



UNIVERSITATEA BABES – BOLYAI,
CLUJ – NAPOCA
FACULTATEA DE CHIMIE ȘI INGINERIE CHIMICĂ



REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

RELAȚII STRUCTURĂ, LIPOFILICITATE ȘI BIOACTIVITATE ÎN CAZUL MEDICAMENTELOR ANTIPSIHOTICE, ADRENERGICE ȘI A PLANTELOR CU ACȚIUNE ANTIPSIHOTICĂ

Student doctorand: Druțaș Melinda Carmen (căs. Szasz)

Conducător de doctorat: Prof. Dr. Habil. Claudia Cimpoiu (Universitatea
Babeș – Bolyai, Cluj – Napoca)

Cluj – Napoca

2025

CUPRINS

CUVINTE CHEIE	5
LISTA DE ABREVIERI	6
MULȚUMIRI	7
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT	8
PHD THESIS SUMMARY	10
INTRODUCERE	12
JUSTIFICAREA ALEGERII TEMEI ȘI OBIECTIVE	13
CAPITOLUL 1. SCHIZOFRENIA: DEFINIȚIE, SIMPTOME ȘI TRATAMENT	14
1.1 NOȚIUNI GENERALE DESPRE SCHIZOFRENIE	14
1.2 ABORDĂRI TERAPEUTICE ACTUALE ÎN TRATAMENTUL SCHIZOFRENIEI	15
1.3 MEDICAMENTE ANTIPSIHOTICE AUTORIZATE ÎN ROMÂNIA	16
CAPITOLUL 2. DETERMINAREA LIPOFILICITĂȚII ȘI A ACTIVITĂȚII BIOLOGICE PENTRU MEDICAMENTELE ANTIPSIHOTICE	18
2.1 LIPOFILICITATE	18
2.1.1 Rolul lipofilității în influențarea biodisponibilității	18
2.2 METODE DE DETERMINARE A LIPOFILICITĂȚII	19
2.2.1 Metode directe	20
2.2.2 Metode indirecte	20
2.3 METODE COMPUTAȚIONALE PENTRU DETERMINAREA LIPOFILICITĂȚII	21
2.4 METODE DE DETERMINARE A BIOACTIVITĂȚII MEDICAMENTELOR ANTIPSIHOTICE ȘI A PRINCIPIILOR ACTIVE DIN PLANTE	22
2.5 MECANISMUL ANTIOXIDANT AL MEDICAMENTELOR ȘI PLANTELOR CU ACȚIUNE ANTIPSIHOTICĂ	23
2.6 METODE DE ANALIZĂ PENTRU EVALUAREA ACTIVITĂȚII ANTIPSIHOTICE A MEDICAMENTELOR ȘI A PLANTELOR MEDICINALE	25
2.7 MEDICAMENTELE ADRENERGICE ȘI CORELAȚII CU MEDICAMENTELE ANTIPSIHOTICE PRIN INTERACȚIUNEA CU RECEPTORII ADRENERGICI	26
CONTRIBUȚII PERSONALE	29
CAPITOLUL 3. STUDIUL PROFILULUI AFINITĂȚII DE LEGARE DE RECEPTORI, BIOACTIVITĂȚII ȘI LIPOFILICITĂȚII ÎN CAZUL UNOR MEDICAMENTE ANTIPSIHOTICE	29

REZUMAT	29
3.1 INTRODUCERE	29
3.2 PARTEA EXPERIMENTALĂ	30
3.2.1. <i>Metode computaționale</i>	30
3.2.2 <i>Metode cromatografice</i>	31
3.3 REZULTATE ȘI DISCUȚII	35
3.3.1 <i>Evaluarea profilului afinității de legare de receptori</i>	35
3.3.2 <i>Rezultate biodisponibilitate si bioactivitate</i>	39
3.3.3 <i>Parametri cromatografici de lipofilitate</i>	45
3.4 CONCLUZII	49
CAPITOLUL 4. IDENTIFICAREA ȘI EVALUAREA ACȚIUNII ANTIPSIHOTICE A PRINCIPILOR ACTIVE DIN PLANTE	51
4.1 IDENTIFICAREA PRINCIPILOR ACTIVE DIN PLANTE CU ACȚIUNE ANTIPSIHOTICĂ	54
4.2 DETERMINAREA BIOACTIVITĂȚII PRINCIPILOR ACTIVE DIN PLANTE	70
4.3 EVALUAREA ACȚIUNII ANTIPSIHOTICE A PRINCIPILOR ACTIVE	72
4.4 ANALIZA SIMILITUDINII ÎNTRE ACTIVITATEA BIOLOGICĂ A MEDICAMENTELOR ANTIPSIHOTICE ȘI A PRINCIPILOR ACTIVE DIN PLANTE	74
CAPITOLUL 5. METODE NOI PENTRU DETERMINAREA RAPIDĂ ȘI SIMULTANĂ A MEDICAMENTELOR ADRENERGICE INTERZISE ÎN SPORT	76
REZUMAT	76
5.1 INTRODUCERE	76
5.2 MATERIALE ȘI METODE	77
5.2.1 <i>Standarde și soluții</i>	77
5.2.2 <i>Condiții cromatografice</i>	79
5.2.3 <i>Procesarea imaginii și determinarea ariei spotului</i>	80
5.2.4 Validarea metodei HPTLC-IA	80
5.3 REZULTATE ȘI DISCUȚII	81
5.3.1 <i>Dezvoltarea și optimizarea separării HPTLC</i>	81
5.3.2 <i>Selectarea parametrilor pentru analiza HPTLC</i>	82
5.3.3 <i>Validarea metodei HPTLC-IA dezvoltate</i>	82
5.3.4 <i>Evaluarea impactului asupra mediului, profilul verde al metodei de analiză</i>	85
5.4 CONCLUZII	88
CONCLUZII GENERALE	89
REFERINȚE BIBLIOGRAFICE	91

LISTA PUBLICAȚIILOR	104
LISTA CONFERINȚELOR	105
LISTA ARTICOLELOR PUBLICATE IN-EXTENSO	106

Cuvinte cheie: medicamente antipsihotice, medicamente adrenergice, profil de legare de receptori, indici lipofilicitate, scor de bioactivitate, principii active cu acțiune antipsihotică, activitate antioxidantă, detecție ABTS și DPPH

INTRODUCERE

Schizofrenia este o afecțiune neuropsihică caracterizată printr-o varietate de simptome pozitive, negative și cognitive ce includ: delir, halucinații, gândire irațională, comportament agresiv, pierderea interesului, dificultăți de comunicare, concentrare și altele. Schizofrenia afectează aproximativ 1% din populație și este în top 10 cauze ale dizabilității la nivel global. Cauzele apariției acestei afecțiuni nu sunt complet elucidate. Se presupune că ar fi rezultatul interacțiunii dintre mai mulți factori cum ar fi: boli virale în timpul sarcinii, complicații obstetricale, stres sever, consum de cannabis în adolescență la persoanele cu predispoziție genetică și factori de mediu.

Nu există un tratament curativ pentru schizofrenie. Medicamentele antipsihotice sunt tratamentul de elecție pentru ameliorarea simptomelor schizofreniei și prezintă limitări severe, datorită ameliorării în principal a simptomelor pozitive, cele negative și cognitive rămân netratate. O altă cauză importantă pentru aderența scăzută la tratamentul antipsihotic o reprezintă efectele adverse semnificative. Medicamentele antipsihotice prezintă o variabilitate semnificativă în modul de interacțiune cu neurotransmițării din creier cea ce se reflectă în eficacitatea terapeutică și profilul de reacții adverse specific. Această variabilitate contribuie la clasificarea acestora în medicamente antipsihotice de generația întâi (tipice) și medicamente de generația a doua (atipice).

Medicamentele antipsihotice tipice acționează asupra simptomelor pozitive și produc efecte adverse extrapiramidale ireversibile. Medicamentele antipsihotice atipice ameliorează simptomele pozitive și negative, prezintă risc scăzut de efecte adverse extrapiramidale, dar pot să producă efecte adverse semnificative precum efecte adverse metabolice, disfuncții sexuale sau efecte adverse letale.

Studiul profilului de legare de receptori, bioactivității și lipofilicității medicamentelor antipsihotice este important pentru obținerea unei imagini de ansamblu asupra tratamentului cu medicamentele antipsihotice. Având în vedere deficiențele existente în tratamentul schizofreniei este necesară cercetarea și identificarea unor soluții pentru ameliorarea simptomelor schizofreniei

și reducerea efectelor adverse. Plantele medicinale reprezintă o sursă valoroasă de principii active ce ar putea fi valorificate pentru optimizarea tratamentului afecțiunilor psihice.

Dezvoltarea unor metode de analiză cromatografice, rapide, pentru analiza simultană a medicamentelor și plantelor medicinale.

JUSTIFICAREA ALEGERII TEMEI ȘI OBIECTIVE

Schizofrenia este o afecțiune psihică severă care afectează persoanele tinere, de obicei debutând spre sfârșitul adolescenței sau începutul vieții adulte. Tratamentul antipsihotic, deși esențial pentru ameliorarea simptomatologiei prezintă numeroase provocări pentru specialiștii în domeniu, medici, farmaciști, asistenți, psihologici datorită limitărilor pe care le prezintă aceste medicamente în ameliorarea tuturor categoriilor de simptome și a efectelor adverse semnificative.

Plantele reprezintă resurse valoroase de principii active care asociate tratamentului antipsihotic ar putea ajuta la optimizarea tratamentului, prin potențarea efectului antipsihotic al medicamentelor antipsihotice. Nu trebuie neglijat nici posibilul profil de efecte adverse al acestor plante medicinale. Este important să se identifice principiile active din plante responsabile de efectul antipsihotic, studierea modului de acțiune al acestora și evaluarea raportului de beneficiu risc la utilizarea în tratamentul schizofreniei.

Scopul cercetării este studiul relației structură, profil de legare de receptori, lipofilicitate și bioactivitate între medicamente și plante medicinale cu acțiune antipsihotică, în context interdisciplinar, care să integreze noțiuni de chimie și farmacie. Dezvoltarea și validarea unor metode cromatografice rapide pentru analiza medicamentelor și a plantelor medicinale investigate.

Obiectivul general al tezei a cuprins trei obiective specifice. Primul obiectiv specific este studiul medicamentelor antipsihotice autorizate în România, din punct de vedere al lipofilicității, profilului de afinitate pentru receptori, bioactivității și efectuarea de corelații între acești parametri pentru a obține o imagine de ansamblu.

A doua etapă constă în studiul plantelor medicinale, identificarea principiilor active cu acțiune antipsihotică, determinarea bioactivității acestora, discutarea acestor rezultate comparativ cu rezultatele studiului medicamentelor antipsihotice, trasarea de concluzii și perspective viitoare de studiu.

A treia parte se referă la dezvoltarea unor metode pentru analiza medicamentelor și a principiilor active din plante. Dezvoltarea inițială a unei metode HPTLC pentru determinarea rapidă și simultană a medicamentelor adrenergice interzise în sport și adaptarea ulterioară a acestei metode nou dezvoltate și validate pentru analiza medicamentelor și plantelor cu acțiune antipsihotică, oferind o bază pentru cercetările ulterioare.

CAPITOLUL 1. SCHIZOFRENIA: DEFINIȚIE, SIMPTOME ȘI TRATAMENT

1.1 NOȚIUNI GENERALE DESPRE SCHIZOFRENIE

Schizofrenia este o afecțiune neuropsihică cronică cu impact semnificativ asupra calității vieții pacientului ^[1]. Este o afecțiune neuropsihică complexă, care afectează aproximativ 1% din populație ^[2] și este printre top 10 cauze ale dizabilității la nivel global ^[3].

Schizofrenia lasă pacienții cu incapacitatea de a funcționa corespunzător în activitățile zilnice, la locul de muncă, relații, chiar și autoîngrijire ^[4].

1.2 ABORDĂRI TERAPEUTICE ACTUALE ÎN TRATAMENTUL SCHIZOFRENIEI

Antipsihoticele atipice cu excepția clozapinei reprezintă tratamentul de primă linie pentru ameliorarea simptomelor schizofreniei. Antipsihoticele atipice prezintă efecte adverse metabolice, cum ar fi creștere în greutate, hiperlipidemie, diabet și care pot să contribuie la creșterea riscului de mortalitate cardiovasculară la pacienții cu schizofrenie ^[6,7]. Aceste efecte adverse scad complianța pacienților la tratament și cresc riscul de recidivă datorită întreruperii tratamentului.

1.3 MEDICAMENTE ANTIPSIHOTICE AUTORIZATE ÎN ROMÂNIA

În tabelul 1 sunt redate medicamentele antipsihotice autorizate în România pentru tratamentul schizofreniei și al altor tipuri de psihoze. Printre aceste medicamente se numără reprezentanții de mai jos:

Tabel 1. Clasificarea medicamentelor antipsihotice autorizate de Agenția Națională a Medicamentelor și Dispozitivelor Medicale (ANMDM) din România ^[9,15].

Clasa farmacologică	Reprezentanți	Denumire comună internațională (DCI)
Neuroleptice/ antipsihotice tipice (de generația întâi)	Levomepromazina	LEVOMEPRMAZINUM
	Flupentixol	FLUPENTIXOLUM
	Zuclopentixol	ZUCLOPENTHIXOLUM
	Haloperidol	HALOPERIDOLUM
	Sulpirid	SULPIRIDUM
	Amisulprid	AMISULPRIDUM
	Aripiprazol	ARIPIPRAZOLUM

Clasa farmacologică	Reprezentanți	Denumire comună internațională (DCI)
Neuroleptice/ antipsihotice atipice (de generația a doua)	Asenapina	ASENAPINUM
	Cariprazina	CARIPRAZINUM
	Clozapina	CLOZAPINUM
	Loxapina	LOXAPINUM
	Lurasidona	LURASIDONUM
	Olanzapina	OLANZAPINUM
	Quetiapina	QUETIAPINUM
	Paliperidona	PALIPERIDONUM
	Risperidona	RISPERIDONUM
	Sertindol	SERTINDOL
	Tiaprid	TIAPRIDUM
	Ziprasidona	ZIPRASIDONUM

CAPITOLUL 2. DETERMINAREA LIPOFILICITĂȚII ȘI A ACTIVITĂȚII BIOLOGICE PENTRU MEDICAMENTELE ANTIPSIHOTICE

2.1 LIPOFILICITATE

Lipofilicitatea reflectă afinitatea unei molecule pentru medii lipofice și poate fi utilizată pentru a prezice capacitatea unui medicament de a traversa bariera hematoencefalică. Pentru medicamentele antipsihotice lipofilicitatea este o condiție esențială pentru a facilita dizolvarea în membranele celulare lipidice în vederea traversării barierei hematoencefalică și exercitarea efectului antipsihotic ^[17,18].

2.1.1 Rolul lipofilicității în influențarea biodisponibilității

Determinarea lipofilicității a unei molecule are mai multe scopuri importante printre care se pot menționa:

- ✓ explicarea distribuției moleculei în sistemele biologice
- ✓ identificarea posibilelor căi de transport al poluanților în mediu
- ✓ suport pentru procesul de descoperire de noi medicamente
- ✓ selectarea compoziției optime a medicamentului în termeni de bioactivitate și biodisponibilitate ^[23].

2.2 METODE DE DETERMINARE A LIPOFILICITĂȚII

2.2.1 Metode directe

➤ Metoda “shake-flask”

Este o tehnică tradițională, cea mai veche și cunoscută metodă directă, care se bazează pe coeficientul de partiție al moleculei de analizat între n-octanol și apă. Această metodă prezintă limitări semnificative, și anume: este laborioasă, solicitantă și consumatoare de timp ^[25].

2.2.2 Metode indirecte

➤ Metode cromatografice

Dintre metodele cromatografice cele mai utilizate sunt cromatografia pe strat subțire cu fază inversă (RP-TLC) și cromatografia de lichide de înaltă performanță cu fază inversă (RP-HPLC) ^[30].

2.3 METODE COMPUTAȚIONALE PENTRU DETERMINAREA LIPOFILICITĂȚII

Cu toate că metodele experimentale de determinare a lipofilicității sunt preferate, metodele computaționale prezintă avantaje față de metodele experimentale deoarece nu necesită aparatură de laborator costisitoare, reactivi și muncă laborioasă de laborator.

Aceste metode s-au dezvoltat din necesitatea de a identifica tehnici rapide, simple, cu randament ridicat, pentru screeningul rapid al compușilor investigați. Astfel, au fost dezvoltate mai multe tehnici care pot fi clasificate în două grupe principale: bazate pe substructură și bazate pe proprietăți ^[30,31].

2.4 METODE DE DETERMINARE A BIOACTIVITĂȚII MEDICAMENTELOR ANTIPSIHOTICE ȘI A PRINCIPIILOR ACTIVE DIN PLANTE

❖ Descrierea fluxului de determinare a bioactivității prin tehnici de învățare automate

➤ Calculul descriptorilor moleculari

Structurile SMILES ale moleculelor pot fi convertite în forme matematice pe care calculatorul le înțelege. Descriptorii moleculari sunt valori numerice care reflectă diferite aspecte ale structurii și proprietăților compușilor.

➤ Selectare descriptori. Descriptorii Lipinski

➤ Clasificarea modelelor pentru QSAR

➤ Evaluare și validare

2.5 MECANISMUL ANTIOXIDANT AL MEDICAMENTELOR ȘI PLANTELOR CU ACȚIUNE ANTIPSIHOTICĂ

O altă abordare în fiziopatologia schizofreniei este teoria stresului oxidativ. Studii efectuate au arătat că stresul oxidativ poate cauza deteriorarea neuronilor cu apariția simptomelor schizofrenice.

Mecanismele de acțiune antioxidante ale medicamentelor antipsihotice posibile sunt neutralizarea radicalilor liberi, modularea enzimelor antioxidante și reducerea peroxidării lipidice. Dintre medicamentele antipsihotice cu acțiune antioxidantă cunoscută sunt: olanzapina, aripiprazol și ziprasidona ^[36].

2.6 METODE DE ANALIZĂ PENTRU EVALUAREA ACTIVITĂȚII ANTIPSIHOTICE A MEDICAMENTELOR ȘI A PLANTELOR MEDICINALE

Testele *in vitro* se bazează pe metode HPTLC și HPLC pentru separarea, determinarea cantitativă și evaluarea afinității de legare de receptori a medicamentelor și plantelor ^[42,43].

Metode *in vivo* pot fi teste comportamentale pe animale, metode electrochimice, studii comparative ^[44,45].

2.7 MEDICAMENTELE ADRENERGICE ȘI CORELAȚII CU MEDICAMENTELE ANTIPSIHOTICE PRIN INTERACȚIUNEA CU RECEPTORII ADRENERGICI

Medicamentele adrenergice (adrenomimetice) stimulează sistemul nervos simpatic prin activarea receptorilor adrenergici, α și β , receptori cuplați cu proteina G. Fiecare tip de receptori este clasificat în subtipurile specifice:

- ✓ Receptorii adrenergici α_1 sunt localizați în mușchii netezi vasculari, iar activarea acestora produce vasoconstricție și creșterea tensiunii arteriale.
- ✓ Receptorii adrenergici α_2 sunt localizați în terminațiile nervoase presinaptice, inhibă eliberarea de norepinefrină și reducerea activității simpatice.
- ✓ Receptorii adrenergici β_1 sunt localizați predominant în inimă și prin activarea acestora crește frecvența cardiacă și forța de contracție a inimii.
- ✓ Receptorii adrenergici β_2 sunt localizați în mușchii netezi ai bronhiilor și vaselor de sânge, iar activarea acestora duce la bronhodilatație și vasodilatație ^[46,47].

Medicamentele antipsihotice acționează în principal prin antagonism asupra receptorilor dopaminergici și serotoninergici, dar majoritatea medicamentelor antipsihotice prezintă și

antagonism asupra receptorilor α adrenergici, contribuind atât la ameliorarea simptomelor schizofreniei cât și la apariția efectelor adverse. Efectele adverse corelate cu legarea de receptori adrenergici sunt tensiune ortostatică, creștere în greutate, sindrom metabolic [7,8,50].

CONTRIBUȚII PERSONALE

CAPITOLUL 3. STUDIUL PROFILULUI AFINITĂȚII DE LEGARE DE RECEPTORI, BIOACTIVITĂȚII ȘI LIPOFILICITĂȚII ÎN CAZUL UNOR MEDICAMENTE ANTIPSIHOTICE [51]

3.1 INTRODUCERE

Au fost selectate cinci medicamente antipsihotice (haloperidol, risperidonă, aripiprazol, olanzapină și quetiapină), dintre medicamentele antipsihotice autorizate în România [15], pentru care parametri de lipofilitate determinați experimental și computațional au fost discutați în termeni de corelație cu suprafața polară topologică (TPSA), profilul afinității de legare (date din literatură) și bioactivitatea estimată prin metode computaționale.

Scopul acestui studiu este obținerea unui profil de ansamblu privind relația dintre structură, lipofilitate și activitate biologică pentru medicamentele antipsihotice cele mai utilizate clinic în România.

3.2 PARTEA EXPERIMENTALĂ

3.2.1. Metode computaționale

Aplicația software molinspiration cheminformatics a fost utilizată pentru a determina suprafața polară topologică (TPSA), lipofilitatea și bioactivitatea medicamentelor antipsihotice autorizate în România [52].

3.2.2 Metode cromatografice

Pentru toate tipurile de plăci cromatografice utilizate s-au determinat factorii de retenție, R_f și s-au calculat parametri de lipofilitate (valorile parametrilor mR_M , R_{M0}) pe baza valorilor factorilor de retenție obținuți pentru cinci fracții diferite ale solventului organic în compoziția fazei mobile folosind ecuațiile:

$$R_M = \log(1/R_f - 1) \quad (1)$$

Unde R_f = distanță de migrare compus / distanță de migrare front de solvent

$$R_M = R_{M0} + bC \quad (2)$$

Unde R_M este retenția molară, C este fracția de volum a solventului organic în faza mobilă, b este panta dreptei de regresie liniară (considerată o măsură alternativă de lipofilitate), iar R_{M0} este retenția molară obținută prin extrapolare pentru apa pură ca fază mobilă (faza mobilă 100% apă).

$$mR_M = (\sum_{i=1}^5 R_{M_i})/5 \quad (3)$$

Unde mR_M reprezintă media valorilor R_M individuale [55]

3.3 REZULTATE ȘI DISCUȚII

3.3.1 Evaluarea profilului afinității de legare de receptori

Evaluarea relației dintre structură și activitatea biologică a medicamentelor antipsihotice ajută la înțelegerea modului în care structura chimică influențează interacțiunea moleculei cu diferiți neurotransmițători din creier și care generează impact asupra profilului de eficacitate și siguranță a medicamentului.

Medicamentele antipsihotice interacționează cu receptori ai unor diverși neurotransmițători, prin legarea de receptori cuplați cu proteina G (GPCR- G protein coupled receptors) [56], receptori dopaminergici, $D_{1,2,3,4}$ subtipurile 1, 2, 3, 4, receptori serotoninergici $5-HT_2$, subtipurile 2A, 2B, 2C, receptori muscarinici M_1 , subtip 1, receptori adrenergici, tip 1, α_1 , receptori adrenergici tip 2, α_2 , A, B, C și receptori histaminici, H_1 , subtip1.

Datorită varietății structurilor chimice, medicamentele antipsihotice exercită efect terapeutic și profil de reacții adverse diferit, corelat cu afinitatea pentru acești receptori.

Profilul de legare de receptori este exprimat prin potența exprimată în valori K_i (Nm). Valori între $100 > k_i < 1000$ indică o potență slabă, valori în intervalul $10 > k_i < 100$ indică o potență moderată, iar valori k_i între $1 > k_i < 10$ indică o potență puternică, iar $1 < k_i$ indică o potență foarte puternică [53,54].

În concluzie se observă că structura chimică a medicamentelor antipsihotice influențează afinitatea pentru legarea de receptori și prin urmare efectul terapeutic și apariția efectelor adverse. Medicamentele antipsihotice tipice sau de generația întâi acționează prin antagonism puternic asupra receptorilor dopaminergici D_2 , ameliorează simptomele pozitive ale schizofreniei, dar au efecte adverse extrapiramidale, ireversibile.

Medicamentele antipsihotice atipice sau de generația a doua prezintă un mecanism de acțiune mai complex, pe lângă efectul antagonist sau agonist asupra receptorilor dopaminergici, acționează și prin blocarea receptorilor serotoninergici $5-HT_2$. Această acțiune combinată este caracteristica principală a mecanismului de acțiune al medicamentelor antipsihotice atipice și duce

la ameliorarea atât a simptomelor pozitive cât și a simptomelor negative ale schizofreniei și incidența scăzută a efectelor secundare extrapiramidale.

3.3.2 Rezultate biodisponibilitate și bioactivitate

Aplicația software molinspiration cheminformatics a fost utilizată pentru a calcula scorul de bioactivitate față de receptori umani comuni: liganzi GPCR, modulatori ai canalelor ionice, inhibitori de kinază, liganzi ai receptorilor nucleari, inhibitori de protează și inhibitori de enzimă.

Bioactivitatea unei substanțe este definită prin scorul de bioactivitate, care reprezintă modul în care un compus interacționează cu țintele specifice, cum ar fi enzime sau receptori. Un compus este foarte activ dacă are un scor de bioactivitate mai mare decât 0, iar un compus inactiv are un scor de bioactivitate mai mic decât -5.

Conform rezultatelor obținute, medicamentele antipsihotice investigate prezintă o bioactivitate variată față de receptorii umani comuni: liganzi GPCR, modulatori ai canalelor ionice, inhibitori de kinază, liganzi ai receptorilor nucleari, inhibitori de protează și inhibitori de enzimă.

Profilul variat de bioactivitate al medicamentelor antipsihotice contribuie la efectul terapeutic al medicamentelor antipsihotice, dar poate explica și efectele adverse specifice fiecărei clase chimice, precum efecte adverse extrapiramidale, sedare, creștere în greutate sau efecte metabolice.

Se constată o bioactivitate puternică pentru toate medicamentele antipsihotice studiate față de receptorii cuplați cu proteina G (GPCR), Figura 5.

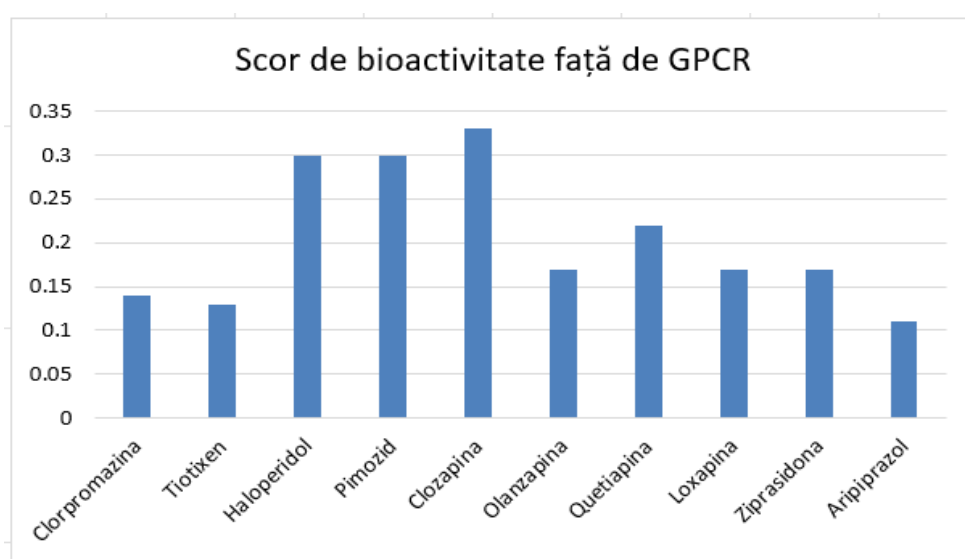


Figura 5. Rezultate scor de bioactivitate față de receptori cuplați cu proteina G (GPCR)

Criteriul de acceptanță este reprezentat prin determinarea parametrului scor de bioactivitate. Dacă scorul de bioactivitate este >0 compusul este activ, între intervalul $-5.0 - 0.0$ compusul este moderat activ, iar <-5.0 compusul este inactiv.

Evaluând afinitatea de legare de receptori pentru monoaminele GPCR, efectul de inhibare sau activare ^[67], medicamentele antipsihotice sunt liganzi GPCR (agoniști, antagoniști, agoniști inverși sau parțial agoniști) ^[68].

În Figura 5 de mai sus se observă că cel mai eficient antipsihotic, cu scorul de bioactivitate cel mai mare este clozapina.

Comparând rezultatele scorului de bioactivitate cu profilul de afinitate de legare de receptori se poate concluziona că, cel mai eficient antipsihotic este clozapina deoarece are scorul de bioactivitate cel mai mare, care acționează asupra unui spectru larg de receptori GPCR: dopaminergici, serotoninergici, muscarinici, adrenergici și histaminergici.

Aria suprafeței moleculare polare (TPSA) este suprafața moleculei care este ocupată de atomii polari și este un parametru care este corelat cu capacitatea unei molecule de a traversa membranele biologice, cum ar fi bariera hematoencefalică, prin urmare permite predicția proprietăților de transport ale moleculelor și este legat de biodisponibilitatea medicamentului. TPSA influențează viteza și cantitatea de substanță activă care este absorbită din medicament în circulația sistemică ^[69].

În Figura 6 sunt prezentate valorile TPSA pentru medicamentele antipsihotice investigate. Se observă că olanzapina prezintă valoarea cea mai mică, cea ce indică faptul că această moleculă are capacitatea cea mai bună de a traversa bariera hematoencefalică, influențând biodisponibilitatea și eficacitatea olanzapinei.

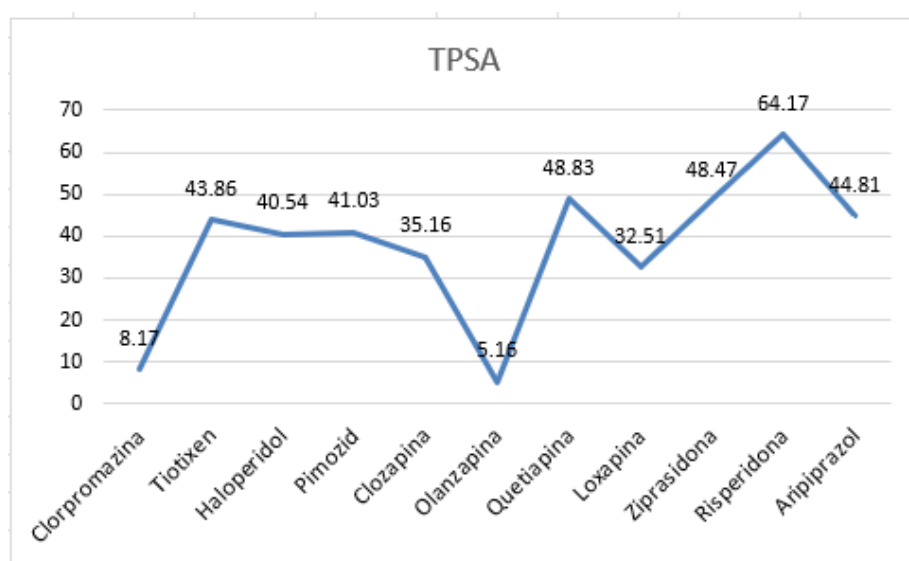


Figura 6. Aria suprafeței moleculare polare (TPSA) calculată

3.3.3 Parametri cromatografici de lipofilicitate

Lipofilicitatea pentru medicamentele antipsihotice selectate a fost determinată din factorii de retenție utilizând plăci cromatografice cu diferite polarități. Profilul de variație al lipofilicității (parametru R_M , Figura 7) pentru medicamentele antipsihotice selectate și anume haloperidol, risperidonă, aripiprazol, olanzapină și quetiapină au relevat o creștere liniară a lipofilicității cu creșterea componentei fracției organice din compoziția fazei mobile. Medicamentele lipofile traversarea barierei hematoencefalică ceea ce le permite să își exercite efectul terapeutic, prin urmare această condiție este esențială pentru medicamentele antipsihotice.

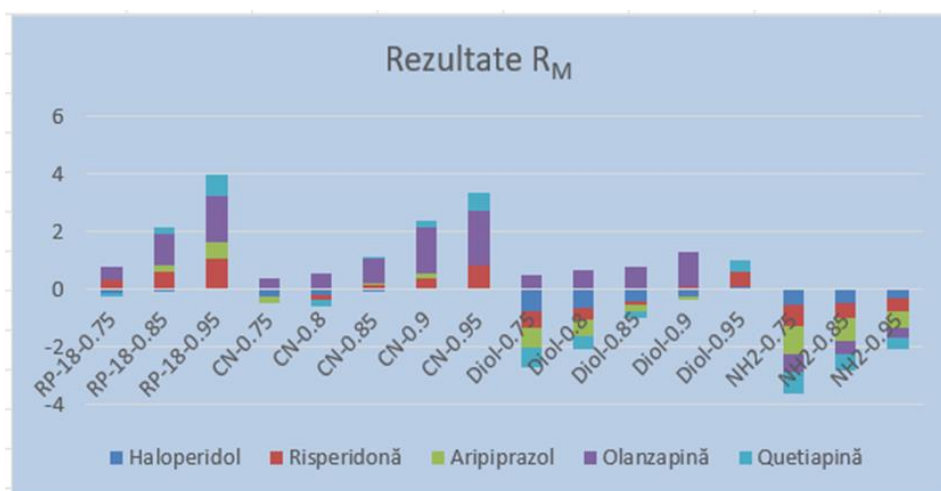


Figura 7. Profil de lipofilicitate (parametru R_M) pentru medicamentele antipsihotice investigate pe diferite tipuri de faze staționare (plăci de silicagel modificat RP-18, CN, Diol și NH_2) și utilizând fracții diferite de acetronitril în compoziția fazei mobile

Valoarea medie a lipofilicității (parametri mR_M calculați ca și media aritmetică a valorilor R_M pentru diferite fracții ale constituentului organic din compoziția fazei mobile) este considerată că relevă mai bine profilul de lipofilicitate al compușilor după interacțiunea cu diferite medii.

Profilul de lipofilicitate evaluat prin parametri R_M calculați pentru medicamentele antipsihotice selectate pentru fazele staționare investigate este redat în Figura 8, de mai jos. Se poate observa că medicamentele antipsihotice au un profil de lipofilicitate liniar în toate cazurile și că lipofilicitatea acestora este influențată de interacțiunea cu faza staționară.

De exemplu, faza staționară RP-18 este o fază staționară nepolară foarte eficientă pentru reținerea compușilor hidrofobi și lipofili datorită interacțiunilor hidrofobe ^[71].

Medicamentele antipsihotice cu lipofilicitate ridicată, ca de exemplu olanzapina exercită cea mai puternică retenție pe faza staționară RP-18 datorită interacțiunilor hidrofobe.

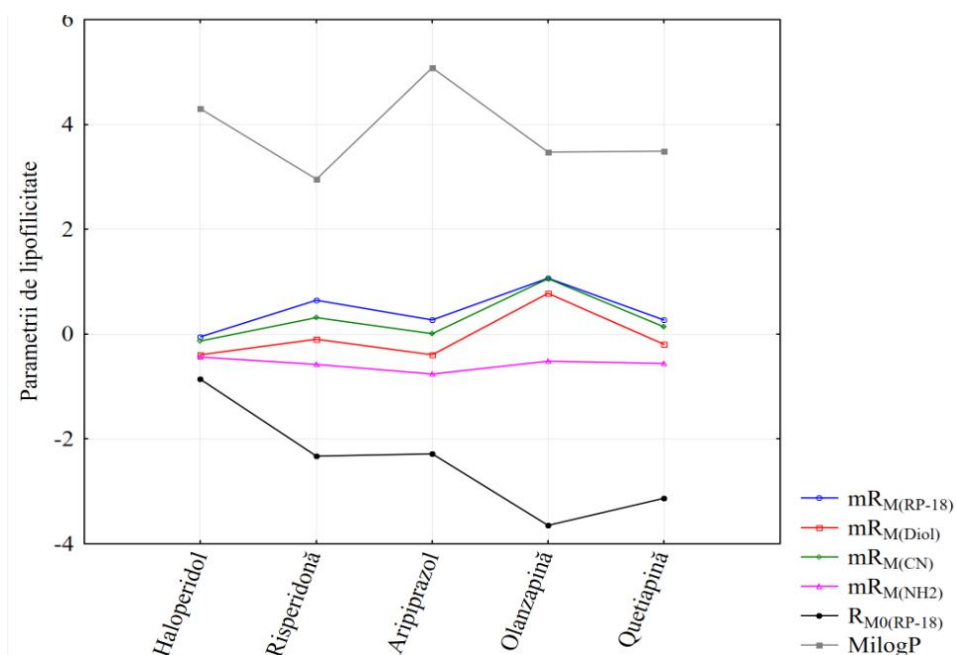


Figura 8. Corelații între parametri de lipofilitate determinați experimental și computațional pentru medicamentele antipsihotice selectate

Ca o caracteristică generală pentru toate antipsihoticele analizate, lipofilitatea crește în ordinea NH_2 , Diol, CN și RP-18. Excepție se observă în cazul haloperidolului unde se observă lipofilitate similară pentru fazele staționare RP-18 și CN, respectiv pentru fazele staționare DIOL și NH_2 .

Metodele computaționale sunt instrumente utile pentru determinarea profilului de lipofilitate a compușilor analizați. Acuratețea rezultatelor determinării este dependentă de varietatea de algoritmi utilizați, iar acești algoritmi pot să prezinte limitări în cazul determinării parametrilor de lipofilitate pentru molecule complexe [72,73]. În analiza efectuată, parametri de lipofilitate MilogP au fost calculați și un studiu de corelații a fost întocmit pe baza valorilor parametrilor de lipofilitate determinați experimental, computațional și parametri de biodisponibilitate pentru medicamentele antipsihotice investigate. Rezultatele acestor corelații sunt prezentate în tabelul 8.

O corelație inversă semnificativă din punct de vedere statistic ($r = -0.93$) a fost observată între aria suprafeței moleculare polare (TPSA) și parametri pentru inhibitori de kinază, în timp ce cu parametri pentru inhibitori de receptori nucleari s-a observat o corelație directă, puternică pentru toate medicamentele antipsihotice studiate.

O corelație statistică semnificativă a fost dezvăluită între parametri de lipofilitate determinați experimental, mR_M , obținuți pe fazele staționare modificate de RP-18, DIOL și CN, cu un coeficient de corelație de $r > 0.91$.

Tabel 8. Corelații între lipofilicitate și diferiți parametri de biodisponibilitate determinați experimental pentru medicamentele antipsihotice selectate (haloperidol, risperidonă, aripiprazol, olanzapină și quetiapină). Valorile evidențiate indică o corelație semnificativă din punct de vedere statistic.

Parametri biodisponibilitate	mR _M				R _{M0}				MilogP	TPSA	GPCR	Modulatori ai canalelor ionice	Inhibitor de kinază	Liganzi de receptori nucleari	Inhibitor de protează	Inhibitor de enzime
	RP-18	DIOL	CN	NH ₂	RP-18	DIOL	CN	NH ₂								
mR _{M(RP-18)}	1.00	0.93	0.91	-0.03	-0.78	0.31	-0.86	-0.24	-0.55	-0.27	-0.03	-0.60	0.59	-0.96	-0.89	-0.31
mR _{M(Diol)}	0.93	1.00	0.99	0.13	-0.76	0.57	-0.75	-0.04	-0.40	-0.52	-0.25	-0.30	0.76	-0.96	-0.94	-0.21
mR _{M(CN)}	0.91	0.99	1.00	0.16	-0.69	0.64	-0.68	-0.01	-0.35	-0.47	-0.26	-0.28	0.71	-0.96	-0.95	-0.15
mR _{M(NH2)}	-0.03	0.13	0.16	1.00	0.21	0.02	-0.12	0.97	-0.47	-0.27	0.43	0.59	0.23	-0.06	0.12	0.83
R _{M0(RP-18)}	-0.78	-0.76	-0.69	0.21	1.00	-0.15	0.84	0.36	0.43	0.64	0.36	0.35	-0.83	0.64	0.66	0.69
R _{M0(DIOL)}	0.31	0.57	0.64	0.02	-0.15	1.00	0.12	0.02	0.46	-0.37	-0.68	0.15	0.36	-0.52	-0.70	0.00
R _{M0(CN)}	-0.86	-0.75	-0.68	-0.12	0.84	0.12	1.00	0.08	0.84	0.38	-0.19	0.45	-0.67	0.71	0.56	0.31
R _{M0(NH2)}	-0.24	-0.04	-0.01	0.97	0.36	0.02	0.08	1.00	-0.29	-0.26	0.35	0.74	0.14	0.14	0.28	0.86
MilogP	-0.55	-0.40	-0.35	-0.47	0.43	0.46	0.84	-0.29	1.00	0.12	-0.65	0.26	-0.36	0.41	0.14	-0.15
TPSA	-0.27	-0.52	-0.47	-0.27	0.64	-0.37	0.38	-0.26	0.12	1.00	0.58	-0.49	-0.93	0.24	0.33	0.24
GPCR	-0.03	-0.25	-0.26	0.43	0.36	-0.68	-0.19	0.35	-0.65	0.58	1.00	-0.22	-0.45	0.09	0.38	0.57
Modulatori canale ionice	-0.60	-0.30	-0.28	0.59	0.35	0.15	0.45	0.74	0.26	-0.49	-0.22	1.00	0.18	0.50	0.44	0.47
Inhibitor kinază	0.59	0.76	0.71	0.23	-0.83	0.36	-0.67	0.14	-0.36	-0.93	-0.45	0.18	1.00	-0.55	-0.58	-0.32
Liganzi de receptori nucleari	-0.96	-0.96	-0.96	-0.06	0.64	-0.52	0.71	0.14	0.41	0.24	0.09	0.50	-0.55	1.00	0.95	0.16
Inhibitori de protează	-0.89	-0.94	-0.95	0.12	0.66	-0.70	0.56	0.28	0.14	0.33	0.38	0.44	-0.58	0.95	1.00	0.32
Inhibitori de enzime	-0.31	-0.21	-0.15	0.83	0.69	0.00	0.31	0.86	-0.15	0.24	0.57	0.47	-0.32	0.16	0.32	1.00

3.4 CONCLUZII

Profilul de afinitate de legarea de receptori atât al medicamentelor antipsihotice tipice cât și al medicamentelor antipsihotice atipice este corelat cu eficacitatea și profilul de reacții adverse al acestor medicamente.

Receptorii de dopamină și serotonină sunt principalii receptori cuplați cu proteina G (GPCR) țintiți de medicamentele antipsihotice. Clozapina exercită cea mai puternică bioactivitate asupra receptorilor cuplați cu proteina G (GPCR) dintre toate medicamentele antipsihotice investigate.

Dintre parametri de biodisponibilitate investigați, aria suprafeței moleculare polare (TPSA) este invers corelată statistic cu scorul de bioactivitate al medicamentelor antipsihotice față de inhibitorii de kinază, în timp ce scorul de bioactivitate al acestor medicamente este direct corelată cu parametri pentru inhibitori de protează și liganzi ai receptorilor nucleari.

O corelație statistică semnificativă a fost dezvăluită între parametri de lipofilitate determinați experimental, mR_M , obținuți pe fazele staționare modificate de RP-18, DIOL și CN, cu un coeficient de corelație de $r > 0.91$.

Activitatea față de inhibitorii de enzime poate fi estimată prin parametri experimentali de lipofilitate, mR_M și R_{M0} determinați pe fază staționară NH_2 . Pe baza corelațiilor efectuate se poate concluziona că parametri de lipofilitate calculați pe diferite tipuri de faze staționare sunt instrumente utile pentru predicția bioactivității medicamentelor antipsihotice.

CAPITOLUL 4. IDENTIFICAREA ȘI EVALUAREA ACȚIUNII ANTIPSIHOTICE A PRINCIPILOR ACTIVE DIN PLANTE

Există o tendință crescută de cercetare științifică a principiilor active din plante pentru tratamentul afecțiunilor psihice. Printre aceste afecțiuni psihice, schizofrenia este un subiect de interes major datorită nevoii de tratamente eficiente, cu mai puține efecte secundare comparativ cu medicamentele antipsihotice existente și creșterea complianței pacientului la tratament.

Utilizarea plantelor medicinale s-a realizat cu succes de-a lungul istoriei în medicina tradițională, datorită proprietăților terapeutice ale acestora. Extracte din diferite plante medicinale sunt utilizate în mod obișnuit în medicina tradițională, fie singure, fie în asociere cu medicamente, dar activitatea biologică a acestor extracte din plante a fost evaluată doar pentru puține din această categorie. Pe lângă efectul terapeutic al acestor principii active, similar celorlalte alternative

terapeutice și extractele naturale pot să prezinte efecte adverse care trebuie evaluate și luate în considerare ^[34].

Capitolul de față își propune să evalueze acțiunea antipsihotică a principiilor active din plante, în mai multe etape, astfel:

- Cercetarea publicațiilor din baze de date pentru a identifica plante cu acțiune antipsihotică.
- Colectarea datelor sub formă tabelară privind specia, familia, organul vegetativ utilizat, principiile active din plantă responsabile pentru efectul farmacologic și clasa chimică din care aparține principiul activ cu acțiune antipsihotică identificat.
- Clasificarea principiilor active cu acțiune antipsihotică identificate
- Determinarea bioactivității principiilor active identificate pe baza structurii chimice a acestora și utilizând aplicația software molinspiration cheminformatics
- Evaluarea rezultatelor
- Determinarea similitudinii între activitatea biologică a medicamentelor antipsihotice și principii active din plante cu acțiune antipsihotică.

Scopul acestui studiu este obținerea unei imagini de ansamblu asupra plantelor medicinale cu acțiune antipsihotică, clasele chimice de principii active cele mai importante pentru activitatea antipsihotică, determinarea scorului de bioactivitate și realizarea unei evaluări a principiilor active cu scorul de bioactivitate cel mai mare. Dintre principiile active cu scorul de bioactivitate cel mai mare, se vor selecta principiile active care sunt disponibile în România și pentru acestea se vor discuta corelații cu rezultatele activității biologice ale medicamentelor antipsihotice, cu scopul de a identifica potențiali compuși cu activitate antipsihotică. Obiectivul este selectarea de principii active cu potențial terapeutic care ar putea fi asociate tratamentului cu medicamentele antipsihotice.

4.1 IDENTIFICAREA PRINCIPILOR ACTIVE DIN PLANTE CU ACȚIUNE ANTIPSIHOTICĂ

În vederea identificării principiilor active din plante cu acțiune antipsihotică, am efectuat un studiu al literaturii de specialitate pentru a identifica plantele cu acțiune antipsihotică, iar pentru plantele identificate, investigarea principiilor active responsabile pentru efectul terapeutic.

Au fost identificate 78 de principii active cu acțiune antipsihotică, cele mai frecvente fiind quercetina și rutinul. Frecvența ridicată a quercetinului și a rutinului în studiul plantelor medicinale cu acțiune antipsihotică subliniază importanța acestor principii active în tratamentul afecțiunilor psihice.

Majoritatea principiilor active cu acțiune antipsihotică identificate aparțin claselor chimice ale flavonoidelor, alcaloizilor, terpenelor, lignanilor și acizilor fenolici. Aceste date sugerează rolul esențial al acestor clase chimice în studiul activității antipsihotice a plantelor medicinale.

4.2 DETERMINAREA BIOACTIVITĂȚII PRINCIPIILOR ACTIVE DIN PLANTE

Determinarea bioactivității principiilor active s-a realizat în același mod ca și în cazul medicamentelor antipsihotice. În capitolele anterioare s-a observat rolul crucial pe care îl are varietatea structurii chimice ale medicamentelor antipsihotice în interacțiunea cu receptorii neurotransmițătorilor și efectul terapeutic.

Pe baza structurii chimice a principiului activ și cu ajutorul aplicației software molinspiration cheminformatics s-a calculat bioactivitatea față de receptori umani comuni cum ar fi: liganzi GPCR, modulatori ai canalelor ionice, inhibitori de kinază, liganzi ai receptorilor nucleari, inhibitori de protează și inhibitori de enzimă.

S-a determinat bioactivitatea pentru 38 de principii active. Rezultatele se regăsesc în tabelul 12, de mai jos:

Tabel 12. Rezultatele bioactivității unor principii active

Nr. crt	Principiu activ	Liganzi GPCR	Modulatori ai canalelor ionice	Inhibitori de kinază	Liganzi ai receptorilor nucleari	Inhibitori de protează	Inhibitori de enzimă
1	bufanidrina ^[74]	0.36	0.08	-0.27	-0.13	-0.15	0.32
2	bufanamina ^[74]	0.49	0.28	-0.31	-0.08	0.06	0.33
3	quercetina ^[74,75]	-0.06	-0.19	0.28	0.36	-0.25	0.28
4	rutinul ^[95, 103]	-0.05	-0.52	-0.14	-0.23	-0.07	0.12
5	rezerpina ^[74,77]	0.1	-0.36	-0.39	-0.36	-0.02	-0.21
6	yohimbina ^[74,77]	0.47	0.36	-0.14	-0.03	0.11	0.16
7	scopoletina ^[131]	-1	-0.65	-0.95	-0.81	-1.16	-0.24
8	xysmalorina ^[74]	-0.43	-1.38	-1.2	-0.72	-0.35	-0.24
9	uzarina ^[74]	-0.38	-1.17	-1.08	-0.79	-0.28	-0.23
10	bergenina ^[74,78]	0.06	-0.09	-0.09	-0.08	-0.14	0.35
11	acid galic ^[139]	-0.77	-0.26	-0.88	-0.52	-0.94	-0.17
12	linalool ^[74,82]	-0.73	0.07	-1.26	-0.06	-0.94	0.07

Nr. crt	Principiu activ	Liganzi GPCR	Modulatori ai canalelor ionice	Inhibitori de kinază	Liganzi ai receptorilor nucleari	Inhibitori de protează	Inhibitori de enzimă
13	izoramnetina ^[95, 107, 108]	-0.11	-0.27	0.21	0.27	-0.27	0.2
14	(S)-naringenin ^[74,85,86]	0.03	-0.2	-0.26	0.42	-0.12	0.21
15	piperina ^[137,138]	0.15	-0.18	-0.13	-0.13	-0.1	0.04
16	scopolamina ^[74,91]	0.58	0.23	0.06	0.11	0.28	0.35
17	β -asarona ^[95, 96]	-0.71	-0.43	-0.72	-0.47	-0.97	-0.39
18	egelină ^[95,98]	0.21	0.24	-0.25	-0.18	-0.09	0.11
19	marmelina ^[95,98]	0.16	-0.14	-0.28	0.15	-0.05	0.13
20	Δ 9-tetrahidrocanabinol ^[95, 105, 106]	0.61	-0.03	-0.31	0.6	-0.04	0.51
21	canabidiol ^[95, 105, 106]	0.35	-0.14	-0.48	0.38	-0.19	0.33
22	bilobalide ^[121]	0.75	0.11	-0.23	0.35	0.45	0.23
23	ginkgolide ^[121]	1.15	0.07	-0.29	0.14	0.34	0.35
24	hipericina ^[124, 125]	-0.01	-0.23	0.1	0.19	-0.08	0.1
25	crisin ^[153]	-0.11	-0.08	0.15	0.3	-0.3	0.26
26	salidroziada ^[140,141]	0.35	0.29	0.13	0.06	0.19	0.59
27	catechina ^[142]	0.41	0.14	0.09	0.6	0.26	0.47
28	berberina ^[145,146]	-0.11	0.71	-0.27	-0.78	-0.35	0.82
29	magnoflorina ^[145,146]	0.37	0.78	-0.2	-0.26	-0.19	0.26
30	valerenol ^[147,148]	-0.03	0.04	-0.89	0.57	-0.37	0.44
31	witanolide ^[150,151]	0.05	0.3	-0.5	0.73	0.16	1.07
32	jujubozida ^[152]	-3.65	-3.76	-3.81	-3.73	-3.59	-3.6
33	spinosina ^[152]	0.04	-0.45	-0.11	-0.13	-0.01	0.19
34	izoliquiritina ^[154]	0.03	-0.32	-0.39	0.32	-0.21	0.17
35	glicirizină ^[154]	-1.78	-3.09	-3.09	-2.36	-1.26	-1.9
36	apigenina ^[74,84]	-0.07	-0.09	0.18	0.34	-0.25	0.26
37	acid carnosic ^[158]	0.41	0.24	-0.24	0.72	-0.01	0.32
38	acid rozmarinic ^[158]	0.17	-0.08	-0.18	0.57	0.15	0.24

Criteriul de acceptanță este reprezentat prin determinarea parametrului scor de bioactivitate. Dacă scorul de bioactivitate este >0 compusul este activ, între intervalul $-5.0 - 0.0$ compusul este moderat activ, iar <-5.0 compusul este inactiv.

Pentru a evalua acțiunea antipsihotică a principiilor active este necesar să interpretăm rezultatele determinării bioactivității și anume a scorului de bioactivitate calculat față de receptorii și liganzii cei mai importanți.

Analizând rezultatele scorului de bioactivitate ale principiilor active investigate, se constată că toți acești compuși au activitate moderat activă sau foarte activă față de toate tipurile de liganzi și modulatori investigați.

4.3 EVALUAREA ACȚIUNII ANTIPSIHOTICE A PRINCIPIILOR ACTIVE

În mod similar cu analiza bioactivității medicamentelor antipsihotice față de liganzi GPCR, considerați principalul target pentru majoritatea medicamentelor antipsihotice, am reprezentat grafic bioactivitatea principiilor active față de receptorii GPCR, Figura 10.

Rezultatele obținute conform scorului de bioactivitate indică că toate principiile active cu acțiune antipsihotică identificate sunt compuși moderat activi sau foarte activi, astfel:

- ✓ 18 compuși moderați activi, cu valori ale scorului de bioactivitate între $-3,65$ și 0.00
- ✓ 22 compuși foarte activi, cu valori ale scorului de bioactivitate mai mare de 0.00

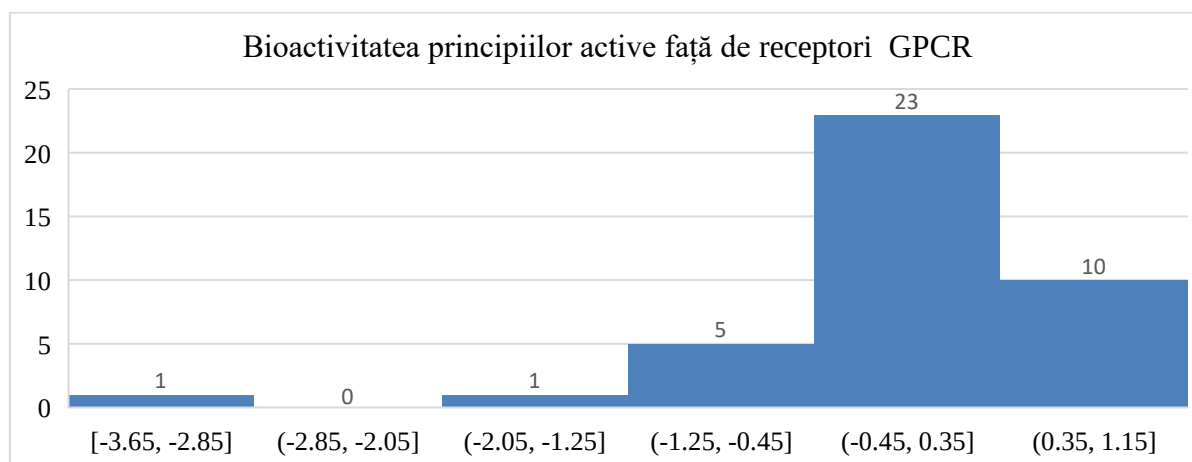


Figura 10. Bioactivitatea principiilor active față de receptorii GPCR

Dintre principiile active cu acțiune antipsihotică identificată, au fost selectate cele cu cel mai mare scor de bioactivitate, reprezentate de 12 compuși cu valori ale scorului de bioactivitate cuprinse între 0.17 și 1.15 și reprezentați în Figura 11. Se vor evalua compușii cu scorul de bioactivitate cel mai mare și care aparțin plantelor medicinale disponibile și în România.

În Figura 11- Evaluare bioactivitate compuși foarte activi am reprezentat top 12 compuși cu scorul de bioactivitate cel mai mare față de receptorii GPCR.

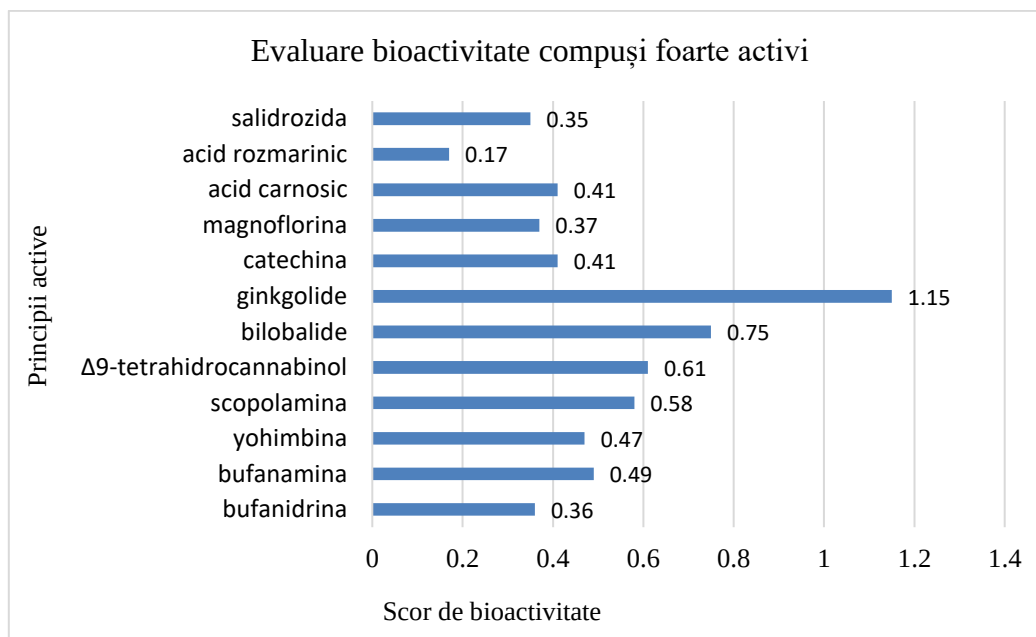


Figura 11. Evaluare bioactivitate compuși foarte activi

Criteriul de acceptanță este reprezentat prin determinarea parametrului scor de bioactivitate. Dacă scorul de bioactivitate este >0 compusul este activ, între intervalul $-5.0 - 0.0$ compusul este moderat activ, iar <-5.0 compusul este inactiv.

Analizând cei 12 compuși foarte activi, cu cel mai ridicat scor de bioactivitate, s-a constatat că cele mai promițătoare plante medicinale cu acțiune antipsihotică și care sunt totodată disponibile și în România sunt *Ginkgo biloba* (cu principiile active ginkgolide, bilobalide) și *Rosmarinus officinalis* (cu principiile active acid rozmarinic, acid carnosic).

Ginkgo Biloba este cunoscută pentru proprietățile sale antioxidante și neuroprotective ^[121], iar *Rosmarinus officinalis* este utilizată în special pentru proprietățile sale antiinflamatoare ^[158].

4.4 ANALIZA SIMILITUDINII ÎNTRE ACTIVITATEA BIOLOGICĂ A MEDICAMENTELOR ANTIPSIHOTICE ȘI A PRINCIPII ACTIVE DIN PLANTE

Dintre principiile active cu acțiune antipsihotică au fost selectate principiile active cu scorul de activitate cel mai mare și care sunt prezente în plante disponibile și în România și anume *Ginkgo biloba* și *Rosmarinus officinalis*.

În Figura 12 de mai jos este reprezentat scorul de bioactivitate pentru medicamentele antipsihotice investigate și principiile active care prezintă scorul de bioactivitate cel mai mare și care se găsesc în plante disponibile și în România.

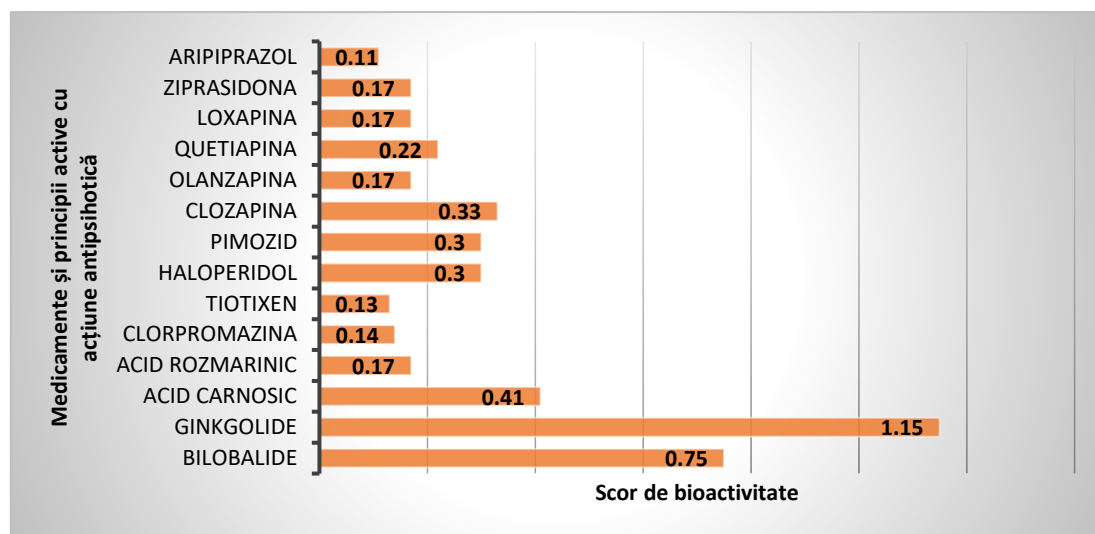


Figura 12. Evaluare bioactivitate medicamente antipsihotice și principii active din plante

Se constată că aceste principii active prezintă scor de bioactivitate mai mare decât al medicamentelor antipsihotice autorizate, prin urmare pot fi luate în considerare pentru integrarea în tratamentul antipsihotic.

CAPITOLUL 5. METODE NOI PENTRU DETERMINAREA RAPIDĂ ȘI SIMULTANĂ A MEDICAMENTELOR ADRENERGICE INTERZISE ÎN SPORT ^[164]

5.1 INTRODUCERE

Scopul principal al acestui studiu este dezvoltarea unui protocol pentru determinarea rapidă a unor medicamente adrenergice, interzise pentru consum de către sportivii de performanță, utilizând metoda cromatografică pe strat subțire cuplată cu diferite metode de detecție și procesare a imaginii.

5.2 MATERIALE ȘI METODE

5.2.2 Condiții cromatografice

Separarea fenoterolului, procaterolului, terbutalinei și izoprenalinei s-a realizat pe plăci de înaltă performanță HPTLC Silica gel 60 F_{254s} (20 cm x 10 cm) și amestec de alcool izopropilic,

acetat de etil și amoniac în proporții variabile (10:10:5 v/v/v; 10:20:5 v/v/v; 20:10:5; 20:25:5 v/v/v și 20:25:1.5 v/v/v) ca și fază mobilă. În fiecare caz, înainte de procedura de dezvoltare a plăcii, camera cromatografică a fost saturată de vapori ale amestecului de solvenți timp de 15 minute.

5.2.4 Validarea metodei HPTLC-IA

Metoda propusă a fost validată conform ghidurilor ICH (ICH Harmonized Tripartite Guideline: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Q2(R1), ICH, Geneva, Switzerland, 2005, <http://www.ich.org>). Parametri critici ai metodei validați au fost domeniul de liniaritate, acuratețea, precizia, limita de detecție și limita de cuantificare. Specificitatea metodei a fost evaluată prin determinarea medicamentelor selectate (fenoterol, procaterol, clenbuterol, terbutalină și izoprenalină) din probe de urină.

5.3 REZULTATE ȘI DISCUȚII

5.3.1 Dezvoltarea și optimizarea separării HPTLC

Diferiți parametri cum ar fi compoziția fazei mobile, modurile de detecție și culoarea scalei pentru procesarea imaginii au fost investigați pentru a obține rezultate satisfăcătoare pentru analiza simultană a medicamentelor selectate.

Pentru compoziția fazei mobile s-au selectat compuși ecologici, conform filozofiei verzi (reutilizare, înlocuire, reducere) a ghidului GlaxoSmithKline (GSK) privind durabilitatea solventului. Amestec de alcool izopropilic, acetat de etil și amoniac în rapoarte variabile (10:10:5 v/v/v; 10:20:5 v/v/v; 20:10:5; 20:25:5 v/v/v și 20:25:1.5 v/v/v) au fost testate pentru separarea eficientă a medicamentelor selectate. Teste preliminare ale amestecului alcool izopropilic și acetat de etil au dezvăluit capacitatea de a separa medicamentele analizate mai bine sub formă de dungi decât sub formă de spoturi. Considerând grupările de bază din structura medicamentelor analizate adăugarea de amoniac la compoziția fazei mobile a optimizat procedura de separare.

Alcool izopropilic – acetat de etil - amoniac (25%) în proporții de 20: 25: 1.5 (v/v/v) a condus la separarea optimă a compușilor de analizat, cu valori satisfăcătoare ale timpilor de retenție: R_f (fenoterol) = 0.61 ± 0.03 ; R_f (procaterol) = 0.29 ± 0.04 ; R_f (clenbuterol) = 0.40 ± 0.02 ; R_f (terbutalină) = 0.16 ± 0.01 ; R_f (izoprenalină) = 0.09 ± 0.03 .

5.3.2 Selectarea parametrilor pentru analiza HPTLC

Pentru procedura de detecție, plăcile cromatografice au fost mai întâi vizualizate în UV la lungimea de undă de 254nm și 366nm, iar imaginile obținute au fost ulterior deschise cu software-ul ImageDecipher-TLC, iar intensitățile de culoare a spoturilor au fost convertite în semnale

analitice sub formă de arie a picului, utilizând selecția de scală gri, verde, roșie și albastră. În aceste condiții doar clenbuterolul și procaterolul au fost detectate (Figura 13). În ambele cazuri, valorile cele mai mari pentru aria spotului s-au obținut prin selecția scalei verzi.

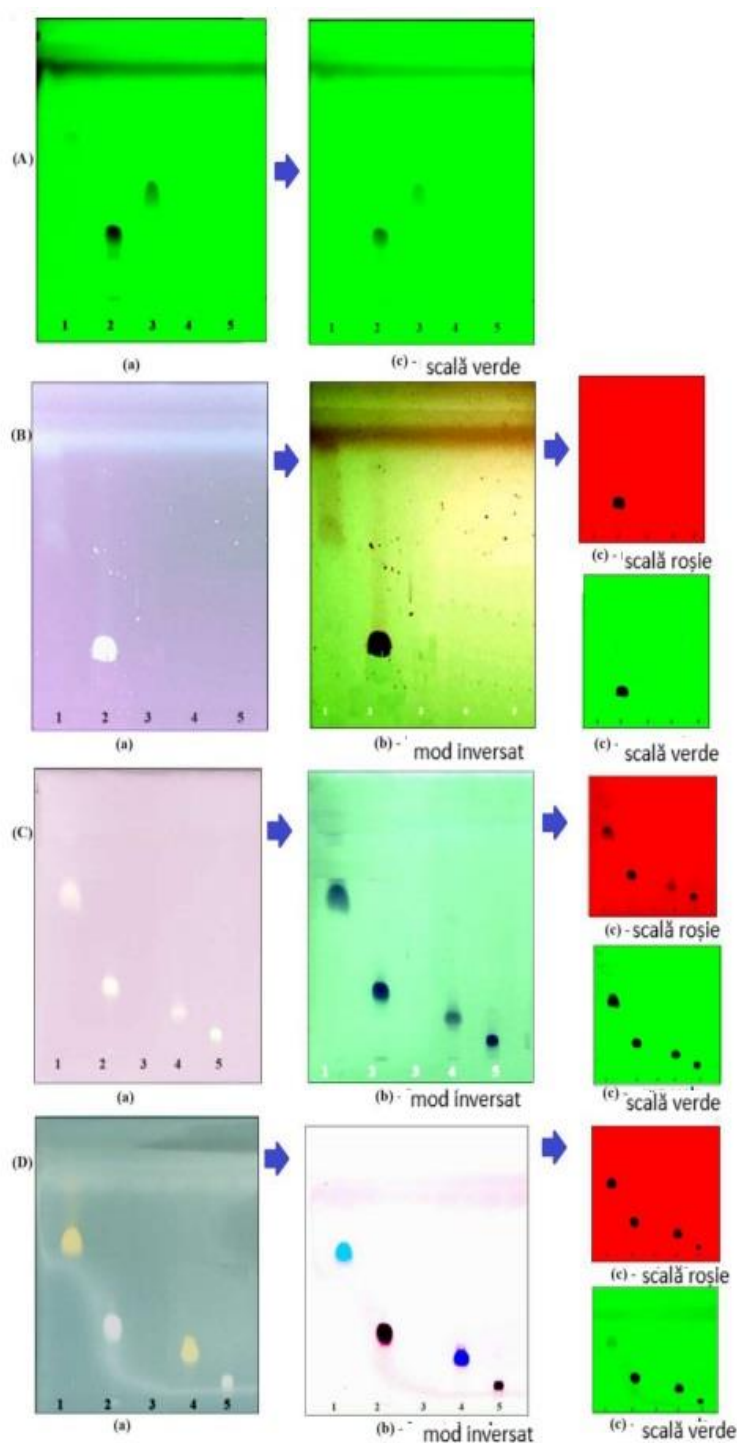


Figura 13. Imaginea plăcilor cromatografice după separarea compușilor de analizat utilizând diferite moduri de detecție și diferite scale de culoare pentru procesarea imaginii: (A) - UV 254nm; (B) - UV 366nm; (C) - Imersia în soluție DPPH•; (D) - Imersia în soluție ABTS+•; (a) – imagine RGB; (b) – imagine în mod inversat; (c) – culoarea scalei pentru procesarea imaginii (1- fenoterol; 2 – procaterol; 3 – clenbuterol; 4 – terbutalină; 5 – izoprenalină).

Utilizând soluțiile de radicali DPPH• și ABTS+• ca și reactanți de detecție, au fost detectate patru dintre medicamentele analizate (fenoterol, procaterol, terbutalină și izoprenalină). Prin acest mod de abordare, plăcile cromatografice dezvoltate sunt imersate în soluțiile cu radicali, iar compușii cu capacitatea de a capta radicali apar ca spoturi alb-gălbui, prin decolorarea culorii violete a reactivului DPPH• și ca și spoturi albe prin decolorarea culorii verzi a reactivului ABTS+•. Interesant de remarcat este faptul că medicamentele fenoterol și terbutalină suferă proces de degradare oxidativă cu ABTS+•, rezultând compuși de culoare galben intens. Variația contrastului, procedura inversă și selecția diferitelor scale de culori au fost utilizate pentru prelucrarea imaginii RGB și separarea compușilor de analizat (Figura 13).

5.3.3 Validarea metodei HPTLC-IA dezvoltate

Pentru toate medicamentele analizate s-a observat o dependență liniară bună între aria spotului și concentrația medicamentului (coeficientul de determinare mai mare decât 0.9982. $R^2 = 0.9996$ pentru fenoterol, $R^2 = 0.9988$ pentru procaterol, $R^2 = 0.9992$ pentru clenbuterol $R^2 = 0.9982$ pentru terbutalină, $R^2 = 0.9997$ pentru izoprenalină).

În condițiile cromatografice selectate, fenoterolul a prezentat un interval liniar între 0.20–1.80 µg/ spot, procaterolul de la 0.40 la 1.60 µg/spot, clenbuterol de la 0.40 la 2.50 µg/spot, terbutalina de la 0.40 la 1.80 µg/spot și izoprenalina între 0.08–1.60 µg/spot).

Cea mai mica limită de detecție (LOD) s-a obținut la utilizarea reactivului ABTS+• și selectarea scalei roșii pentru fenoterol (LOD = 0.07 ± 0.03 µg/spot), procaterol (LOD = 0.09 ± 0.03 µg/spot) și terbutalină (LOD = 0.10 ± 0.04 µg/ spot), în timp ce utilizarea reactivului DPPH• și a scalei verzi a dus la obținerea celei mai mici limite de detecție pentru izoprenalină (LOD = 0.06 ± 0.02 µg/spot).

Cele mai bune rezultate pentru clenbuterol (detectat doar în UV, la 254 nm) s-au obținut prin selecția scalei verzi (LOD = 0.22 ± 0.06 µg/spot).

Acuratețea metodei a fost evaluată prin determinarea cantității de medicament din amestecul standard de soluție preparat la trei nivele de concentrații pentru toate medicamentele analizate (0.50 µg/spot; 1.00 µg/spot; 1.50 µg/spot). S-au obținut parametri de recuperare corespunzători, între 92,16% și 104,10% pentru medicamentele separate din amestecul de soluție standard.

Rezultatele obținute pentru precizia metodei și precizia intermediară exprimate prin coeficientul de variație (CV, %) a ariei picului, au fost între 0.62% și 1.46% în fiecare caz, indicând o precizie bună în condițiile cromatografice selectate. (Valori mai mici decât 3% sunt acceptate conform metodologiei din ghidul ICH).

Specificitatea metodei a fost determinată în relație cu interferențele altor compuși din eșantioanele de urină. Specificitatea metodei pentru fenoterol, procaterol, clenbuterol și terbutalină a fost confirmată printr-o rezoluție bună a separării și fără interferențe de la constituenții din urină. În schimb pentru izoprenalină au existat interferențe cu constituenții din urină pentru ambele moduri de detecție, DPPH• și respectiv ABTS+•. Prin urmare acuratețea metodei a fost evaluată pentru fenoterol, procaterol, clenbuterol și terbutalină prin analiza probelor de urină cu cantități cunoscute de medicament, la două nivele de concentrație (0.50 μg/spot și 1.00 μg/spot).

Pentru metoda nou dezvoltată, studiul efectului de matrice și testul de recuperare pe probe reale s-a realizat prin adăugarea de amestecuri standard adecvate de fenoterol, procaterol, clenbuterol și terbutalină în probele de urină. Efectul de matrice a fost investigat prin compararea ariei spotului pentru proba de urină cu amestecuri standard adăugate de fenoterol, procaterol, clenbuterol și terbutalină cu aria spotului pentru soluția standard preparată la cele două nivele de concentrație (0.50 μg/spot și 1.00 μg/spot) pentru 6 spoturi replicate pentru fiecare concentrație. Rezultatele au relevat faptul că efectul de matrice în urină este neglijabil după două diluții repetate ale probelor de urină. Rezultatele parametrilor de recuperare au fost între 93% și 108%, metoda indicând o acuratețe bună pentru determinarea din urină a medicamentelor fenoterol, procaterol, clenbuterol și terbutalină.

5.4 CONCLUZII

O nouă metodă HPTLC, ecologică, care combină mai multe moduri de detecție cu analiza imaginii prin selecția diferitelor scale de culori a fost propusă pentru determinarea simultană a medicamentelor, fenoterol, procaterol, clenbuterol, terbutalină și izoprenalină.

Toți parametri de validare a metodei au fost corespunzători și au arătat că metoda nou dezvoltată este exactă și precisă pentru determinarea tuturor medicamentelor analizate.

Utilizarea soluției de reactiv ABTS+• și a scalei roșii pentru procesarea imaginii a dus la obținerea celor mai bune rezultate pentru fenoterol (LOD = 0.07±0.03 μg/spot), procaterol (LOD = 0.09±0.03 μg/spot) și terbutalină (LOD = 0.10±0.04 μg/spot), în timp ce utilizarea reactivului DPPH• și a scalei verzi pentru procesarea imaginii a dus la obținerea celor mai bune limite de detecție pentru izoprenalină (LOD = 0.06±0.02 μg/spot).

Specificitatea și acuratețea metodei noi dezvoltate a fost dovedită prin determinarea medicamentelor fenoterol, procaterol, clenbuterol și terbutalină din probe de urină.

Această metodă nou dezvoltată oferă rezultate fiabile și precise, prin urmare se poate concluziona că poate să fie o parte integrantă a analizelor medicamentelor și a testărilor antidoping.

CONCLUZII GENERALE

Medicamentele își exercită bioactivitatea prin modularea unor receptori specifici din creier, precum receptorii dopaminergici și serotoninergici. Medicamentele antipsihotice tipice blochează în principal receptorii dopaminergici, D₂. Medicamentele antipsihotice atipice acționează mai selectiv asupra receptorilor și ținesc mai mulți receptori inclusiv receptorii dopaminergici D₂ și receptorii serotoninergici.

Această diversitate în afinitatea de legare de receptori contribuie la efectul terapeutic și profilul de efecte adverse.

Receptorii de dopamină și serotonină sunt principalii receptori cuplați cu proteina G (GPCR) țintiți de medicamentele antipsihotice. Clozapina exercită cea mai puternică bioactivitate asupra receptorilor cuplați cu proteina G (GPCR) dintre toate medicamentele antipsihotice investigate.

Dintre parametri de biodisponibilitate investigați, aria suprafeței moleculare polare (TPSA) este invers corelată statistic cu scorul de bioactivitate al medicamentelor antipsihotice față de inhibitorii de kinază, în timp ce scorul de bioactivitate al acestor medicamente este direct corelat cu parametri pentru inhibitori de protează și liganzi ai receptorilor nucleari.

Corelații statistice semnificative au fost dezvăluite între parametri experimentali pentru lipofilitate, mR_M obținuți pe faze staționare modificate de RP-18, DIOL și CN. Pe baza corelațiilor semnificative ale acestor parametri experimentali cu liganzii de receptori nucleari și inhibitori de protează, se constată că lipofilitatea determinată experimental pe diferite tipuri de faze staționare este relevantă pentru predicția acțiunii acestor medicamente antipsihotice.

Activitatea față de inhibitorii de enzime poate fi estimată prin parametri experimentali de lipofilitate, mR_M și R_{M0} determinați pe fază staționară NH₂. Pe baza corelațiilor efectuate se poate concluziona că parametri de lipofilitate calculați pe diferite tipuri de faze staționare sunt instrumente utile pentru predicția bioactivității medicamentelor antipsihotice.

Au fost identificate 78 de principii active cu acțiune antipsihotică, cele mai frecvente fiind quercetina și rutinul. Pentru a evalua principalele clase chimice de principii active esențiale pentru efectul antipsihotic, acestea au fost grupate pe clase chimice. Pe baza evaluării efectuate se poate concluziona că majoritatea principiilor active cu acțiune antipsihotică aparțin claselor chimice flavonoide, alcaloizi, terpeni, lignani și acizi fenolici.

Dintre principiile active cu acțiune antipsihotică, scor de bioactivitate ridicat și care se regăsesc în plante disponibile în România, au fost identificate două plante medicinale și anume *Ginkgo biloba* și *Rosmarinus officinalis*.

Pe baza evaluării datelor din literatură privind mecanismelor de acțiune antipsihotică a *Ginkgo Biloba*, *Rozmarinus officialis*, a bioactivității calculate pentru principiile active cu acțiune antipsihotică și evaluate comparativ cu profilul de legare de receptori și activitate biologică a medicamentelor antipsihotice selectate, se poate concluziona că aceste principii active au un potențial promițător în tratamentul schizofreniei.

Ginkgo Biloba, prin principiile active, bilobalide, ginkgolide prezintă efect antioxidant, prin activitate neuroprotectoare și care suplimentează activitatea antipsihotică prin modularea receptorilor dopaminergici, corelat cu scorul de bioactivitate ridicat, prezintă potențial terapeutic atât ca și tratamentul adjuvant asociat medicamentelor antipsihotice, cât și în monoterapie pentru ameliorarea simptomelor schizofreniei.

Rozmarinus officialis prin principiile active cu acțiune antipsihotică acid carnosic și acid rozmarinic, datorită efectelor neuroprotectoare, psihostimulante, antidepresive și a scorului de bioactivitate ridicat, sugerează că rozmarinul se poate utiliza ca tratament adjuvant medicamentelor antipsihotice pentru ameliorarea simptomelor schizofreniei și de asemenea pentru reducerea efectelor adverse ale medicamentelor antipsihotice.

Rezultatele obținute din studiul principiilor active cu acțiune antipsihotică vor servi drept instrumente utile pentru continuarea cercetării în vederea determinării efectului antipsihotic al plantelor medicinale *Ginkgo Biloba*, *Rozmarinus officialis* și a medicamentelor antipsihotice.

O nouă metodă HPTLC, ecologică, care combină mai multe moduri de detecție cu analiza imaginii prin selecția diferitelor scale de culori a fost propusă pentru determinarea simultană a medicamentelor, fenoterol, procaterol, clenbuterol, terbutalină și izoprenalină.

S-a obținut o separare bună a medicamentelor analizate pe plăci HPTLC Silicagel 60F_{254S} utilizând ca și fază mobilă amestec de alcool izopropilic, acetat de etil și amoniac 20:25:1,5 (v/v/v). Cu excepția clenbuterolului (care a fost detectat numai în modul UV la lungimea de undă de 254 nm), medicamentele analizate au prezentat rezultate bune atât la reacția cu reactivii DPPH•, cât și cu ABTS+•. Parametri de performanță ai metodei arată că metoda dezvoltată este exactă și precisă pentru cuantificarea tuturor medicamentelor analizate.

Specificitatea și acuratețea metodei noi dezvoltate a fost dovedită prin determinarea medicamentelor fenoterol, procaterol, clenbuterol și terbutalină din probe de urină.

Această metodă nou dezvoltată oferă rezultate fiabile și precise, prin urmare se poate concluziona că poate să fie o parte integrantă a analizelor medicamentelor și a testărilor antidoping.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

1. Maroney M., An update on current treatment strategies and emerging agents for the management of schizophrenia, *Am J Manag Care*, 2020, 26:55-61, DOI: 10.37765/ajmc.2020.43012.
2. Piotr Stepnicki P., Magda Kondej M., Kaczor A.A., Current Concepts and Treatments of Schizophrenia, *Molecules*, 2018, 23:1-29, DOI:10.3390/molecules23082087
3. Fleischhacker W.W., Schizophrenia—Time to Commit to Policy Change, *Schizophr Bull*, 2014, 28:165–194, DOI: 10.1093/schbul/sbu006
4. Pratt C.W., Gill K.J., Barrett N.M, Roberts M.M., Symptoms and Etiology of Serious Mental Illness, *Psychiatr Rehabil*, 2014, 2: 34-72, DOI: 10.1016/B978-0-12-387002-5.00002-0
6. Patel K.R., Cherian J., Gohil K., Atkinson D., Schizophrenia: Overview and Treatment Options, *P T*, 2014, 39:638–645
7. Dazzan P. et al., Different Effects of Typical and Atypical Antipsychotics on Grey Matter in First Episode Psychosis: the ÆSOP Study, *Neuropsychopharmacol*, 2005, 30:765–774, DOI: 10.1038/sj.npp.1300603
8. Meltzer H.Y., Update on typical and atypical antipsychotic drugs, *Annu Rev Med*, 2013, 64:393-406, DOI: 10.1146/annurev-med-050911-16150
9. Abou-Setta A.M., Mousavi S.S., Spooner C., et al. First-Generation Versus Second-Generation Antipsychotics in Adults: Comparative Effectiveness, *Ann Intern Med*, 2012, 157:498-U100, DOI: 10.7326/0003-4819-157-7-201210020-00525
15. Lista medicamentelor din nomenclator- ANMDM, <https://www.anm.ro/nomenclator/medicamente>
17. M.J., Lipophilicity in drug discovery, *Expert Opin Drug Discov*, 2010, 5:235-48, DOI: 10.1517/17460441003605098
18. Adeyemo M.A., Balogun, F.J., Idowu, S.O, Lipophilicity Descriptors Correlate Uniquely with Pharmacokinetic and Blood-Brain Barrier Penetration Parameters for Selected Antipsychotic Drugs, *Afr J Biomed Res*, 2021, 24:173-179
23. Kempieńska D., State of the art and prospects of methods for determination of lipophilicity of chemical compounds, *TrAC*, 2019, 113: 54-73, DOI: 10.1016/j.trac.2019.01.011
25. Ciura K. et al., Study of the chromatographic behavior of selected antipsychotic drugs on RP-TLC based on quantitative structure–retention relationships, *JICS*, 2019, 16:1019–1027
30. Starek M., Assessment of Lipophilicity Descriptors of Selected NSAIDs Obtained at Different TLC Stationary Phases, *Pharmaceutics*, 2021,13:440, DOI: 10.3390/pharmaceutics13040440

31. Mannhold R. et al., Calculation of Molecular Lipophilicity: State-of-the-Art and Comparison of LogP Methods on more than 96,000 Compounds, *J Pharm Sci*, 2009, 98:861-893, DOI:10.1002/jps.21494
34. Barba-Ostria. C., et al., Evaluation of Biological Activity of Natural Compounds: Current Trends and Methods, *Molecules*, 2022, 27:4490, DOI: 10.3390/molecules27144490
36. Goh X.X. et al., Effects of antipsychotics on antioxidant defence system in patients with schizophrenia: A meta-analysis, *Psychiatry Res*, 2022, 309:114429 DOI: 10.1016/j.psychres.2022.114429
42. Shewiyo D.H et al, HPTLC methods to assay active ingredients in pharmaceutical formulations: A review of the method development and validation steps, *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 66:11-23, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.03.034>
43. Gowri R. et al., Evaluation of Antioxidant activity of Ethanolic extract of *Sphaeranthus amaranthoides* Burm.f, *Int J Drug Dev Res*, 2013, 5:320 – 329
44. Manu J., Mageshwaran L., Screening Methods for the Evaluation of Antipsychotic Drugs, *Intro Pharm and Toxicol*, 2022, 213 – 230, DOI: 10.1007/978-981-19-5343-9_16
45. Isimot T.A. et al., Antipsychotic Property of Methanol Crude Extract of *Peperomia pellucida* (L) Kunth. (Piperaceae) Whole Plant against Ketamine Induced Psychosis in Mice, *J Phytomed Therapeutics*, 2024, 23:1192 – 1206, DOI: 10.4314/jopat.v23i1.3
46. Jiao X. et al., Application of electrochemical sensors based on nanomaterials modifiers in the determination of antipsychotics, *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2022, 214, DOI: 10.1016/j.colsurfb.2022.112442
50. Kołaczowski M. et al., Antipsychotic, antidepressant, and cognitive-impairment properties of antipsychotics: Rat profile and implications for behavioral and psychological symptoms of dementia, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2014, 387:545 – 557, DOI: 10.1007/s00210-014-0966-4
51. Szasz M., Casoni D., Cimpoiu C., Study on binding affinity profile, bioactivity and lipophilicity of selected antipsychotic drugs, *J Liq Chromatogr & Relat Technol*, 2023, 1-6, DOI: 10.1080/10826076.2023.2216780
52. Molinspiration Cheminformatics. <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>.
53. Jafari S. et. al., Structural contributions of antipsychotic drugs to their therapeutic profiles and metabolic side effects, *J Neurochem*, 2012, 120:371-84, DOI: 10.1111/j.1471-4159.2011.07590.x
54. Siafis S., Tzachanisa D., Samara M., Papazisis G, Antipsychotic Drugs: From Receptor-binding Profiles to Metabolic Side Effects, *Curr Neuropsychopharmacol*, 2018, 16:1210-1223, DOI: 10.2174/1570159X15666170630163616

55. Casoni D., Sarbu C., Lipophilicity of Some Preservatives Estimated by RP-TLC Using Stationary Phases with Different Polarity, *Chromatographia*, 2009, 70:1277–1282, DOI: 10.1365/s10337-009-1265-y
56. Im D. et al., Structure of the dopamine D2 receptor in complex with the antipsychotic drug spiperone, *Nat Commun*, 2020, 11:6442, DOI: 10.1038/s41467-020-20221-0
67. Komatsu H., Novel Therapeutic GPCRs for Psychiatric Disorders, *Int J Mol Sci*, 2015, 16:14109-14121, DOI: 10.3390/ijms160614109
68. Strachan R.T., Ferrara G., Roth B.L., Screening the receptorome: an efficient approach for drug discovery and target validation, *Drug Discov Today*, 2006, 11:708-716, DOI: 10.1016/j.drudis.2006.06.012
69. Nikhil M., Nicholls P.J., Caron M.G, Integrated approaches to understanding antipsychotic drug action at GPCRs, *Curr Opin Cell Biol*, 2014, 27:56–62, DOI: 10.1016/j.ceb.2013.11.002
71. Sampietro D. A. et al., Isolation, Identification and Characterization of Allelochemicals/Natural Products, *Science Publishers*, 2009,154-155
74. Ajao A. A., Sabiu S., Balogun F. O., Adekomi D. A. and Saheed S. A., The Ambit of Phytotherapy in Psychotic Care, *Psychosis - Biopsychosocial and Relational Perspectives*, 2018, 4:69-87, DOI: 10.5772/intechopen.79547
75. Araújo da Silva A.R., Maia de Moraes S., Mendes Marques M. M., Ferreira de Oliveira D., Costa Barros C., Rafael de Almeida R., Pinto Vieira I.C., and Florindo Guedes M. I., Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of two Spondias species from Northeastern Brazil, *Pharm Biol*, 2012, 50:740–746, DOI: 10.3109/13880209.2011.627347
77. Dey A., Mukherjee A., Chaudhury M., Chapter 10 - Alkaloids from Apocynaceae: Origin, Pharmacotherapeutic Properties, and Structure-Activity Studies, *Stud Nat Prod Chem*, 2017, 52:373-488, DOI: 10.1016/B978-0-444-63931-8.00010-2
78. Magaji M. G., A. M. Musa A. M., Abdullahi M. I., Ya'u J., and I. M. Hussaini I. M., Isolation of bergenin from the root bark of *Securinega virosa* and evaluation of its potential sleep promoting effect, *Avicenna J Phytomed*, 2015, 5:587–596
82. Elisabetsky E., Chapter 11 - Traditional medicines and the new paradigm of psychotropic drug action, *Adv in Phytomed*, 2002, 1:133-144, DOI:10.1016/S1572-557X(02)80020-4
85. Thi N. Q. N., Duc L. T., Minh L. V. and Tien L.X., Phytochemicals and Antioxidant Activity of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Mentha aquatica* L., *IOP Conf Series: Mater Sci Eng*, 2020, 991: 012027, DOI: 10.1088/1757-899X/991/1/012027
86. Motallebi M. et al, A potential flavonoid phytochemical for cancer therapy, *Life Sciences*, 2022, 305, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120752>

87. Chakraborty A. et al, *Allium cepa*: A Treasure of Bioactive Phytochemicals with Prospective Health Benefits, *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022:4586318, DOI: 10.1155/2022/4586318
91. Sanjita D., Kumar P., Basu S.P, Phytoconstituents and therapeutic potentials of *Datura Stramonium*, *J Drug Deliv Ther*, 2012, 2:4-7
95. Siddique N. et al, Psychosis and antipsychotic plants an overview, *Inter J Indig Herbs Drugs*, 2022, 7:22-29, DOI: 10.46956/ijihd. v7i1.286
96. Xiao X., Xu X., Li F., Xie G., Zhang T., Anti-inflammatory treatment with β -asarone improves impairments in social interaction and cognition in MK-801 treated mice, *Brain Res Bulletin*, 2019, 150:150-159, DOI: 10.1016/j.brainresbull.2019.05.017
98. Yadav N. P., Chanotia C. S, Phytochemical and Pharmacological Profile of Leaves of *Aegle Marmelos* Linn, *Alt med/ Nutraceut*, 2009, 144-149
101. Abbas G., Naqvi S., Erum S., Ahmed S, Atta-ur-Rahman, Dar A., Potential antidepressant activity of *Areca catechu* nut via elevation of serotonin and noradrenaline in the hippocampus of rats, *Phytother Res*, 2013, 27:39-45, DOI: 10.1002/ptr.4674
105. Chesney E., Oliver D, McGuire P., Cannabidiol (CBD) as a novel treatment in the early phases of psychosis, *Psychopharmacol*, 2022, 239:1179–1190, DOI: 10.1007/s00213-021-05905-9.
106. Muscarà C. et al., Phytochemical characterization and biological properties of two standardized extracts from a non-psychotropic *Cannabis sativa* L. cannabidiol (CBD)-chemotype, *Phytother Res*, 2021, 35:5269–5281, DOI: 10.1002/ptr.7201
107. Kang SC, Lim SY, Song YJ., Lupeol is one of active components in the extract of *Chrysanthemum indicum* Linne that inhibits LMP1-induced NF- κ B activation, *PLoS One*, 2013, 8:e82688, DOI: 10.1371/journal.pone.0082688
108. Honk S.I. et al., Anxiolytic-Like Effects of *Chrysanthemum indicum* Aqueous Extract in Mice: Possible Involvement of GABAA Receptors and 5-HT_{1A} Receptors, *Biomol Ther (Seoul)*, 2012, 20:413–417, DOI: 10.4062/biomolther.2012.20.4.413
121. Deng H, Xu J, Yeung WF, *Ginkgo biloba* versus placebo for schizophrenia, *Cochrane Database Syst Rev*, 2017, 22, DOI:10.1002/14651858.CD012524
124. Ferrara M, Mungai F, Starace F. St John's wort (*Hypericum perforatum*)-induced psychosis: a case report, *J Med Case Rep*, 2017, 15:137. DOI: 10.1186/s13256-017-1302-7
125. Silva A.B., Ferreres F., Malva J.O., Dias A.C.P., Phytochemical and antioxidant characterization of *Hypericum perforatum* alcoholic extracts, *Food Chemistry*, 2005, 90:157–167, DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.03.049

131. Torres M.A.O et al., One Plant, Many Uses: A Review of the Pharmacological Applications of *Morinda citrifolia*, *Phytother Res*, 2017, 31:971-979, DOI: 10.1002/ptr.5817
137. Ahmed MN, Kabilul Azam MN. Traditional knowledge and formulations of medicinal plants used by the traditional medical practitioners of bangladesh to treat schizophrenia like psychosis, *Schizophr Res Treatment*, 2014, 679810, DOI: 10.1155/2014/679810
138. Kim K.J. et al., Piperidine alkaloids from *Piper retrofractum* Vahl. protect against high-fat diet-induced obesity by regulating lipid metabolism and activating AMP-activated protein kinase, *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 22:219-225, DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.06.153
139. Kandimalla R. et al., *Randia dumetorum* Lam. Leaf and Bark via Inhibition of Oxidative Stress and Inflammatory Cytokines, *Front Pharmacol Sec Ethnopharmacology*, 2016, 7:205, DOI: 10.3389/fphar.2016.00205
140. Li, Y., Pham, V., Bui, M. et al. *Rhodiola rosea* L.: an Herb with Anti-Stress, Anti-Aging, and Immunostimulating Properties for Cancer Chemoprevention. *Curr Pharmacol Rep*, 2017, 3:384–395, DOI: 10.1007/s40495-017-0106-1
141. Xie H., Shen C.Y., Jiang J.G., The sources of salidroside and its targeting for multiple chronic diseases, *J Funct Foods*, 2020, 64, DOI: 10.1016/j.jff.2019.103648
142. Hameed I.H., Cotos M.R.C., Hadi M.Y., A Review: *Solanum nigrum* L. Antimicrobial, Antioxidant properties, Hepatoprotective effects and Analysis of Bioactive Natural Compounds, *Research J Pharm and Tech*, 2017,10, DOI: 10.5958/0974-360X.2017.00737.5
145. Liang H, Chang X, Xia R, Wu W, Guo H, Yang M. Magnoflorine Attenuates Cerebral Ischemia-Induced Neuronal Injury via Autophagy/Sirt1/AMPK Signaling Pathway, *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 10:2131561
146. Kukula-Koch W., Kruk-Słomka M., Stępnik K., Szalak R., Biała G. The Evaluation of Pro-Cognitive and Antiamnestic Properties of Berberine and Magnoflorine Isolated from Barberry Species by Centrifugal Partition Chromatography (CPC), in Relation to QSAR Modelling, *Int J Mol Sci*, 2017, 24:2511.
147. Fachinetto R., Villarinho J.G., Wagner C., Pereira R.P., Avila D.S., Burger M.E., Calixto J.B., Rocha J.B., Ferreira J., *Valeriana officinalis* does not alter the orofacial dyskinesia induced by haloperidol in rats: role of dopamine transporter, *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2007, 1:1478-1486, DOI: 10.1016/j.pnpbp.2007.06.028
148. Benke D. et al., GABA A receptors as in vivo substrate for the anxiolytic action of valerenic acid, a major constituent of valerian root extracts, *Neuropharmacology*, 2009, 56:174-181, DOI: 10.1016/j.neuropharm.2008.06.013

150. Saleem S., Muhammad G., Hussain M.A., Altaf M., Bukhari S.N.A., *Withania somnifera* L.: Insights into the phytochemical profile, therapeutic potential, clinical trials and future prospective, *Iran J Basic Med Sci*, 2020, 23:1501-1526. DOI: 10.22038/IJBMS.2020.44254.10378.
151. Gannon J.M., Brar J., Rai A., Chengappa K.N.R., Effects of a standardized extract of *Withania somnifera* (Ashwagandha) on depression and anxiety symptoms in persons with schizophrenia participating in a randomized, placebo-controlled clinical trial, *Ann Clin Psychiatry*, 2019, 31:123-129
152. Sobhani Z., Nikoofal-Sahlabadi S., Amiri M.S., Ramezani M., Emami S.A., Sahebkar A. Therapeutic Effects of *Ziziphus jujuba* Mill. Fruit in Traditional and Modern Medicine: A Review. *Med Chem*, 2020, 16:1069-1088, DOI: 10.2174/1573406415666191031143553
154. Sharma V, Katiyar A, Agrawal R.C., *Glycyrrhiza glabra*: Chemistry and Pharmacological Activity, *Sweeteners*, 2017, 31:87–100, DOI: 10.1007/978-3-319-27027-2_21.
158. Ghasemzadeh R. M., Hosseinzadeh H., Therapeutic effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its active constituents on nervous system disorders, *Iran J Basic Med Sci*, 2020, 23:1100-1112, DOI: 10.22038/ijbms.2020.45269.10541
121. Deng H, Xu J, Yeung WF, *Ginkgo biloba* versus placebo for schizophrenia, *Cochrane Database Syst Rev*, 2017, 22, DOI:10.1002/14651858.CD012524
158. Ghasemzadeh R. M., Hosseinzadeh H., Therapeutic effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its active constituents on nervous system disorders, *Iran J Basic Med Sci*, 2020, 23:1100-1112, DOI: 10.22038/ijbms.2020.45269.10541
160. Urs N.M., Peter J., Nicholls P.J., Caron M.G., Integrated approaches to understanding antipsychotic drug action at GPCRs, *Curr Opin Cell Biol*, 2013, 14:56–62, DOI: 10.1016/j.ceb.2013.11.002
161. Sun D. et al, Effects of antipsychotic drugs and potassium channel modulators on spectral properties of local field potentials in mouse hippocampus and pre-frontal cortex, *Neuropharmacol*, 2021, 15:108572, DOI: 10.1016/j.neuropharm.2021.108572
162. Zhuang W., Mun S.Y., Park W.S., Direct effects of antipsychotics on potassium channels, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2025, 749, DOI: 10.1016/j.bbrc.2025.151344
163. Shnayder N.A, Abdyrakhmanova A.K., Nasyrova R.F., Oxidation of Antipsychotics, *Encyclopedia*, 2022, 2, DOI: 10.3390/encyclopedia2020064
164. Bükera E., Casoni D., Szasz M.C., Cobzac S.C.A., New method for rapid detection and simultaneous determination of prohibited adrenergic drugs in sports using thin layer chromatography and image processing, *J Liq Chromatogr & Relat Technol*, 2024, 47:360-367, DOI: 10.1080/10826076.2024.2386320

LISTA PUBLICAȚIILOR

- 1) **Szasz M**, Casoni D., Cimpoiu C., Study on binding affinity profile, bioactivity and lipophilicity of selected antipsychotic drugs, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2023, 1-6, DOI: 10.1080/10826076.2023.2216780
- 2) Bükér E., Casoni D., **Szasz M.**, Cobzac S.C.A., New method for rapid detection and simultaneous determination of prohibited adrenergic drugs in sports using thin layer chromatography and image processing, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* , 2024, 360-367, DOI:10.1080/10826076.2024.2386320

LISTA CONFERINȚELOR

- 1) **Melinda Szasz**, Dorina Casoni, Claudia Cimpoiu, The relationship between structure, lipophilicity and biological activity for antipsychotic drugs, Conferința Națională de Chimie, Călimanești – Căciulata, 04-07 Octombrie 2022, prezentare tip poster.
- 2) **Melinda Szasz**, Dorina Casoni, Claudia Cimpoiu, Similarity of structure and biological activity relationship between antipsychotic drugs and plants with antipsychotic effect, 4th Young Researchers' International Conference on Chemistry and Chemical Engineering (YRICCCE IV), Debrecen, Ungaria, 01-03 Iunie 2023, prezentare orală.
- 3) Dorina Casoni, **Melinda Szasz**, Ileana-Maria, Sensitive HPTLC Method for simultaneous determination of adrenergic drugs prohibited in sports, 27th International Symposium on Separation Sciences, Cluj-Napoca, România, 24-27 septembrie 2023, prezentare orală.