

PN-III-P2-2.1-BG-2016-0369
**Investigarea proprietăților antiinfecțioase și antitumorale ale unor noi formulări
cosmetice și farmaceutice pe bază de extracte naturale**
Raport științific de fază
Perioada de raportare 21/12/2016-15/12/2017

În etapa a 2-a proiectului au fost realizate studii *in vitro* și *in vivo* la nivel fenotipic și genotipic pentru evaluarea activității antimicrobiene, antibiofilm, antivirale și imunomodulatorii a extractelor vegetale și apicole și a unor combinații ale acestora.

În cadrul acestei etape au fost analizate prin diferite abordări experimentale un total 24 de extracte furnizate de firma HOFIGAL, pentru evaluarea activității antimicrobiene/ antivirale/neutralizante și imunomodulatorii a extractelor vegetale și apicole și a unor combinații ale acestora.

- Evaluarea activității antimicrobiene (microbiostatice, microbicide și anti-biofilm) s-a realizat față de tulpini bacteriene Gram pozitive / Gram negative și fungice.
- *Screening*-ul calitativ al activității antimicrobiene a relevat prezența unui efect bactericid cuantificabil al extractului concentrat de rostopască, cătină roșie și al extractelor apoase și alcoolice de propolis.
- Cele mai eficiente extracte față de celulele microbiene în suspensie au fost extractele apoase de propolis 30% și 50% (active față de toate tulpinile testate), urmate de extractul concentrat de rostopască (activ față de tulpina de *E. faecalis* și față de tulpinile Gram negative de *P. aeruginosa* și *E. coli*).
- Cele mai eficiente extracte anti-biofilm au fost soluția apoasă de propolis 50%, tinctura de rostopască și extractul de rozmarin care au inhibat dezvoltarea biofilmului de *S. aureus* și *P. aeruginosa*. Efectul antibiofilm a fost confirmat la nivel molecular prin demonstrarea inhibării expresiei moleculelor de *quorum sensing* (*agr* la *S. aureus* și *las* și *rhl* la *P. aeruginosa*).
- Evaluarea influenței extractelor vegetale și apicole asupra viabilității microbiotei intestinale cultivabile murine prin metode dependente de cultivare a relevat faptul că majoritatea extractelor vegetale, cu excepția extractului apos de propolis 30% au indus scăderea numărului de bacterii Gram negative, confirmată și prin metoda independentă de cultivare bazată pe qPCR, efectul fiind mai evident pentru tinctura de propolis, extractul de cătină roșie și extractul concentrat de rostopască.
- De asemenea, extractele apoase și alcoolice de propolis 30% și 50% și extractul concentrat de rostopască au determinat creșterea numărului de bacili Gram pozitivi în probele analizate, aceste efecte fiind confirmate și prin metoda independentă de cultivare.
- Cu excepția extractului de cătină roșie toate extractele analizate stimulează creșterea numărului de lactobacili la nivelul cecumului, efectul fiind semnificativ pentru tinctura de propolis 50%.
- Infecția animalelor de laborator - șoareci albi de laborator – CD1 și șoareci CD1-Nude (CD1-Foxn1^{nu}) – a evoluat similar la animalele infectate și apoi tratate cu extractele vegetale și la cele infectate, dar netratate.

- Toate extractele vegetale și apicole (mai ales extractul de rostopască, lemn dulce și extractele apicole) au efect antiviral față de HSV1. Tincturile de propolis și extractul concentrat de cătină au activitate antivirală față de adenovirusul 5.
- Cele mai eficiente combinații antivirale au fost cele care conțin extract rostopască, extract apos sau alcoolic de propolis, extract de cătină roșie, armurariu, rozmarin și extract de lemn dulce.
- Studiul mecanismelor antivirale ale extractelor vegetale și apicole s-a realizat prin analiza nivelului de metilare a promotorului genei DAPK (semnificativ crescută după tratamentul cu soluții alcoolice de propolis și tincturi de propolis în celulele HeLa și respectiv HaCaT) și evaluarea expresiei DNMT1, DNMT3a, DNMT 3b, E7/HPV16 și E7/HPV 18 (expresia DNMT1 a fost observată în toate liniile celulare în urma tratamentelor, cele mai semnificative fiind consemnate pentru tincturi; expresia ADN metiltransferazelor *de novo* DNMT3a și DNMT3b este diminuată după tratarea celulelor HeLa cu extracte apoase și alcoolice de propolis, și a celulelor CaSki și HaCaT în special după tratamentul cu tinctură).
- *Expresia oncogenei E7 HPV* (care interacționează cu ADN-metiltransferaza 1), în liniile celulare HPV pozitive tratate (HeLa și CaSki) a fost inhibată de tincturi, în special la concentrații mai mari, corelată cu scăderea viabilității celulare (cuantificată utilizând kitul Cell Titer Glo și prin evaluarea nivelurilor de expresie a caspazelor 3, 7, și 8) și stimulată de extractele apoase de propolis.
- Majoritatea extractelor vegetale și apicole au inhibat producerea de citokine proinflamatorii în celulele HT29, cu excepția tincturii de propolis 50% și a extractului de rostopască.
- La șoarecii tratați cu extracte de propolis s-a observat o policromatofilie mai accentuată (aproximativ 4-5%), comparativ cu șoarecii netratați (1-2%), ceea ce indică o ușoară stimulare a eritropoezei. Nu s-au constatat modificări ale formulei leucocitare. În maduva șoarecilor tratați cu extract de rostopască s-a remarcat un procent de aproximativ 5% eozinofile care sugerează o posibilă hipersensibilizare la produsul administrat.

Act 2.15 D - Activități suport (Diseminare; Participare la manifestări tehnico-științifice; Participare la cursuri; Organizarea de cursuri; Vizite de lucru)

Denumire activitate: Diseminarea rezultatelor Comunicarea rezultatelor de cercetare în cadrul unor conferințe anuale și trimiterea spre publicare a articolelor de cercetare către reviste internaționale

Articole ISI cu FI calculat

- Abbas Hazem, Pitică-Aldea Ioana Mădălina, Popescu Carmen, Matei Lilia, Dragu Denisa, Economescu Mihaela, Alexiu Irina, Crișan Iuliana, Diaconu Carmen Cristina, Bleotu Coralia, Lupuleasa Dumitru, The antiviral/ virucidal effects of alcoholic and aqueous extracts with propolis from Oradea, Romania, Farmacia, Nr. 6, 2017 *in press*.
- Iancu Iulia, Pitica-Aldea Ioana Madalina, Matei Lilia, Dragu Laura Denisa, Abbas Hazem, Botezatu Anca, Plesa Adriana, Huica Irina, Crisan Iuliana, Popescu Carmen, Bleotu Coralia, Anton Gabriela, Some epigenetic mechanisms of aqueous / alcoholic propolis extracts in HPV-infected cells, trimis spre publicare la *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*.

- Saviuc, C., Ciubucă, B., Dincă, G., Bleotu, C., Drumea, V., Chifiriuc, M.-C., Lazăr, V. (2017). Development and Sequential Analysis of a New Multi-Agent, Anti-Acne Formulation Based on Plant-Derived Antimicrobial and Anti-Inflammatory Compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 175. <http://doi.org/10.3390/ijms18010175>
- Irina Gheorghe, Alin Laurentiu Tatu, Iuliana Lupu, Othman Thamer, Ani Ioana Cotar, Gratiela G. Pircalabioru, Marcela Popa, Violeta Corina Cristea, Veronica Lazar, Mariana Carmen Chifiriuc. Molecular characterization of virulence and resistance features in *Staphylococcus aureus* clinical strains isolated from cutaneous lesions in patients with drug adverse reactions. *Romanian Biotechnological Letters* Vol. 22, No. 1, 2017
- Bianca-Simona Truşcă, Irina Gheorghe, Luminita Marutescu, Carmen Curutiu, Florica Marinescu, Camelia Mihaela Ghiţă, Elvira Borcan, Liliana Ţuică, Vali Minciuna, Hilda-Edit Gherghin. Mariana Carmen Chifiriuc^{1,2}, Veronica Lazar. Beta-lactam and quinolone resistance markers in uropathogenic strains isolated from renal transplant recipients. *Revista Română de Medicină de Laborator* Vol. 25, Nr. 4, Octombrie, 2017. DOI: 10.1515/rllm-2017-0033

Articole ISI fără FI calculat

- Delcaru, C.; Podgoreanu, P.; Alexandru, I.; Popescu, N.; Măruţescu, L.; Bleotu, C.; Mogoşanu, G.D.; Chifiriuc, M.C.; Gluck, M.; Lazăr, V. Antibiotic Resistance and Virulence Phenotypes of Recent Bacterial Strains Isolated from Urinary Tract Infections in Elderly Patients with Prostatic Disease. *Pathogens* **2017**, 6, 22.

Capitol de carte:

Mihaela Georgescu, Oana Marinas, Marcela Popa, Teodora Stan, Veronica Lazar, Serban Vifor Bertesteanu and Mariana Carmen Chifiriuc (2016). Natural Compounds for Wound Healing, Worldwide Wound Healing - Innovation in Natural and Conventional Methods, Prof. César Fonseca (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/65652. Available from: <https://www.intechopen.com/books/worldwide-wound-healing-innovation-in-natural-and-conventional-methods/natural-compounds-for-wound-healing>

Conferinte:

- Matei L, Bleotu C, Dragu LD, Tatibouët A, Hanganu A, Ioniţă P, Limban C, Ghiţă I, Diaconu CC, Zarafu I: The anti-tumoral activity of some new carboxylic acids derivatives. Presentare orală la al XI-lea Congres National de Citometrie, 19-21 Octombrie 2017, Bucureşti, România
- Matei L, Stoica VN, Tatibouët A, Ioniţă P, Limban C, Bleotu C, Zarafu I: New hydrazide derivatives with anti-tumour activity. Poster prezentat la Prioritatile Chimiei pentru o Dezvoltare Durabila (PRIOCHEM) - editia 13, 25 - 27 Octombrie 2017, Bucureşti, România