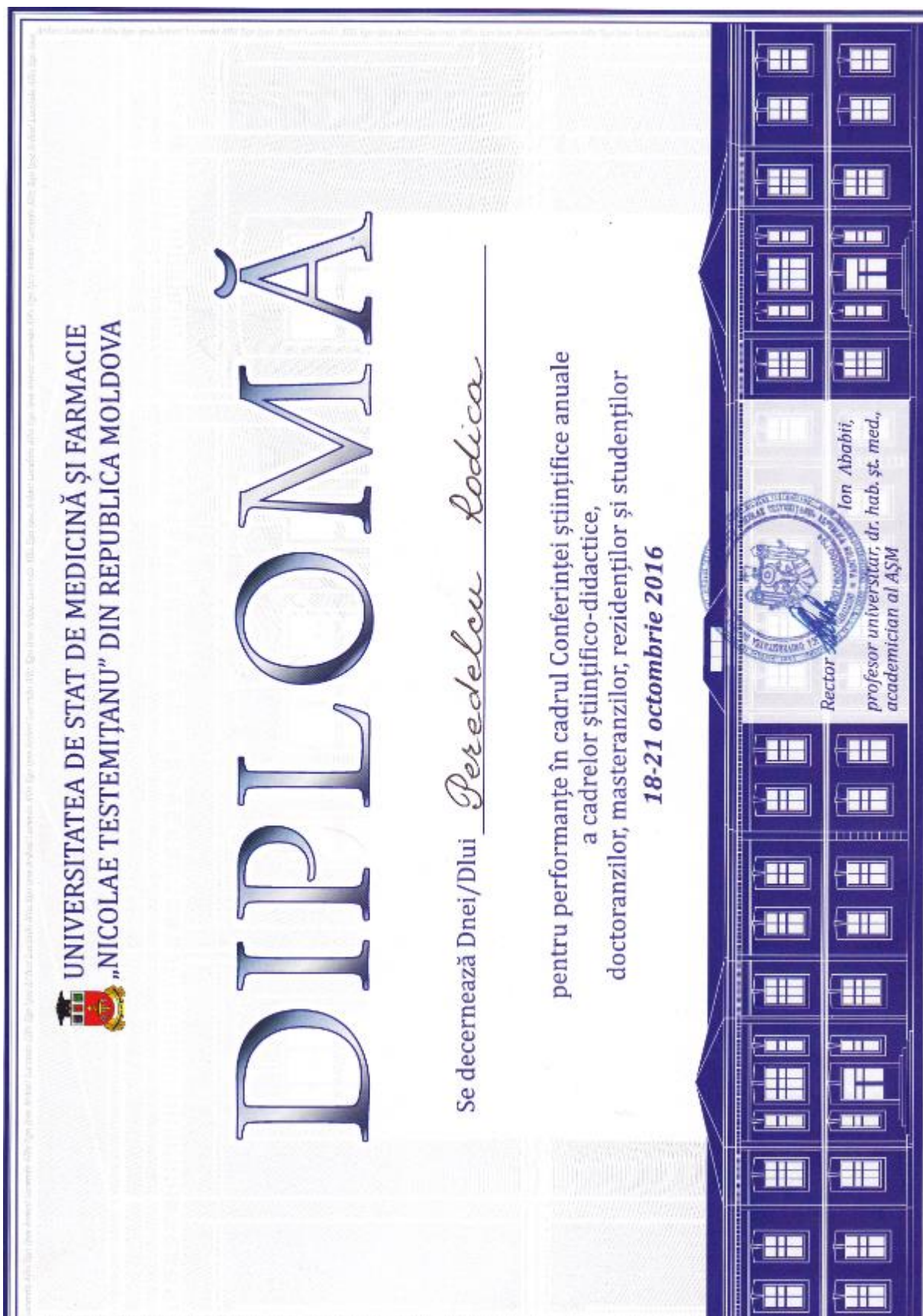
UNIVERSITATEA DE STUDII
EUROPENE DIN MOLDOVA

UNIVERSITATEA
"C. T. STERE" DIN MOLDOVA

UNIVERSITATEA
"AL. I. CUZA"
FACULTATEA DE FIZICĂ
conf. univ. dr. SEBASTIAN POPESCU

ASOCIAȚIA CULTURAL-ȘTIINȚIFICĂ
"VASILE POGOR" IAȘI
Președinte,
prbf. TEODOR BIVOL

Seria DIS nr. 063019





PREMIUL

Se acordă lucrării cu titlul Indisponibilitatea copilariei si suferinta
in cadrul institutiilor de protectie

Autori: *Rodrigo Paredes, V. González / Casan, A Casan*
C. Suelow

Susținută la Simpozionul Național “Medicamentul de la idee la clinică”, sub egida Zilele Medicamentului: ediția a XXVI-a, Iași (Complex Palas), 29-31 martie 2018.

**Preşedinte Simpozion,
Conf. Univ. Dr. Veronica Bild**

Vield



REPUBLICA MOLDOVA

**Agenția de Stat pentru
Proprietatea Intelectuală**

CERTIFICAT
DE ÎNREGISTRARE A OBIECTELOR
DREPTULUI DE AUTOR ȘI DREPTURILOR CONEXE

SERIA O Nr. 6526
DIN 14.01.2020

**Eliberat în temeiul Legii nr.139/2010 privind dreptul de autor
și drepturile conexe, obiectul de pe verso a fost înregistrat în Registrul
de Stat al obiectelor protejate de dreptul de autor și drepturile conexe**

 **Director General**


CHIȘINĂU

Seria: O

Numărul de înregistrare: 6526

Data înregistrării: 19.12.2019

Numărul cererii: 1294

Denumirea obiectului: „ASPECTELE INOFENSIVITĂȚII COPTIZINEI
BISULFAT. REZULTATELE TOXICITĂȚII
ACUTE ȘI CRONICE.”

Autori:

Peredelcu Rodica **IDNP:** 2000001104518

Gonciar Veaceslav **IDNP:** 0962709546208

Scutari Corina **IDNP:** 0971001424136

Titularul drepturilor patrimoniale:

Instituția Publică Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie

"Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova **IDNO:** 1007600000794

EXTRAS

din Legea nr. 139/2010 privind dreptul de autor și drepturile conexe:

Art. 5 alin. (6): Protecția dreptului de autor se extinde asupra formei de exprimare, dar nu se extinde asupra ideilor, teoriilor, descoperirilor științifice, procedeeelor, metodelor de funcționare sau asupra conceptelor matematice ca atare și nici asupra invențiilor cuprinse într-o operă, oricare ar fi modul de preluare, explicare sau de exprimare.

L.S.



Sef Direcție Drept de Autor





REPUBLICA MOLDOVA

**Agencia de Stat pentru
Proprietatea Intelectuală**

CERTIFICAT
DE ÎNREGISTRARE A OBIECTELOR
DREPTULUI DE AUTOR ȘI DREPTURILOR CONEXE

SERIA O NR. 6527
DIN 14.01.2020

**Eliberat în temeiul Legii nr.139/2010 privind dreptul de autor
și drepturile conexe, obiectul de pe verso a fost înregistrat în Registrul
de Stat al obiectelor protejate de dreptul de autor și drepturile conexe**



Director General



CHIȘINĂU

Seria: O

Numărul de înregistrare: 6527

Data înregistrării: 19.12.2019

Numărul cererii: 1295

Denumirea obiectului: „PARTICULARITĂȚILE ACȚIUNII
HEPATOPROTECTOARE, HEPATOTROPE
ȘI GASTRO-PROTECTOARE A COPTIZINEI
BISULFAT. APRECIEREA ACȚIUNII
COMPARATIVE HEPATOPROTECTOARE
A COPTIZINEI BISULFAT ȘI BERBERINEI.”

Autori:

Peredelcu Rodica **IDNP:** 2000001104518

Gonciar Veaceslav **IDNP:** 0962709546208

Scutari Corina **IDNP:** 0971001424136

Titularul drepturilor patrimoniale:

Instituția Publică Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie

"Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova **IDNO:** 1007600000794

EXTRAS

din Legea nr. 139/2010 privind dreptul de autor și drepturile conexe:

Art. 5 alin. (6): Protecția dreptului de autor se extinde asupra formei de exprimare, dar nu se extinde asupra ideilor, teoriilor, descoperirilor științifice, procedeelelor, metodelor de funcționare sau asupra conceptelor matematice ca atare și nici asupra invențiilor cuprinse într-o operă, oricare ar fi modul de preluare, explicare sau de exprimare.

L.S.



Șef Direcție Drept de Autor













Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie
"Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova



Facultatea de Farmacie
USMF „N. Testemițanu”

CERTIFICAT DE PARTICIPARE

Seria FMX XX

Nr. 32

se certifică participarea **activă** cu **comunicare** a Doamnei

Rodica PEREDELUCU

la conferința științifică cu participare internațională

**OBTINEREA ȘI CERCETAREA FARMACEUTICĂ A UNOR NOI MOLECULE
ȘI PRODUSE FARMACEUTICE CU POTENȚIAL TERAPEUTIC**
desfășurată la Chișinău, **31 ianuarie 2020** în cadrul Proiectului bilateral

Internațional moldo-belarus.

Se acordă **10 ore de EFC**, **dispoziția MSMPs RM nr. 21-d din 24.01.2020**

Președintele Comitetului de organizare,
Dr. hab. șt. farm., profesor universitar

Vladimir VALICA

CERTIFICAT DE PARTICIPARE

DI /Dna

Poredelcu Rodica
(Nume și Prenume)

a participat la Conferința științifică națională cu participare internațională

„Actualități în farmacologie și farmacologie clinică”

desfășurată la hotelul „VisPas”, mun. Chișinău, str. A. Lăpușeanu, 26

în perioada **30 noiembrie – 1 decembrie 2018**

Manifestarea a fost cuantificată cu **zece** credite EMC (ord. MSMPS RM nr. 1332 din 22. 11. 2018).

Societatea Științifică
a Farmacologilor
din Republica Moldova
Președinte, profesor universitar

W. Gonciar
V. GONCIAR

Seria MFC Cod XVIII Nr. 23 din 22. 11. 2018



Міністерство охорони здоров'я України
Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова
Кафедра клінічної фармації та клінічної фармакології

СЕРТИФІКАТ №

ВИДАНИЙ *Perechyn Radosa A.*

учаснику IX Всеукраїнської науково-практичної конференції
з міжнародною участю «**СУЧАСНІ АСПЕКТИ КЛІНІЧНОЇ ФАРМАКОЛОГІЇ**
НА ТЛІ ДОСЯГНЕНЬ ДОКАЗОВОЇ МЕДИЦИНИ» (12 год.)

16-17 листопада 2017 року
м. Вінниця

Ректор Вінницького національного
медичного університету ім. М.І. Пирогова,
академік НАМН України,

проф. В.М. Мороз

Завідувач кафедри клінічної
фармації та клінічної фармакології
ВНМУ імені М. І. Пирогова

проф. О. О. Яковлєва



Declarația privind asumarea răspunderii

Subsemnata, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Peredelcu Rodica

Semnătura

03.03.2020

INFORMAȚII PERSONALE

Rodica Peredelcu



str. N. Testemițanu 17/1, sc 1, ap. 19, 2025 Chișinău (Republica Moldova)

+37367668266

rodica.peredelcu@usmf.md

EXPERIENȚA PROFESIONALĂ

- 2008–Prezent** **Membru al Societății farmacologilor și farmacologilor clinicieni**
Chișinău (Republica Moldova)
- 2005–Prezent** **Asistent universitar**
USMF „Nicolae Testemițanu”, Catedra de farmacologie și farmacie clinică, Chișinău (Republica Moldova)
-Activități de cercetare și inovare.
-Cursuri didactice și lucrări practice pentru studenți.
- 1998–Prezent** **Laborant superior**
USMF „Nicolae Testemițanu”, Catedra de farmacologie și farmacie clinică, Chișinău (Republica Moldova)
-Gestionarea bunurilor materiale ale catedrei;
-Operarea Sistemului de Management al Calității ISO 9001-2015.
- 1991–1998** **Colaborator științific inferior**
USMF „Nicolae Testemițanu”, Laboratorul Epidemiologia Infecțiilor Intraspitalicești, Chișinău (Republica Moldova)

EDUCAȚIE ȘI FORMARE

- 1985–1991** **Diplomă TB-I Nr. 117813, Specialitatea Medicină profilactică**
Institutul de Stat de Medicină „N. Testemițanu”, Chișinău (Republica Moldova)
- 2011–2015** **Certificat de Studii postuniversitare prin doctorat, Specialitatea Farmacologie, farmacie clinică**
USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău (Republica Moldova)

COMPETENȚE PERSONALE

Limba(i) maternă(e) română

Limbile străine

	ÎNȚELEGERE		VORBIRE		SCRIERE
	Ascultare	Citire	Participare la conversație	Discurs oral	
rusă	B2	B2	B2	B2	B2
franceză	B1	B1	B1	B1	B1

Niveluri: A1 și A2: Utilizator elementar - B1 și B2: Utilizator independent - C1 și C2: Utilizator experimentat
Cadrul european comun de referință pentru limbi străine - Grila de auto-evaluare

Competențe organizaționale/manAGERIALE

- Comunicare, socializare
- Capacitate de a lua decizii
- Responsabilitate
- Spirit de evaluare și îmbunătățire
- Lucru în echipă
- Autoperfecționare
- Punctualitate
- Coordonare

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

Categorie Superioară, Ordinul MS
RM de la 20.12.2017 Nr. 1030

Specialitatea Farmacologie și farmacologie clinică

Participări la conferințe

- Zilele Universității și Conferința științifico-practică anuală a IP USMF "Nicolae Testemițanu" (Chișinău, 2014, 2016, 2017);
- Ședințele Societății Științifice a Farmacologilor și Farmacologilor clinicieni din Republica Moldova (Chișinău, februarie 2017; decembrie 2017);
- VI Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології, посвяченої 90-річчю професора О.О.Столярчука Клінічна та експериментальна фармакологія метаболічних коректорів, органопротекція, доказова медицина. 10-11 листопада 2017 року (Вінниця, Україна, 2017);
- Expoziția internațională MoldMedizin & MoldDENT (Chișinău, 2016, 2018);
- Simpozionul Național Medicamentul de la idee la clinică, sub egida Zilele Medicamentului: rezumat și poster (Iasi, 2018);
- Conferința științifică cu participare internațională "Actualități în farmacologie și farmacologia clinică întru comemorarea celor 100 de ani de la nașterea ilustrului savant, profesor universitar, laureat al Premiului de Stat al Republicii Moldova Efim Muhiu" (Chișinău, 2018);
- Conferința științifică cu participare internațională „Obținerea și cercetarea farmaceutică a unor noi molecule și produse farmaceutice cu potențial terapeutic”. 31 ianuarie 2020. Chișinău, R. Moldova.

Date statistice privind numărul total de publicații științifice și metodico-didactice

- 34 articole și teze;
- 12 materiale ale comunicărilor științifice
- 1 curs de prelegeri pentru studenți, rezidenți și farmaciști (coautor);
- 1 recomandare metodică pentru studenți (coautor);
- 3 indicații metodice pentru studenți (coautor);
- 12 participări cu comunicări la foruri științifice naționale și internaționale;
- 5 certificate de inovator și 2 certificate cu drept de autor.