

UNIVERSITATEA “OVIDIUS” DIN CONSTANȚA

ȘCOALA DOCTORALĂ DE MEDICINĂ

DOMENIUL MEDICINĂ DENTARĂ

ANUL UNIVERSITAR 2020-2021

**„STUDIUL FARMACOLOGIC, FITOCHIMIC ȘI APLICAȚII
ALE SPECIEI *LYTHRUM SALICARIA* L. ÎN OPTIMIZAREA
METODELOR DE OBȚINERE A MEMBRANELOR
MUCOADEZIVE”**

Rezumatul tezei de doctorat

Conducător de doctorat :

Prof. univ. dr. Victoria Badea

Doctorand : **Rizea (Iancu) Irina Mihaela**

CONSTANȚA

2021



Student doctorand,
Farmacist Rizea (Iancu) Irina Mihaela

UNIVERSITATEA "OVIDIUS" DIN CONSTANȚA

ȘCOALA DOCTORALĂ DE MEDICINĂ

DOMENIUL MEDICINĂ DENTARĂ

ANUL UNIVERSITAR 2020-2021

**„STUDIUL FARMACOLOGIC, FITOCHIMIC ȘI APLICAȚII
ALE SPECIEI *LYTHRUM SALICARIA* L. ÎN OPTIMIZAREA
METODELOR DE OBȚINERE A MEMBRANELOR
MUCOADEZIVE”**

Rezumatul tezei de doctorat

Conducător de doctorat :

Prof. univ. dr. Victoria Badea

Doctorand : **Rizea (Iancu) Irina Mihaela**

CONSTANȚA

2021



Motto și dedicație,

„Natura ne aseamănă, educația ne deosebește” (Confucius)

Pentru fiica mea Sofia-Elena,

*Orice **VIS** devine realitate după multă muncă, perseverență, încredere în propriile tale forțe și cu sprijinul unor îngeri cu suflet mare...așa că nu uita să **VISEZI** înainte, să **CREZI** în tine și în îngerii tăi...pentru că **TU** poți transforma **VISUL** în **REALITATE**.*

Te iubesc buburuza mea!

*Și pentru Farmacist primar **Mihaela-Carmen Bâte**,*

O ursitoare și o zână bună, nașa mea de botez, care mă veghează mereu din ceruri și care mi-a transmis mai departe pe lângă numele ei sfânt și dragostea pentru această profesie nobilă.

Vei rămâne mereu în sufletele noastre!

Mulțumiri,

Doresc în primul rând să îi mulțumesc conducătorului meu de doctorat și anume Doamnei Profesor universitar dr. Victoria Badea pentru șansa unică acordată de a învăța, perfecționa, cerceta sub îndrumarea părintească, atentă și corectă a dânzei. Este un profesionist remarcabil și un om deosebit, care a crezut în mine și care m-a sprijinit în toate momentele grele. Fără călăuzirea și bunătatea doamnei nu aș fi ajuns în acest nemaipomenit moment al vieții mele.

De asemenea doresc să le mulțumesc referenților pentru timpul și răbdarea acordată în analiza cercetării cuprinse în teza mea de doctorat.

Gânduri de recunoștință profundă doresc să îi adresez Doamnei Decan al Facultății de Farmacie din Constanța, Conferențiar universitar dr. Laura Adriana Bucur, pentru pasiunea, profesionalismul și perseverența dânzei în ajutorul sincer și necondiționat primit.

De asemenea țin să îi mulțumesc Doamnei Prodecan al Facultății de Farmacie din Constanța, Conferențiar universitar dr. Denisa Elena Dumitrescu pentru sfaturile și încurajările din suflet dăruite.

Un om important în evoluția mea științifică și umană îl reprezintă Doamna Conferențiar universitar dr. Verginica Schroder, care a așezat o cărămidă la temelia tezei mele de doctorat, prin studiile lucrate împreună, care m-a adoptat și m-a primit în viața dânzei cu inima plină de speranță, optimism și iubire. Vă mulțumesc din suflet și sper să fiți mândră de mine mereu.

Cu mare drag aș mai aminti o persoană remarcabilă și anume Doamna Inginer chimist dr. Manuela Rossemay Apetroaei, care mi-a împrumutat din cunoștințele și timpul său introducându-mă în lumea fascinantă a biopolimerului chitosan, ajutându-mă astfel să găsesc aplicații ale extractului plantei *Lythrum salicaria* L. Vă sunt recunoscătoare pentru sprijinul și prietenia arătată.

Un gând de recunoștință îi adresez Doamnei Conferențiar universitar dr. Mariana Arcuș, această „enciclopedie a plantelor” așa cum îmi place să o numesc, care mi-a îndreptat cercetarea doctorală către



planta *Lythrum salicaria* L., răchitan, mi-a confirmat identitatea speciei luată în lucru și m-a ajutat la interpretarea microscopică a secțiunilor.

Nu aș fi ales drumul academic dacă nu aș fi primit oferta de a mă alătura unei familii deosebite, cea a Catedrei de Toxicologie a Facultății de Farmacie și anume Doamnei Profesor universitar dr. Eufemia Ștefănescu, Domnului Conferențiar universitar dr. Horațiu Mireșan și Laborantului Viița Botezan. Din anul 2009 au crezut în mine ca om și ca profesionist, m-au susținut și m-au ajutat să „cresc” alături de ei necondiționat, cu bunătate, înțelegere, încurajare, zâmbete și optimism. Nu am cuvinte prin care să exprim recunoștința și dragostea pe care o port în suflet pentru acești oameni extraordinari, familia mea academică.

Colaborare de succes am avut cu Domnul Conferențiar dr. Radu George Cazacincu, căruia aș dori să îi mulțumesc în mod special pentru promptitudine și pentru faptul că ne-a pus la dispoziție aparatura și oamenii dedicați cercetării din cadrul Fabricii de Medicamente *Magistra C&C* din Constanța în vederea analizelor necesare finalizării tezei de doctorat. Tot aici aș dori să le mulțumesc din suflet și colegilor de la Catedra de Tehnologie Farmaceutică și anume Domnișoarei Conferențiar universitar dr. Florentina Nicoleta Roncea și Domnului Asistent universitar dr. Valeriu Iancu, care au intervenit fructuos prin muncă și sprijin la realizarea unor analize tehnologice asupra extractului apos *Lythri herba*.

O altă colaborare minunată am avut cu echipa Institutului Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Științe Biologice București, Sucursala Centrul de Cercetări Biologice „Stejarul” Piatra Neamț și anume Dr. CS III Ruxandra-Mihaela Crețu, Dr. CS III Camelia-Paula Ștefănașe și Sr. CS III Aurică-Valentin Grigoraș, care au realizat într-un mod profesionist analiza fitochimică a extractului apos al plantei *Lythrum salicaria* L. și pentru care le sunt profund recunoscătoare.

Domnului Profesor universitar dr. Dumitru Lupuleasa, un adevărat mentor și model de conduită academică, aș dori să îi mulțumesc pentru sprijinul și îndrumarea acordată în toată această perioadă de formare.

Aș dori să le mulțumesc tuturor cadrelor didactice și auxiliare din cadrul Facultății de Farmacie Constanța, care m-au sprijinit de-a lungul timpului și m-au primit în colectivul lor unit.

Le mulțumesc părinților, Farmacist primar Vasile Rizea și Medic dentist Georgeta Rizea, pentru sprijinul necondiționat acordat, pentru educație, sfaturi și răbdare și bunicului meu, Droghist Toma Lăcătușu, care deși nu mai este printre noi, a plâns în ziua în care am fost admisă la Facultatea de Farmacie, îmbrățișând astfel meseria lui iubită. Le mulțumesc nașilor mei, familiei Huțu Elena și Mihai Ciprian, un alt model de familie de stomatologi unită și profesionistă, sorei mele medic dentist Petre Laura, socrilor mei familiei Iancu Emil și Nicoleta, prietenei mele de suflet farmacist Burdușel Emilia, finuțelor mele Morar Ana-Maria și Păun Ruxandra Irina Teodora și tuturor oamenilor dragi din viața mea, care mi-au fost alături „la bine și la greu”.

Iar familiei mele frumoase, Sofia-Elena și Valeriu, cei ce mă iubesc și se mândresc cu mine așa imperfectă cum sunt, în încheiere vreau să le transmit că Ei reprezintă cea mai mare realizare a mea și că fără înțelegerea, încurajarea și dragostea lor nu aș fi reușit să finalizez cercetarea. Vă iubesc!



CUPRINS

INTRODUCERE.....	6
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
CAPITOLUL 1 – PREZENTAREA GENERALĂ A SPECIEI <i>LYTHRUM SALICARIA</i> L..	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.1. SCURT ISTORIC PRIVIND UTILIZAREA SPECIEI <i>LYTHRUM SALICARIA</i> L..	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.2. <i>LYTHRUM SALICARIA</i> L. – PARTICULARITĂȚI BOTANICE.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.3. COMPOZIȚIA CHIMICĂ A SPECIEI <i>LYTHRUM SALICARIA</i> L.	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.4. ACTIVITATEA FARMACOLOGICĂ A SPECIEI <i>LYTHRUM SALICARIA</i> L.	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
CAPITOLUL 2 – ANALIZA FARMACOGNOSTICĂ A PRODUSULUI VEGETAL <i>LYTHRI HERBA</i>	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
2.1. OBȚINEREA PRODUSULUI VEGETAL <i>LYTHRI HERBA</i>	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
2.2. EXAMINAREA MACROSCOPICĂ A PRODUSULUI VEGETAL <i>LYTHRI HERBA</i>	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
2.3. EXAMINAREA MICROSCOPICĂ A PRODUSULUI VEGETAL <i>LYTHRI HERBA</i>	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
2.4. CONCLUZII PRELIMINARE	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
CAPITOLUL 3 – STUDIU CHIMIC CALITATIV AL PRODUSULUI VEGETAL <i>LYTHRI HERBA</i> ..	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
3.1. IDENTIFICAREA TANINURILOR ȘI A ANTOCIANOZIDELOR	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
3.2. DETERMINAREA ACIZILOR FENOLICI, FLAVONOIDELOR ȘI TANINURILOR PRIN METODA CROMATOGRAFIEI ÎN STRAT SUBȚIRE (CSS)	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
3.3. CONCLUZII PRELIMINARE	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
CAPITOLUL 4 - DETERMINAREA CALITĂȚII PRODUSULUI VEGETAL <i>LYTHRI HERBA</i>	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
4.1. DETERMINĂRI PRELIMINARE	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
4.2. DETERMINAREA CONȚINUTULUI ÎN PRINCIPII ACTIVE DIN EXTRACTUL APOS FLUID AL PRODUSULUI VEGETAL <i>LYTHRI HERBA</i>	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
4.3. DETERMINAREA CAPACITĂȚII ANTIOXIDANTE A EXTRACTULUI APOS FLUID <i>LYTHRI HERBA</i>	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
4.4. DETERMINAREA CONȚINUTULUI ÎN PRINCIPII ACTIVE DIN EXTRACTUL APOS LIOFILIZAT AL PRODUSULUI VEGETAL <i>LYTHRI HERBA</i>	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
4.5. CONCLUZII PRELIMINARE	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
CAPITOLUL 5 - ANALIZA CITOTOXICITĂȚII EXTRACTELOR DIN PRODUSUL VEGETAL <i>LYTHRI HERBA</i>	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
5.1. INTRODUCERE.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
5.2. IPOTEZA DE LUCRU	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
5.3. MATERIAL ȘI METODĂ	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
5.4. REZULTATE ȘI DISCUȚII.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
5.5. CONCLUZII PRELIMINARE	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
CAPITOLUL 6 – APLICAȚII ALE EXTRACTULUI APOS LIOFILIZAT – OBȚINEREA DE MEMBRANE MUCOADEZIVE PRIN COMBINAȚII ALE EXTRACTULUI DE <i>LYTHRI HERBA</i> CU BIOPOLIMERUL CHITOSAN.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
6.1. INTRODUCERE.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
6.2. IPOTEZA DE LUCRU	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
6.3. MATERIAL ȘI METODĂ	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.



6.4.	REZULTATE ȘI DISCUȚII.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
6.5.	CONCLUZII PRELIMINARE	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

CAPITOLUL 7 – STUDIU COMPLET PRIVIND ACTIVITĂȚILE ANTIBACTERIANĂ ȘI ANTIFUNGICĂ PENTRU EXTRACTUL APOS LIOFILIZAT DE <i>LYTHRI HERBA</i> ȘI PENTRU MEMBRANE		ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
--	--	------------------------------

7.1.	INTRODUCERE.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
7.2.	MATERIAL ȘI METODĂ	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
7.3.	REZULTATE	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
7.4.	DISCUȚII	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
7.5.	CONCLUZII PRELIMINARE	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

CAPITOLUL 8 – EVALUAREA GENOTOXICITĂȚII EXTRACTULUI APOS AL PRODUSULUI VEGETAL <i>LYTHRI HERBA</i> PRIN METODA SOS-CHROMO TEST.....		ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
--	--	------------------------------

8.1.	INTRODUCERE.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
8.2.	IPOTEZA DE LUCRU	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
8.3.	MATERIAL ȘI METODĂ	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
8.4.	REZULTATE ȘI DISCUȚII.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
8.5.	CONCLUZII PRELIMINARE	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

CAPITOLUL 9 – EVALUAREA ACTIVITĂȚII HEMOLITICE A MEMBRANELOR DE CHITOSAN STANDARD CU EXTRACTUL APOS DE <i>LYTHRI HERBA</i>		ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
---	--	------------------------------

9.1.	INTRODUCERE.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
9.2.	IPOTEZA DE LUCRU	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
9.3.	MATERIAL ȘI METODĂ	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
9.4.	REZULTATE ȘI DISCUȚII.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
9.5.	CONCLUZII PRELIMINARE	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

CAPITOLUL 10 – CONCLUZII GENERALE		ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
---	--	------------------------------

CAPITOLUL 11 – ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI.....		ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
---	--	------------------------------

REFERINȚE	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
-----------------	------------------------------

INDEX DE FIGURI ÎN TEXT	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
-------------------------------	------------------------------

INDEX DE TABELE ÎN TEXT	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
-------------------------------	------------------------------

INDEX DE GRAFICE ÎN TEXT	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
--------------------------------	------------------------------

LISTA CU ABREVIERILE FOLOSITE ÎN CADRUL TEZEI DE DOCTORAT		ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
---	--	------------------------------

LISTA CU LUCRĂRI PUBLICATE ÎN DOMENIUL TEZEI DE DOCTORAT		ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
--	--	------------------------------

CUVINTE CHEIE: *LYTHRUM SALICARIA* L., EXTRACT APOS LIOFILIZAT, CHITOSAN, MEMBRANE MUCOADEZIVE, *ARTEMIA SALINA* L., ACTIVITATE ANTIBACTERIANĂ, GENOTOXICITATE, ACTIVITATE HEMOLIZANTĂ



INTRODUCERE

Este cunoscut faptul că plantele nu se pot apăra prin fugă sau prin folosirea de arme active atunci când sunt atacate de ierbivore, fie că sunt moluște, viermi, insecte sau vertebrate. Sub atacul bacteriilor, specia umană beneficiază de apărare în baza sistemului imun înăscut și dobândit. Un astfel de sistem imunitar nu există la plante. Cu toate acestea, plantele sunt de peste 400 de milioane de ani pe această planetă și au supraviețuit, deși s-au aflat sub atacul ierbivorilor și bacteriilor. Mii de metaboliți secundari diferiți structural au evoluat aparent în timpul dezvoltării plantelor, ca mijloc pentru ca plantele să se apere de ierbivori și de bacterii, ciuperci și virusuri [1-5]. Unii metaboliți secundari servesc de asemenea pentru atragerea animalelor și insectelor polenizatoare sau pentru protecția împotriva razelor ultra-violete. Din punct de vedere al farmacologiei evolutive, metaboliții secundari ai plantelor reprezintă o bibliotecă interesantă de compuși bioactivi filtrați prin selecție naturală, care au fost folosiți de oameni pentru a trata infecțiile și alte probleme de sănătate, sau ca și condimente, parfumuri, otrăvuri pentru săgeți, toxine și pesticide [6]. Astfel valorificarea plantelor a condus la apariția primei forme de medicină și anume medicina tradițională sau fitoterapia.

Plantele au jucat mereu un rol esențial în viața omului, fiind capabile să amelioreze sau să trateze diverse afecțiuni simple sau severe. În zilele noastre observăm o tendință pregnantă de a integra medicina tradițională în medicina modernă și de a introduce pe piață odată cu produsele farmaceutice de sinteză un număr mare de produse de origine vegetală. Acest interes crescut de a ne întoarce la resursele naturale și de a le valorifica la maxim a stat la baza alegerii acestei teme. Igiena orală precară, tratamentul incomplet sau incorect efectuat și abuzul de antibiotice au dus la dezvoltarea rezistenței bacteriene cu apariția tulpinilor bacteriene multirezistente la agenții chimioterapici existenți pe piața farmaceutică actuală și la eradicarea mai dificilă a speciilor bacteriene patogene.

Lythrum salicaria L. este o specie întâlnită sub numele de răchitan sau floarea zânei în flora din România, cunoscută la nivel mondial încă din antichitate pentru proprietățile ei benefice astringente și



hemostatice în cazuri de diaree, boli hemoroidale și hemoragii [7-8]. Produsul vegetal *Lythri herba* a fost înregistrat în European Pharmacopoeia în anul 2001, iar conform monografiei sale standardizarea cantitativă a *Lythri herba* se bazează pe determinarea conținutului total de tanin, care ar trebui să fie de cel puțin 5 % pe masa uscată [9]. Studiile anterioare efectuate pe produsul vegetal *Lythri herba* au evidențiat că prezintă activitate antioxidantă, antiinflamatorie, anti-nociceptivă și hemostatică [10-11], activități *in vitro* antibacteriene și fungistatice [7, 12-13], pe modele animale prezintă efecte hipoglicemizante [8] și are efecte modulatorii asupra compoziției microbiotei intestinale prin metaboliții săi postbiotici (urolitine) [14].

Cunoscând valoarea terapeutică pe care o deține extractul produsului vegetal *Lythri herba* actualul studiu își propune realizarea unei forme farmaceutice cu aplicabilitate în patologia cavității orale.

Există un interes crescut științific pentru dezvoltarea filmelor biodegradabile prin metode elementare și facile. Filmele cu biopolimeri au devenit o alegere foarte populară datorită multor avantaje diferite. Biopolimerii sunt polimeri naturali biodegradabili, utilizați în medicina regenerativă, în materialele implantabile, în sistemele de administrare a medicamentelor („cărăuși,”) sau ca și țesuturi artificiale pentru ingineria tisulară. Polimerii naturali, cum ar fi celuloza, chitina, chitosanul, gelatina și alginatul sunt utilizate pe scară largă în toate domeniile medicale [15-17].

În vederea realizării unei forme farmaceutice s-a luat în calcul chitosanul, cunoscut ca un biopolimer cationic indispensabil în utilizarea sa ca purtător de substanțe terapeutice, datorită naturii sale netoxice, biodegradabile, biocompatibile, antibacteriene și antioxidante [18]. Totodată s-au luat în calcul și aspectele disponibilității abundente și a costului redus ale chitosanului, aspecte atractive pentru diverse domenii din industria alimentară, medicală și farmaceutică [19]. Unele dintre cele mai recente studii evaluează membranele pe bază de chitosan în care au fost încorporate extracte de plante [20] sau metaboliți secundari ai acestora [21-22], tocmai datorită capacității foarte bune a chitosanului de a forma membrane [23].

O altă proprietate importantă a lui este mucoadezivitatea, explicată prin capacitatea acestuia de a interacționa cu mucinele încărcate negativ prin atracție electrostatică [24], deoarece chitosanul este unica polizaharidă din lume încărcată pozitiv prin prezența grupărilor amino în structura sa chimică [19]. Un alt mare avantaj pe care îl prezintă chitosanul este vasta lui aplicabilitate în diversele domenii ale medicinei dentare, pornind de la prevenție și ajungând până la ramura de top și anume chirurgia buco-maxilo-facială. [25].

Dat fiind cele mai sus prezentate scopul studiului a fost realizarea de membrane din soluții slab acide de chitosan standard în care s-a înglobat extractul apos liofilizat de *Lythri herba* în diferite concentrații. Studiile următoare efectuate au testat biocompatibilitatea, citotoxicitatea și genotoxicitatea



extractului apos al produsului vegetal *Lythri herba*, precum și capacitatea hemolizantă a acestor membrane de chitosan standard impregnate cu extractul apos al speciei vegetale luate în lucru.

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Această parte a tezei de doctorat cuprinde un capitol de prezentare generală a speciei vegetale *Lythrum salicaria* L., răchitan. Am adunat date din literatura de specialitate pornind de la istoricul utilizărilor terapeutice ale speciei vegetale *Lythrum salicaria* L., particularitățile botanice, compoziția chimică și proprietățile farmacologice ale acesteia.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Această parte a tezei cuprinde opt capitole de cercetare multidisciplinară, în care s-au completat informații și metode de lucru din farmacognozie, microbiologie, toxicologie și genetică. Partea personală a prezentat studii precum:

1. analiza farmacognostică, chimică calitativă și cantitativă a produsului vegetal *Lythri herba*,
2. analiza citotoxicității extractelor produsului vegetal *Lythri herba*,
3. aplicații ale extractului apos liofilizat al produsului vegetal *Lythri herba* – obținerea membranelor mucoadezive prin combinații de biopolimer chitosan și extractul de *Lythri herba*,
4. analiza activității antibacteriene și antifungice ale extractului apos de *Lythri herba* și membrane,
5. evaluarea genotoxicității extractului apos al produsului vegetal *Lythri herba* prin metoda SOS-CHROMO TEST,
6. evaluarea activității hemolitice a membranelor de chitosan standard cu extractul apos de *Lythri herba*.

STUDIUL 1. ANALIZA FARMACOGNOSTICĂ, CHIMICĂ CALITATIVĂ ȘI CANTITATIVĂ A PRODUSULUI VEGETAL *LYTHRI HERBA*

1.1. Obținerea produsului vegetal

Materialul vegetal (vârfurile florale ale speciei *Lythrum salicaria* L.) a fost recoltat în luna august a anului 2019 din zona Hanul Piraților, Năvodari, județul Constanța, unde planta crește spontan. După recoltare materialul vegetal a fost curățat de impurități, apoi câteva exemplare au fost păstrate în alcool



70 %, pentru efectuarea secțiunilor transversale, iar restul de material a fost uscat la temperatura camerei, ferit de razele soarelui, pentru a fi folosit în analizele fitochimice viitoare.

1.2. Examinarea macroscopică și microscopică a produsului vegetal *Lythri herba*

1.2.1. Material și metodă

Materialul de lucru este reprezentat de somitățile florale (*Lythri herba*) ale speciei *Lythrum salicaria* L., la care s-a examinat cu ochiul liber sau cu lupa (analiza macroscopică) și cu ajutorul microscopului Novex-Holland (analiza microscopică în secțiuni și pulbere) a tulpinii, frunzei și florii.

1.2.2. Rezultate și discuții

Atât prin examinarea macroscopică, cât și prin examinarea microscopică în secțiuni și pulbere s-au identificat elemente specifice părții aeriene a produsului vegetal *Lythri herba*, stabilindu-se astfel identitatea speciei vegetale luată în lucru și anume *Lythrum salicaria* L., aspect confirmat și de dna conferențiar universitar dr. Arcuș Mariana, șef al Catedrei de Botanică Farmaceutică a Facultății de Farmacie din Constanța.

1.3. Analiză chimică calitativă a produsului vegetal *Lythri herba*

1.3.1. Material și metodă

Soluțiile extractive ale produsului vegetal *Lythri herba* au fost supuse reacțiilor de identificare comune și/sau specifice fiecărui grup de principii active urmărit și metodei de separare de tipul Cromatografiei pe Strat Subțire (CSS).

1.3.2. Rezultate și discuții

Rezultatul **identificărilor** arată că sunt prezente *taninurile galice*, datorită apariției culorii albastre în reacția cu clorura de fier (III) și *antocianozidele* prin apariția culorii roșii în reacția specifică de viraj a culorii în funcție de pH.

Rezultatele metodei **de Cromatografie în Strat Subțire (CSS)** au pus în evidență compuși din clasa *acizilor fenolici*, din clasa *flavonoidelor* și din clasa *taninurilor*.

1.4. Analiza chimică cantitativă a produsului vegetal *Lythri herba*

1.4.1. Determinarea pierderii prin uscare a plantei *Lythrum salicaria* L.

➤ Material și metodă

Materialul vegetal folosit este reprezentat de vârfurile florale uscate și pulverizate, iar metoda utilizată pentru această determinare preliminară este prevăzută atât în Farmacopeea Europeană ediția 10.0 [106], cât și în Farmacopeea Română ediția a X-a [115].

➤ Rezultate și discuții



Valoarea determinării pierderii prin uscare este foarte importantă, deoarece toate determinările ulterioare se vor raporta la masa de produs vegetal uscat. Valoarea obținută în acest studiu s-a încadrat în limitele impuse în prevederile Farmacopeei Europene ediția 10.0 [106].

1.4.2. Determinarea rezidului prin calcinare

➤ Material și metodă

Materialul vegetal folosit este reprezentat de vârfurile florale uscate și pulverizate, iar metoda utilizată pentru această determinare preliminară este prevăzută în Farmacopeea Europeană ediția 10.0 [106].

➤ Rezultate și discuții

Valoarea obținută se încadrează în prevederile monografiei Farmacopeei Europene ediția 10.0 a cantității procentuale de cenușă pentru produsul vegetal *Lythri herba* [106].

1.4.3. Determinarea substanțelor solubile în apă și în metanol 50 %

➤ Material și metodă

Materialul vegetal folosit în această determinare este reprezentat de vârfurile florale uscate și pulverizate din produsul vegetal *Lythri herba*, iar metoda este oficială în Farmacopeea Română ediția a X-a [115].

➤ Rezultate și discuții

Deoarece orientarea cercetării este spre un produs de uz oral și având în vedere diferența mică între substanțele solubile în apă și substanțele solubile în metanol 50 %, se impune în continuare utilizarea apei ca solvent principal de extracție.

1.4.4. Determinarea conținutului în principii active ale produsului vegetal *Lythri herba*

1.4.4.1. Determinarea conținutului de polifenoli totali

➤ Material și metodă

Materialul vegetal folosit este reprezentat de vârfurile florale uscate și pulverizate din produsul vegetal *Lythri herba*, iar metoda este adaptată după metoda oficială din Farmacopeea Europeană 10.0 pentru dozarea taninurilor [106].

Principiul metodei: este o metodă colorimetrică ce se bazează pe determinarea intensității colorației albastre a oxizilor de molibden formați prin reducerea de către polifenoli a reactivului Folin-Ciocalteu (acidul fosfomolibdowolframic).

➤ Rezultate și discuții



Valoarea obținută de polifenoli totali este cu mult mai mare decât valoarea standard din prevederile FR X pentru produsul vegetal *Cynarae folium* și justifică continuarea cercetării cu determinarea conținutului în alți compuși [115].

1.4.4.2. Determinarea conținutului de taninuri

➤ Material și metodă

Materialul vegetal folosit este reprezentat de vârfurile florale uscate și pulverizate din *Lythri herba*, iar metoda colorimetrică prin diferență utilizată este o metodă oficială în Farmacopeea Europeană ediția 10.0 [106].

Principiul metodei. Se determină intensitatea colorației albastre a oxizilor de molibden formați prin reducerea de către polifenoli a reactivului Folin-Ciocalteu (acidul fosfomolibdowolframic) înainte și după absorbția taninurilor pe pulbere de piele.

➤ Rezultate și discuții

Valoarea obținută de taninuri obținută se încadrează în prevederile Farmacopeii Europene ediția 10.0 de minim 5 % taninuri pentru produsul vegetal *Lythri herba* și justifică continuarea cercetării cu determinarea altor compuși naturali de interes [106].

1.4.4.3. Determinarea conținutului de antocianozide

➤ Material și metodă

Materialul vegetal folosit este reprezentat de vârfurile florale uscate și pulverizate din produsul vegetal *Lythri herba* și am utilizat metoda colorimetrică, fiind o metodă oficială în Farmacopeea Europeană ediția 10.0 [106].

Principiul metodei: Se determină intensitatea colorației roșii a sării de oxoniu pe care o formează antocianozidele în mediu acid. Intensitatea colorației roșii este direct proporțională cu conținutul în antocianozide exprimat în 3-glucozida cianidolului.

➤ Rezultate și discuții

Valoarea obținută de antocianozide se încadrează în prevederile Farmacopeii Europene ediția 10.0 prevăzută la produsul vegetal *Myrtilli fructus recens*, specie considerată etalon prin conținutul de minim 0,3 % de antociani exprimați în 3-glucozida cianidolului [106].

1.4.4.4. Determinarea conținutului de acizi polifenolcarboxilici

➤ Material și metodă

Materialul vegetal folosit este reprezentat de vârfurile florale uscate și pulverizate de *Lythri herba*, iar metoda colorimetrică folosită este oficială în Farmacopeea Europeană ediția 10.0 [106].



Principiul metodei: metoda se bazează pe proprietatea acizilor polifenolcarboxilici și a derivaților acestora de a forma cu acidul azotos nitrozoderivați, care se izomerizează spontan la izonitrozoderivați (oxime) care, datorită caracterului lor slab acid, reacționează cu soluții alcaline formând compuși de culoare roșie.

➤ Rezultate și discuții

Valoarea obținută nu se încadrează în prevederile Farmacopeii Europene ediția 10.0 prevăzută la produsul vegetal *Plantaginis lanceolatae folium*, considerată a fi o specie vegetală etalon pentru un conținut de minimum 1,5 % în derivați totali ai acidului *o*-dihidroxicinamic exprimați în acetozidă [106].

1.4.4.5. Determinarea conținutului de poliholozi brute

➤ Material și metodă

Materialul de lucru este reprezentat de extractele apoase fluide și alcoolice ale produsului vegetal *Lythri herba*, iar metoda de lucru este reprezentată de metoda gravimetrică.

➤ Rezultate și discuții

Analiza gravimetrică a evidențiat un conținut foarte ridicat în poliholozi brute, cea mai mare cantitate fiind prezentă în extractul apos fluid, iar cea mai redusă cantitate a fost evidențiată pentru extractul etanolic 70 %..

1.4.5. Determinarea capacității antioxidante a extractului apos fluid *Lythri herba*

➤ Material și metodă

Materialul vegetal folosit este reprezentat de vârfurile florale uscate și pulverizate ale plantei *Lythrum salicaria* L., din Dobrogea, România, iar metoda utilizată este metoda DPPH (1,1'-difenil-2-picril-hidrazil).

➤ Rezultate și discuții

Rezultatele obținute reprezintă mediile aritmetice a trei măsurători efectuate; valorile obținute la captarea radicalilor liberi DPPH arată o relație direct proporțională între capacitatea antioxidantă și concentrația soluțiilor. Extractul apos fluid a avut capacitatea de scavenger de radical DPPH mare, iar valoarea IC₅₀ (concentrația inhibitorie pentru 50 % din radicalii DPPH) a produsului vegetal *Lythri herba* obținut de la specia *Lythrum salicaria* L. din România se încadrează în intervalele regăsite în literatura de specialitate internațională.

1.4.6. Determinarea conținutului în principii active ale extractului apos liofilizat al produsului vegetal *Lythri herba*

➤ Material și metodă



Materialul vegetal folosit este reprezentat de vârfurile florale ale speciei *Lythrum salicaria* L. uscate și pulverizate în prealabil, iar metoda de lucru pentru obținerea extractului apos liofilizat este reprezentată de concentrarea extractului cu ajutorul rotavaporului BUCHI R-215, urmată de uscare prin criodesicare cu ajutorul liofilizatorului CHRIST ALPHA 1-2 B.

Metodele de lucru și formulele de calcul folosite pentru determinările pierderii prin uscare, a conținutului în polifenoli totali, în taninuri și în poliholozide brute au fost expuse anterior în subcapitolele 1.4.1., 1.4.4.1., 1.4.4.2. și 1.4.4.5.. Pentru determinarea pierderii prin uscare au fost efectuate trei cântăriri (**P1, P2, P3**), iar valoarea finală este media aritmetică a valorilor obținute, la care s-a calculat deviația standard.

➤ Rezultate și discuții

La finalul procedurii de liofilizare s-a obținut o cantitate semnificativă de extract apos liofilizat de *Lythri herba*, care a fost transferat într-un flacon de sticlă cu dop etanș și depozitată într-un exsicator până la următoarele determinări.

Rezultatele determinărilor nu au demonstrat diferențe semnificative privind compoziții active identificate în cele două extracte; avantajele stabilității în timp și manevrabilității facile, pe care le prezintă extractul apos liofilizat, susțin utilizarea acestuia în determinările și testările ulterioare.

STUDIUL 2. ANALIZA CITOTOXICITĂȚII EXTRACTELOR PRODUSULUI VEGETAL *LYTHRI HERBA*

2.1. Ipoteza de lucru

Ipoteza de lucru este aceea că atât extractul apos, cât și cel alcoolic al produsului vegetal *Lythri herba*, din Dobrogea, nu are potențial citotoxic. Scopul acestui studiu este acela de a valorifica rezultatele obținute în diverse aplicații biomedicale.

2.2. Material și metodă

Materialul de lucru a constat în soluțiile extractive apoase și alcoolice ale produsului vegetal *Lythri herba*, iar metoda de lucru a fost reprezentată de testul BSLA (Brine Shrimp Lethality Assay), realizat conform protocolului EBPI (Environmental Bio-Detection Products Inc) cu modificări în ceea ce privește proba control și conform protocolului de toxicitate (Artoxkit M).

2.3. Rezultate și discuții

Conform criteriului de toxicitate a lui Clarkson se remarcă non-toxicitate atât pentru extractul apos de *Lythri herba*, cât și pentru extractul alcoolic, iar mortalitatea naupliilor este corelată cu doza



(concentrația), cât și cu timpul de acțiune al extractului asupra organismului testat. Valorile toxicității induse, exprimate prin concentrația letală (LC_{50}) au fost sub nivelele de toxicitate, conform criteriului de toxicitate a lui Clarkson. Rezultatele observațiilor directe asupra larvelor expuse la concentrații diferite ale extractelor evaluate evidențiază diferențele de manifestare la nivel citologic. Efectul evidențiat (în cazul BSLA efectul cuantificat este mortalitatea) indică interacțiunea dintre mecanismele celulare și compoziția complexă a extractului.

STUDIUL 3. APLICAȚII ALE EXTRACTULUI APOS LIOFILIZAT AL PRODUSULUI VEGETAL *LYTHRI HERBA* – OBȚINEREA MEMBRANELOR MUCOADEZIVE PRIN COMBINAȚII DE BIOPOLIMER CHITOSAN ȘI EXTRACTUL DE *LYTHRI HERBA*

3.1. Ipoteza de lucru

Ipoteza de lucru a acestui studiu a fost că membranele din chitosan standard 1 % solubilizat în acid acetic și în acid lactic combinate cu extractul apos din *Lythrum salicaria* L. ar putea avea proprietăți biologice, ce ar permite utilizarea lor în practica medicinei dentare.

3.2. Material și metodă

S-au folosit ca materiale de lucru extractul apos liofilizat al produsului vegetal *Lythri herba* și biopolimerul chitosan, iar ca metode de lucru am folosit o adaptare a metodei de lucru a lui Al-Dhubiab et al (2016) [190] cu formula de calcul a lui Nair et al (2013) [191] pentru a evidenția gradul de hidratare al membranelor și microscopia prin epifluorescență (Optika Microscopes Italy, Series B-350, model B-353LD2) pentru evidențierea dispunerii extractului în matricea de chitosan.

3.3. Rezultate și discuții

S-au obținut în primă absolută membrane cu proprietăți mucoadezive din combinațiile chitosanului standard 1 % solubilizat în acid acetic și acid lactic cu extractul apos liofilizat al produsului vegetal *Lythri herba* de diferite concentrații.

Gradul de hidratare (%) al ambelor tipuri de membrane a pus în evidență capacitățile acestora de a menține hidratarea, stabilitatea și flexibilitatea constante în timp.

Examinarea microscopică prin epifluorescență a confirmat prezența chitosanului în membrane, deoarece acesta are capacitatea de a emite autofluorescență la lungimile de undă specifice și a dat detalii clare în ceea ce privește uniformitatea structurală a membranelor. Lipsa uniformității în structura membranei obținute prin solubilizarea chitosanului în acid lactic 1 % în care s-a încorporat extractul



apos de *Lythri herba* a dus la decizia de a continua cercetarea doar pe membrana de chitosan standard solubilizat în acid acetic 1 %.

STUDIUL 4. ANALIZA ACTIVITĂȚII ANTIBACTERIENE ȘI ANTIFUNGICE ALE EXTRACTULUI APOS DE *LYTHRI HERBA* ȘI MEMBRANE

4.1. Ipoteza de lucru

Ipoteza de lucru a acestui studiu a constatat în demonstrarea proprietăților antibacteriene și antifungice ale extractului apos liofilizat și a membranelor obținute din chitosan și extract apos de *Lythri herba*.

4.2. Material și metodă

Studiul bacteriologic propus în cadrul tezei de doctorat s-a împărțit în două etape folosind ca metodă de lucru o adaptare a metodei difuzimetrice.

În prima etapă s-a testat extractul liofilizat apos al produsului vegetal *Lythri herba* pe tulpini bacteriene și fungice de referință liofilizate, stabilizate și viabile de tipul American Type of Culture Collection (ATCC).

Cea de-a doua etapă a studiului a constatat în testarea extractului apos liofilizat și a membranelor acestuia cu biopolimerul chitosan pe tulpini bacteriene izolate din produse patologice prelevate din cavitatea bucală, cavitatea faringiană și conductul auditiv extern (dentina ramolită din carii dentare, secreție purulentă din alveolita post-extracțională, secreție otică, fluid gingival prelevată de la un purtător de lucrări protetice fixe).

4.3. Rezultate și discuții

Rezultatele primei etape a studiului a demonstrat că extractul apos 5 % al produsului vegetal *Lythri herba* a prezentat proprietăți antibacteriene față de speciile bacteriene *Enterococcus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* și activitate antifungică pentru ambele tulpini testate, *Candida albicans* și *Candida parapsilosis*.

În etapa a doua a studiului rezultatele au demonstrat activitate antibacteriană moderată a extractului apos 5 % pentru *Streptococcus mutans*, activitate antibacteriană și antifungică înaltă pentru *Staphylococcus aureus* și *Candida albicans* și rezistență totală pentru *Escherichia coli*. Termostatarea la 37 °C timp de 24 de ore a produs deshidratarea membranelor de chitosan și s-a creat posibilitatea ca principiile active să nu difuzeze din membrană în mediile de cultură; această observație este susținută



de faptul că extractul apos de 5 % al produsului vegetal *Lythri herba* testat separat are efect antibacterian demonstrat.

STUDIUL 5. EVALUAREA GENOTOXICITĂȚII EXTRACTULUI APOS AL PRODUSULUI VEGETAL *LYTHRI HERBA* PRIN METODA SOS-CHROMO TEST

5.1. Ipoteza de lucru

Ipoteza de lucru este că extractul apos din *Lythrum salicaria* L. nu prezintă genotoxicitate. La fel ca și studiile de citotoxicitate, testul de genotoxicitate asupra extractului apos obținut din vârfurile florale ale speciei *Lythrum salicaria* L. și combinat cu soluții de chitosan au fost efectuate în premieră.

5.2. Material și metodă

Pentru a evalua genotoxicitatea s-a folosit kitul testului SOS Chromo dezvoltat de EBPI (Environmental Bio-Detection Products Inc), soluții de chitosan standard, de oligochitosan (chitosan cu lanțuri polimerice de dimensiuni mici), de extract vegetal *Lythri herba* și combinații între chitosan și extract de diferite concentrații și spectrofotometru UV-VIS Jasco V-630.

5.3. Rezultate și discuții

Rezultatele au fost evaluate din punct de vedere cantitativ (direct sau indirect), cu ajutorul spectrometriei, deoarece prezintă un profil mai mare de siguranță decât evaluarea calitativă. Rezultatele obținute pentru soluțiile extractive apoase ale produsului vegetal *Lythri herba*, cât și pentru combinațiile dintre acestea cu chitosan au demonstrat lipsa genotoxicității prin valori ale factorului de inducție sub 1,5.

STUDIUL 6. EVALUAREA ACTIVITĂȚII HEMOLITICE A MEMBRANELOR DE CHITOSAN STANDARD CU EXTRACTUL APOS DE *LYTHRI HERBA*

6.1. Ipoteza de lucru

Ipoteza de lucru a acestui capitol este că membranele realizate prin îmbinarea chitosanului standard 1 % în acid acetic cu extractul apos de *Lythri herba* nu produc hemoliză.

Scopul de lucru al studiului este de a demonstra absența proprietății hemolizante a membranelor de chitosan standard solubilizate în acid acetic prin înglobarea extractului apos al speciei *Lythrum salicaria* L.



6.2. Material și metodă

Pentru a evalua activitatea hemolitică s-au folosit: kitul testului Biomaterial Hemolytic Assay dezvoltat de EBPI (Environmental Bio-Detection Products Inc) și membrane alcătuite din chitosan standard 1 % cu extractul apos al produsului vegetal *Lythri herba* (0,5, 1, 2, 3 și 4 g/L).

Principiul metodei se bazează pe eliberarea hemoglobinei, la contactul direct dintre biomaterial și suspensia de eritrocite, care poate fi măsurată spectrofotometric.

6.3. Rezultate și discuții

Efectul hemolizant al membranelor alcătuite din chitosan standard 1 % în acid acetic și extract de *Lythri herba* este invers proporțional cu creșterea concentrației extractului din combinație. Cel mai slab efect hemolizant îl are membrana obținută din combinația biopolimerului chitosan cu extractul apos liofilizat al produsului vegetal *Lythri herba* în concentrație de 4 g/L.

CONCLUZII GENERALE

1. Examinările macroscopice efectuate au putut confirma că planta luată în studiu este *Lythrum salicaria* L., iar identitatea produsului vegetal *Lythri herba* a fost astfel stabilită.
2. Examinările microscopice efectuate în secțiuni au adus și alte detalii privind structura plantei *Lythrum salicaria* L. din Dobrogea în afara celor descrise în literatura de specialitate.
3. Caracterizarea microscopică a pulberii produsului vegetal *Lythri herba* a pus în evidență elemente specifice părții aeriene și anume peri tectori, stomate anomocitice, fragmente de țesut lacunar cu celule cu oxalat de calciu și numeroase granule de polen sferice.
4. Studiul chimic calitativ a pus în evidență prin reacții de identificare specifice existența taninurilor și a antocianozidelor, iar metoda Cromatografiei în Strat Subțire (CSS) a pus în evidență compuși activi farmacologic precum **acid galic, rutin, vitexin și hiperozid**.
5. Rezultatele acestui studiu demonstrează că nu există diferențe semnificative privind compoziții active identificați în cele două extracte, iar avantajele stabilității în timp și manevrabilității facile pe care le prezintă extractul apos liofilizat, susțin utilizarea acestuia în determinările și testările ulterioare.
6. Diferența dintre principiile active solubile în apă și cele solubile în alcool sunt nesemnificative, fapt care justifică utilizarea apei ca și solvent principal pentru obținerea soluțiilor extractive viitoare.
7. Prezența polifenolilor totali în concentrație mare explică proprietățile antioxidante, iar prezența metaboliților secundari confirmați în cercetarea actuală întăresc importanța speciei *Lythrum salicaria* L. din România în fitoterapie.



8. Evaluarea citotoxicității extractelor de *Lythri herba* folosind testul BSLA a demonstrat absența efectelor citotoxice la 24 de ore a ambelor extracte, iar modificările citologice microscopice observate au fost corelate cu timpul de expunere și concentrația extractelor vegetale a plantei *Lythrum salicaria* L.
9. Cunoscând agresivitatea solvenților de sinteză uzitați în metodele de extracție a compușilor activi din plante am îndreptat cercetarea către principiul „green-technology”, folosind apa ca solvent principal și către alegerea unui biopolimer pentru posibilele aplicații medicale.
10. Rezultatele prezentei cercetări au dus la obținerea în premieră absolută a unor membrane din extract apos vegetal *Lythri herba* și chitosan standard 1 % solubilizat atât în acid acetic, cât și în acid lactic.
11. Caracterizarea microscopică de epifluorescență a membranelor identifică biopolimerul chitosan prin capacitatea auto-fluorescentă a acestuia și evidențiază clar detaliile privind dispunerea diferită prin încapsulare a extractului apos vegetal de *Lythri herba* de către matricea de chitosan.
12. Studiul realizat pe membranele de chitosan solubilizate în acid acetic și acid lactic în care s-a înglobat extractul apos de *Lythri herba* a demonstrat o capacitate de hidratare similară și constantă a acestora.
13. Lipsa uniformității în structura membranei obținute prin solubilizarea chitosanului în acid lactic 1 % în care s-a încorporat extractul apos de *Lythri herba*, vizibilă atât cu ochiul liber, cât și microscopic a dus la decizia de a continua cercetarea doar pe membrana de chitosan standard solubilizat în acid acetic 1 %.
14. Rezultatele studiului bacteriologic au demonstrat existența efectului antibacterian al extractului apos de *Lythri herba* asupra tulpinilor de referință din grupul cocilor *Gram-pozitivi*, a bacililor *Gram-negativi* și a tulpinilor de *Candida*.
15. Extractul apos 5 % de *Lythri herba* are efecte antibacteriene și antifungice comparabile cu antibioticele și antimicoticele utilizate în practica curentă.
16. Cel mai înalt nivel de sensibilitate al extractului apos 5 % de *Lythri herba* s-a dovedit a fi asupra unei specii bacteriene cu rezistență consacrată, respectiv *Pseudomonas aeruginosa* și asupra *Candida parapsis*.
17. Extractul apos 5 % din produsul vegetal *Lythri herba* s-a dovedit a avea efect antibacterian moderat și asupra florei bacteriene cariogene reprezentată în acest studiu de *Streptococcus mutans*.
18. Efectele inhibitorii pe specii bacteriene și fungice specifice cavității bucale realizate de extractul apos 5 % din *Lythri herba* vin în întâmpinarea limitării expansiunii fenomenului de rezistență la antibiotice și antifungice, susținând perspectiva de utilizare a acestui extract ca bază pentru obținerea de produse farmaceutice cu largă utilizare în practica medicinei dentare.



19. Soluțiile extractive apoase ale produsului vegetal *Lythri herba* și soluțiile de extract apos combinate cu chitosanul standard nu au efecte genotoxice, iar aceste rezultate obținute susțin posibilitatea utilizării acestor extracte în practica terapeutică.
20. Efectul hemolizant al membranelor alcătuite din chitosan standard 1 % în acid acetic și extract de *Lythri herba* este invers proporțional cu creșterea concentrației extractului din combinație, membrana cu concentrația cea mai mare de extract nu are proprietăți hemolizante fiind recomandată ca alternativă în practica medicinei dentare.



BIBLIOGRAFIE

1. Seigler DS. Plant secondary metabolism. Springer Science & Business Media; 1998 Dec 31.
2. Wink M. Plant breeding: importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. Theoretical and applied genetics. 1988 Jan 1;75(2):225-33.
3. Wink M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. Phytochemistry. 2003 Sep 1;64(1):3-19.
4. Wink M. Plant secondary metabolism: diversity, function and its evolution. Natural Product Communications. 2008 Aug;3(8):1934578X0800300801.
5. Wink M. Annual plant reviews, functions and biotechnology of plant secondary metabolites. John Wiley & Sons; 2010 Jan 26.
6. Wink M. Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. Medicines. 2015 Sep;2(3):251-86.
7. Rauha JP, Remes S, Heinonen M, Hopia A, Kähkönen M, Kujala T, Pihlaja K, Vuorela H, Vuorela P. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. International journal of food microbiology. 2000 May 25;56(1):3-12.
8. Lamela M, Cadavid I, Gato A, Calleja JM. Effects of *Lythrum salicaria* in normoglycemic rats. Journal of Ethnopharmacology. 1985 Sep 1;14(1):83-91.
9. Piwowarski JP, Kiss AK. C-glucosidic Ellagitannins from *Lythri herba* (European Pharmacopoeia): Chromatographic Profile and Structure Determination. Phytochemical Analysis. 2013 Jul;24(4):336-48.
10. Tunalier Z, Koşar M, Küpeli E, Çaliş İ, Başer KH. Antioxidant, anti-inflammatory, anti-nociceptive activities and composition of *Lythrum salicaria* L. extracts. Journal of Ethnopharmacology. 2007 Apr 4;110(3):539-47.
11. Pawlaczyk I, Capek P, Czerchawski L, Bijak J, Lewik-Tsirigotis M, Pliszczak-Król A, Gancarz R. An anticoagulant effect and chemical characterization of *Lythrum salicaria* L. glycoconjugates. Carbohydrate Polymers. 2011 Aug 1;86(1):277-84.
12. Becker H, Scher JM, Speakman JB, Zapp J. Bioactivity guided isolation of antimicrobial compounds from *Lythrum salicaria*. Fitoterapia. 2005 Sep 1;76(6):580-4.
13. ÇİTOĞLU GS, ALTANLAR N. Antimicrobial activity of some plants used in folk medicine. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi. 2003;32(3):159-63.
14. Dadi TH, Vahjen W, Zentek J, Melzig MF, Granica S, Piwowarski JP. *Lythrum salicaria* L. herb and gut microbiota of healthy post-weaning piglets. Focus on prebiotic properties and formation of postbiotic metabolites in ex vivo cultures. Journal of Ethnopharmacology. 2020 Oct 28;261:113073.
15. Valencia-Gómez LE, Martel-Estrada SA, Vargas-Requena C, Rivera-Armenta JL, Alba-Baena N, Rodríguez-González C, Olivas-Armendáriz I. Chitosan/*Mimosa tenuiflora* films as potential cellular patch for skin regeneration. International journal of biological macromolecules. 2016 Dec 1;93:1217-25.
16. Sakthiguru N, Sithique MA. Fabrication of bioinspired chitosan/gelatin/allantoin biocomposite film for wound dressing application. International journal of biological macromolecules. 2020 Jun 1;152:873-83.
17. Sizílio RH, Galvão JG, Trindade GG, Pina LT, Andrade LN, Gonsalves JK, Lira AA, Chaud MV, Alves TF, Arguelho ML, Nunes RS. Chitosan/pvp-based mucoadhesive membranes as a promising



- delivery system of betamethasone-17-valerate for aphthous stomatitis. *Carbohydrate polymers*. 2018 Jun 15;190:339-45.
18. İlk S, Ramanauskaitė A, Bilican BK, Mulerčikas P, Cam D, Onses MS, Torun I, Kazlauskaitė S, Baublys V, Aydın Ö, Zang LS. Usage of natural chitosan membrane obtained from insect corneal lenses as a drug carrier and its potential for point of care tests. *Materials Science and Engineering: C*. 2020 Jul 1;112:110897.
 19. Hu Q, Luo Y. Polyphenol-chitosan conjugates: Synthesis, characterization, and applications. *Carbohydrate polymers*. 2016 Oct 20;151:624-39.
 20. Kaya M, Khadem S, Cakmak YS, Mujtaba M, İlk S, Akyuz L, Salaberria AM, Labidi J, Abdulqadir AH, Deligöz E. Antioxidative and antimicrobial edible chitosan films blended with stem, leaf and seed extracts of *Pistacia terebinthus* for active food packaging. *RSC advances*. 2018;8(8):3941-50.
 21. Gursoy M, Sargin I, Mujtaba M, Akyuz B, İlk S, Akyuz L, Kaya M, Cakmak YS, Salaberria AM, Labidi J, Erdem N. False flax (*Camelina sativa*) seed oil as suitable ingredient for the enhancement of physicochemical and biological properties of chitosan films. *International journal of biological macromolecules*. 2018 Jul 15;114:1224-32.
 22. Hafsa J, ali Smach M, Khedher MR, Charfeddine B, Limem K, Majdoub H, Rouatbi S. Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing *Eucalyptus globulus* essential oil. *LWT-Food Science and Technology*. 2016 May 1;68:356-64.
 23. Bajić M, Ročnik T, Oberlintner A, Scognamiglio F, Novak U, Likozar B. Natural plant extracts as active components in chitosan-based films: A comparative study. *Food Packaging and Shelf Life*. 2019 Sep 1;21:100365.
 24. Khutoryanskiy VV. Advances in mucoadhesion and mucoadhesive polymers. *Macromolecular bioscience*. 2011 Jun 14;11(6):748-64.
 25. Cicciù M, Fiorillo L, Cervino G. Chitosan use in dentistry: A systematic review of recent clinical studies. *Marine drugs*. 2019 Jul;17(7):417
 26. Moscovici M., Popa A., Vezeanu A., M., Marinescu M., C., Trofosila C., F., Manea V., Casarica A., Ghera D., M., Vlase R., I., Ștefaniu A., Nichita C., Vulturescu V., --- Curs de utilizarea plantelor medicinale și aromatice în terapie, septembrie 2011
 27. Houghton PJ. The role of plants in traditional medicine and current therapy. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 1995 Jun 1;1(2):131-43.
 28. Donadio S, Maffioli S, Monciardini P, Sosio M, Jabes D. Antibiotic discovery in the twenty-first century: current trends and future perspectives. *The Journal of antibiotics*. 2010 Aug;63(8):423-30.
 29. Shu YZ. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. *Journal of natural products*. 1998 Aug 28;61(8):1053-71.
 30. Desmartis, T.P., 1857. Sur les propriétés médicinales et les usages de quelques plantes indigènes. 2. *Salicaire*. *Rev. Thér. Midi* 11, 83–84.
 31. Senning A. Elsevier's Dictionary of Chemoetymology: The Whys and Whences of Chemical Nomenclature and Terminology. Elsevier; 2006 Oct 30.
 32. Valmont de Bomare, J.C., 1775. *Dictionnaire Raisonné Universel d'Histoire Naturelle*. Chez Brunet, Paris.
 33. Linnaei, C., 1737. *Genera Plantarum*, Leiden
 34. Martin, M., Martin, S., 1850. Recherches chimiques et médicales sur la salicaire. *Bull. Gen. Ther. Med. Chir.* 38 (66–68), 121–123.
 35. Tournefort, J.P., 1694. *Eléments de botanique, ou méthode pour connoître les plantes*. De l'Imprimerie Royale, Paris.
 36. Hildegard von Bingen, 1903. *Causae et Curae*. Aedibus B.G. Teubneri, Lipsiae.
 37. Pliny the Elder, 1906. *Naturalis Historia*. Teubner, Lipsiae.
 38. Collin, E., 1903. *Précis de Matière Médicale*. Octave Doin, Paris.
 39. Fouquet, H., Desgenettes, R., 1793, 1828. Mémoire sur la vertu anti-dysentérique de la salicaire. *J. Univers. Sci. Med.* 49, 129–136.



40. Paluch, A., 1989. Ziołolecznictwo ludowe w Polsce w XIX i początku XX wieku. Polskie Towarzystwo Ludoznawcze, Wrocław.
41. Sagar, J.B.M., 1762. De Salicaria. Kirchberger.
42. Scherbius, M.J., 1791. Dissertation sur les vertus medicinales douteuses de la salicaire. J. Méd. Chir. Pharm. etc. 87, 131–133.
43. Campardon, C., 1878. Sur l'usage therapeutique de la salicaire (Lythrum salicaria). Bull. Gen. Ther. Med. Chir. 94, 27–29.
44. Murray, J.A., 1793. Apparatus Medicaminum tam Simplicium quam Praeparatorum et Compositorum. J.C. Dieterich, Goettingae.
45. Dufour, M.H., 1917. Traitment de l'enterite (diarrhee des nourrissons, enterite des adultes) par l'extrait fluide de salicaire. L'Union Pharm., 369–370.
46. Dumont, J., 1920. These de Bordeaux (1920). La Presse Med. 38, 379.
47. Dedieu, B., 1921. These de Toulouse. Les gastro-enterites aiguës des nourrissons et de leur traitement par le glucoside de la salicaire. La Presse Med. 77, 772.
48. Maurin, M., 1922. La salicaire et les enterites. Bull. Sci. Pharmacol. 24, 149.
49. Lafon, J., 1962. Essais qualitatifs physico-chimiques des drogues simples d'origine végétale figurant à la Pharmacopée française.
50. Paris, R.R., Moyse, H., 1967. Precis de Materie Medicale. Masson & Cie, Paris.
51. Piwowarski JP, Granica S, Kiss AK. Lythrum salicaria L.—Underestimated medicinal plant from European traditional medicine. A review. Journal of ethnopharmacology. 2015 Jul 21;170:226-50.
52. Strasburger E., Noll F., Schenck H., Schimper a. f. W., 1978, "Lehrbuch der Botanik (31) Aufl., neuarbeitet von Denffer D., Ehrendorfer F., Megdefrau K., Ziegler H.", VEB Gustav Fischer Verlag, Jena
53. Sârbu I., Ivănescu L., Ștefan N., Mânzu C., 2001, "Flora ilustrată a plantelor vasculare din estul României – Determinator", vol. I, Edit. Univ. "Al. I. Cuza", Iași, p. 292
54. Sârbu I., Ștefan N., Oprea A., 2013, „Plante vasculare din România – Determinator ilustrat de teren”, Edit. Victor B Victor, București, p. 354
55. Soó R., 1964, "A magyar flóra és vegetáció rendszertani — növényföldrajzi kézikönyve" (Systematic and geobotanical synopsis of the Hungarian flora and vegetation), "Akadémiai Kiadó, Budapest.
56. *** „Flora României”, 1952-1976, vol. V, Ed. Acad. R.P.R.-R.S.R., p. 457-466.
57. <http://uintahcountyweeds.org/weedID.html>
58. <http://extension.umass.edu/landscape/weeds/lythrum-salicaria>
59. <http://www.weedinfo.ca/en/weed-index/view/id/LYTSA>
60. http://mediplantepirus.med.uoi.gr/pharmacology_en/plant_details.php?id284
61. <http://photos.comfeaturedlythrum-salicaria-purple-loosestrife-whorls-and-spikes-of-purple-red-flowers-and-lance-shaped-leaves-on-an-angled-stem-neil-fletcher--matthew-ward.htmlproduct=art-print>.
62. <https://www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=1291006>
63. Pârnu C., 2005, „Enciclopedia plantelor - plante din flora României”, vol. V, Ed. Tehnică, București, pag 221-223
64. Rawinski TJ. The ecology and management of purple loosestrife (Lythrum salicaria L.) in central New York. Cornell University; 1982, pg. 88.
65. Shamsi SR, Whitehead FH. Comparative eco-physiology of Epilobium hirsutum L. and Lythrum salicaria L.: I. General biology, distribution and germination. The Journal of Ecology. 1974 Mar 1:279-90.
66. Shamsi SR. SOME EFFECTS OF DENSITY AND FERTILIZER ON GROWTH AND COMPETITION OF EPILOBIUM-HIRSUTUM AND LYTHRUM-SALICARIA. Pakistan Journal of Botany. 1976 Jan 1;8(2):213-20.
67. Shamsi S.R.A. and Whitehead F.H., 1974, „Comparative eco-physiology of Epilobium hirsutum L. and Lythrum salicaria L. II, IV, Journal of Ecology



68. Alexan M., Bojor O., Crăciun F., 1992: „Flora medicinală a României”, vol. I și II, Ed. Ceres, București, p. 81-85, p. 212-213.
69. Istudor Viorica – Farmacognozie, fitochimie, fitoterapie vol.I, Ed. Medicală, București 1998, pg.145-156, 290-300,187-203,118-131.
70. Ma XJ, Ji CR, Wang YM, Zhang GQ, Liu YZ. New Tannins from *Lythrum Salicaria* L. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*. 1996 Dec 15;5(4):225.
71. Granica S, Piwowarski JP, Kiss AK. Determination of C-glucosidic Ellagitannins in *Lythri salicariae*herba by Ultra-High Performance Liquid Chromatography Coupled with Charged Aerosol Detector: Method Development and Validation. *Phytochemical Analysis*. 2014 May;25(3):201-6.
72. Rauha JP, Wolfender JL, Salminen JP, Pihlaja K, Hostettmann K, Vuorela H. Characterization of the polyphenolic composition of purple loosestrife (*Lythrum salicaria*). *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2001 Feb 1;56(1-2):13-20.
73. Møller C, Hansen SH, Cornett C. Characterisation of tannin-containing herbal drugs by HPLC. *Phytochemical analysis*. 2009 May;20(3):231-9.
74. Humadi SS, Istudor V. *Lythrum salicaria* (purple loosestrife). Medicinal use, extraction and identification of its total phenolic compounds. *Farmacia*. 2009 Mar 1;57(2):192-200.
75. Bencsik T, Barthó L, Sándor V, Papp N, Benkó R, Felinger A, Kilár F, Horváth G. Phytochemical evaluation of *Lythrum salicaria* extracts and their effects on guinea-pig ileum. *Natural product communications*. 2013 Sep;8(9):1934578X1300800916.
76. Paris RR, Paris M. BIOCHIMIE VEGETALE-SUR LES PIGMENTS ANTHOCYANIQUES DE LA SALICAIRE (*LYTHRUM SALICARIA* L). *COMPTES RENDUS HEBDOMADAIRES DES SEANCES DE L ACADEMIE DES SCIENCES*. 1964 Jan 1;258(1):361.
77. Marti T. ESTUDIO FARMACOGNOSTICO Y FARMACODINAMICO DE *LYTHRUM SALICARIA* L.
78. Manayi A, Khanavi M, Saiednia S, Azizi E, Mahmoodpour MR, Vafi F, Malmir M, Siavashi F, Hadjiakhoondi A. Biological activity and microscopic characterization of *Lythrum salicaria* L. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013 Dec;21(1):1-7.
79. Manayi A, Saeidnia S, Faramarzi MA, Samadi N, Jafari S, Vazirian M, Ghaderi A, Mirnezami T, Hadjiakhoondi A, Ardekani MR, Khanavi M. A comparative study of anti-*Candida* activity and phenolic contents of the calluses from *Lythrum salicaria* L. in different treatments. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2013 May;170(1):176-84.
80. Manayi A, Saeidnia S, Ostad SN, Hadjiakhoondi A, Ardekani MR, Vazirian M, Akhtar Y, Khanavi M. Chemical constituents and cytotoxic effect of the main compounds of *Lythrum salicaria* L. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2013 Oct 1;68(9-10):367-75.
81. Manayi A, Saeidnia S, Shekarchi M, Hadjiakhoondi A, Shams AM, Khanavi M. Comparative study of the essential oil and hydrolate composition of *Lythrum salicaria* L. obtained by hydro-distillation and microwave distillation methods.
82. Fujita E, Saeki Y. Lythraceous alkaloids. Part VI. The structures of lythrancine-I,-II,-III, and-IV and lythrancepine-I,-II, and-III. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. 1972:2141-6.
83. Kim GS, Lee SE, Jeong TS, Park CG, Sung JS, Kim JB, Hong YP, Kim YC, Song KS. Human Acyl-CoA: Cholesterol acyltransferase (hACAT)-inhibiting triterpenes from *Lythrum salicaria* L. *Journal of The Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 2011 Aug;54(4):628-32.
84. Carruthers W, Coggins P, Weston JB. Nitronc cycloaddition: an approach to the cyclophane alkaloid ($\pm$)-lythranidine. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. 1991 Jan 1(3):611-6.
85. Fuji K, Ichikawa K, Fujita E. Lythraceous alkaloids. Part 11. Total synthesis of ($\pm$)-lythranidine. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. 1980:1066-9.
86. Gougeon MM, Laumonier J. De l'emploi therapeutique de la salicaire et de son glucoside. *L'Union Pharm*. 1918;59:147-9.
87. Steinfeld AS. I. the Alkaloids of *Lythrum Salicaria* L. II. the Electrolytic Oxidation of Some Phenolic Tetrahydroisoquinolines. University of Connecticut; 1968.



88. Pawlaczyk I, Czerchawski L, Kańska J, Bijak J, Capek P, Pliszczak-Król A, Gancarz R. An acidic glycoconjugate from *Lythrum salicaria* L. with controversial effects on haemostasis. *Journal of ethnopharmacology*. 2010 Aug 19;131(1):63-9.
89. Šutovská M, Capek P, Fraňová S, Pawlaczyk I, Gancarz R. Antitussive and bronchodilatory effects of *Lythrum salicaria* polysaccharide-polyphenolic conjugate. *International journal of biological macromolecules*. 2012 Dec 1;51(5):794-9.
90. Vincent D, Segonzac G. Quelques donnees nouvelles sur la salicaire. *Lythrum salicaria*. 1954;1-2.
91. Brun Y, Wang XP, Willemot J, Sevenet T, Demenge P. Experimental study of antidiarrheal activity of Salicairine®. *Fundamental & clinical pharmacology*. 1998 Jan 2;12(1):30-6.
92. Ha JY, Kim YK, Lee KS, Min KR, Kim YS. Inhibitory effects of herbal extracts on CINC-1 induction in LPS-stimulated rat kidney epithelioid NRK-52E cells. *Natural Product Sciences*. 1997;3(1):59-70.
93. Piwowarski JP, Kiss AK. Contribution of C-glucosidic ellagitannins to *Lythrum salicaria* L. influence on pro-inflammatory functions of human neutrophils. *Journal of natural medicines*. 2015 Jan;69(1):100-10.
94. Mantle D, Eddeb F, Pickering AT. Comparison of relative antioxidant activities of British medicinal plant species in vitro. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000 Sep 1;72(1-2):47-51.
95. Lopez V, Akerreta S, Casanova E, García-Mina J, Cavero R, Calvo M. Screening of Spanish medicinal plants for antioxidant and antifungal activities. *Pharmaceutical Biology*. 2008 Jan 1;46(9):602-9.
96. Borchardt JR, Wyse DL, Sheaffer CC, Kauppi KL, Ehlike RG, Biesboer DD, Bey RF. Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin. *Journal of medicinal plants research*. 2008 May 31;2(5):098-110.
97. Sartory A, Quevauviller A, Richard P. De quelques phanerogrammes douees de proprietes antibiotiques in vitro. *Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des sciences*. 1949 Feb 28;228(9):782-4.
98. Dulger B, Gonuz A. Antimicrobial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine. *Asian Journal of Plant Sciences*. 2004.
99. Guclu E, Genc H, Zengin M, Karabay O. Antibacterial activity of *Lythrum salicaria* against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Annual Research & Review in Biology*. 2014:1099-105.
100. Spyropoulos NM. Action de l'infusion des racines de *Rubus ulmifolius*, de la Salicairine et du tannin sur la glycosurie phloridzique chez l'homme. *J. Physiol. Pathol. Gén.* 1930;28:69-71.
101. Torres IC, Suarez JC. A preliminary study of hypoglycemic activity of *Lythrum salicaria*. *Journal of natural products*. 1980 Sep;43(5):559-63.
102. Sharma N, Sharma VK, Seo SY. Screening of some medicinal plants for anti-lipase activity. *Journal of ethnopharmacology*. 2005 Mar 21;97(3):453-6.
103. Yoshida K, Hishida A, Iida O, Hosokawa K, Kawabata J. Flavonol caffeoylglycosides as α -glucosidase inhibitors from *Spiraea cantoniensis* flower. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2008 Jun 25;56(12):4367-71.
104. Bencsik, T., 2014, „Comparative Histological, Phytochemical, Microbiological and Pharmacological Characterization of Some *Lythrum salicaria* L. Populations”, p.51-52.
105. Bucur L., Istudor V., Jianu L., Vameşu S., 2002: „Analiza farmacognostică”, Ed. Ovidius Univ. Press, Constanța, p. 7-24.
106. *** „European Pharmacopoeia 10.0” Council of Europe, Strasbourg, 2020, pp.1321, 1344, 1511
107. Bucur L., Istudor V., Popescu A., 2004: „Farmacognozia Specială volum I – Oze, poliholozide, heterozide, lipide”, Ed. Muntenia, Constanța, p. 74-90.
108. Bencsik T, Horváth G, Papp N. Variability of total flavonoid, polyphenol and tannin contents in some *Lythrum salicaria* populations. *Natural product communications*. 2011 Oct;6(10):1934578X1100601002.
109. Ito H. Metabolites of the ellagitannin geraniin and their antioxidant activities. *Planta medica*. 2011 Jul;77(11):1110-5.



110. Jamshidi M, Shabani E, Hashemi Z, Ebrahimzadeh MA. Evaluation of three methods for the extraction of antioxidants from leaf and aerial parts of *Lythrum salicaria* L.(Lythraceae). International food research journal. 2014 Apr 1;21(2).
111. *** „European Pharmacopoeia 8.0” (2013) European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM), 67075 Strasbourg Cedex, France, pp. 275-276, 1300-1301.
112. Stefanache CP, Peter S, Meier B, Danila D, Tanase C, Wolfram E. Phytochemical composition of *Arnicae* flos from wild populations in the northern area of the Romanian eastern Carpathians. Rev Chim (Bucharest). 2015 Jun 1;66(5):784-7.
113. Paun G, Neagu E, Moroeanu V, Ungureanu O, Cretu R, Ionescu E, Tebrencu CE, Ionescu R, Stoica I, Radu GL. Phytochemical analysis and in vitro biological activity of *Betonica officinalis* and *Salvia officinalis* extracts. Romanian Biotechnological Letters. 2017 Jul 1;22(4):12751.
114. AL-SNAFI A.E., Chemical Constituents and Pharmacological Effects of *Lythrum salicaria* – A Re-view, IOSR Journal of Pharmacy, vol.9, no. 6, 2019, p. 51-59
115. *** „Farmacopeea Română” ediția a X-a, Editura Medicală-București, 2008
116. Kujawski RA, Bartkowiak-Wieczorek JO, Ożarowski M, Bogacz A, Cichocka J, Karasiewicz M, Czerny B, Mrozikiewicz PM. Current knowledge on phytochemical profile of *Epilobium* sp. raw materials and extracts. Potential benefits in nutrition and phytotherapy of age-related diseases. Herba Polonica. 2011;57(4).
117. Nisteanu, A., „Farmacognozie”. Editura „Tipografia Centrală”, Chișinău, 2000, pag.22-24, 49-80.
118. Brglez Mojzer E, Knez Hrnčič M, Škerget M, Knez Ž, Bren U. Polyphenols: Extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. Molecules. 2016 Jul;21(7):901.
119. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. European journal of medicinal chemistry. 2015 Jun 5;97:55-74.
120. Van Wyk BE, Wink M. Phytomedicines, Herbal Drugs & Plant Poisons. Briza Publications; 2015.
121. Gawron-Gzella A, Dudek-Makuch M, Matławska I. DPPH radical scavenging activity and phenolic compound content in different leaf extracts from selected blackberry species. Acta Biologica Cracoviensia s. Botanica. 2012.
122. Costantino, H. R., & Pikal, M. J. (Eds.). (2004). Lyophilization of biopharmaceuticals (Vol. 2). Springer Science & Business Media.
123. Tang XC, Pikal MJ. Design of freeze-drying processes for pharmaceuticals: practical advice. Pharmaceutical research. 2004 Feb;21(2):191-200.
124. Kasper JC, Friess W. The freezing step in lyophilization: physico-chemical fundamentals, freezing methods and consequences on process performance and quality attributes of biopharmaceuticals. European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics. 2011 Jun 1;78(2):248-63.
125. Harrison MM, Tyler AC, Hellquist CE, Pagano T. Phenolic content of invasive and non-invasive emergent wetland plants. Aquatic Botany. 2017 Jan 1;136:146-54.
126. Dumitrascu M. *Artemia salina*. Balneo-Research Journal. 2011 Dec 1;2(4):119-22.
127. <https://learn.genetics.utah.edu/content/gsl/artemia/>
128. Hamidi MR, Jovanova B, Panovska TK. Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) model. Maced pharm bull. 2014;60(1):9-18.
129. Campbell DL, Lawton LA, Beattie KA, Codd GA. Comparative assessment of the specificity of the brine shrimp and microtox assays to hepatotoxic (microcystin-LR-containing) cyanobacteria. Environmental toxicology and water quality. 1994 Feb;9(1):71-7.
130. Schröder V., Bucur A., L., Iancu I., M., Honcea A., Bușuricu F., The Crustacean Species as in Vivo Testing Model – Advantages and Possible Applications in the Nutrition or Pharmaceutical Field, Nutrition, Diet Therapy & Food Safety in the Context of the COVID-19, Bucharest, 2020, ISBN 978-88-85813-91-5, p. 205-210.



131. McGaw LJ, Elgorashi EE, Eloff JN. Cytotoxicity of African medicinal plants against normal animal and human cells. In: *Toxicological survey of african medicinal plants 2014 Jan 1* (pp. 181-233). Elsevier.
132. Nielsen JB. What you see may not always be what you get–Bioavailability and extrapolation from in vitro tests. *Toxicology in Vitro*. 2008 Jun 1;22(4):1038-42.
133. Lambert JD, Hong J, Yang GY, Liao J, Yang CS. Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. *The American journal of clinical nutrition*. 2005 Jan 1;81(1):284S-91S.
134. Narishetty ST, Panchagnula R. Transdermal delivery of zidovudine: effect of terpenes and their mechanism of action. *Journal of Controlled Release*. 2004 Mar 24;95(3):367-79.
135. Apetroaei MR, Pădurețu C, Rău I, Schroder V. New-chitosan characterization and its bioassay in different salinity solutions using *Artemia salina* as bio tester. *Chemical Papers*. 2018 Aug;72(8):1853-60.
136. BUȘURICU, F., SCHRODER, V., MARGARITTI, D., NADOLU, D. and ANGHEL, A.H., 2019. Preliminary study regarding sodium benzoate and other food dyes sinergic action using BSLA citotoxicity test. *Scientific Papers: Series D, Animal Science-The International Session of Scientific Communications of the Faculty of Animal Science*, 62(1).
137. Johari SA, Rasmussen K, Gulumian M, Ghazi-Khansari M, Tetarazako N, Kashiwada S, Asghari S, Park JW, Yu IJ. Introducing a new standardized nanomaterial environmental toxicity screening testing procedure, ISO/TS 20787: aquatic toxicity assessment of manufactured nanomaterials in saltwater Lakes using *Artemia* sp. nauplii. *Toxicology mechanisms and methods*. 2019 Feb 12;29(2):95-109.
138. Braguini WL, Alves BB, Pires NV. Toxicity assessment of *Lavandula officinalis* extracts in Brine Shrimp (*Artemia salina*). *Toxicology mechanisms and methods*. 2019 Jul 24;29(6):411-20.
139. Coe FG, Parikh DM, Johnson CA, Anderson GJ. The good and the bad: alkaloid screening and brineshrimp bioassays of aqueous extracts of 31 medicinal plants of eastern Nicaragua. *Pharmaceutical biology*. 2012 Mar 1;50(3):384-92.
140. Hong LS, Ibrahim D, Kassim J. Assessment of in vivo and in vitro cytotoxic activity of hydrolysable tannin extracted from *Rhizophora apiculata* barks. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2011 Nov;27(11):2737-40.
141. Montanher AB, Pizzolatti MG, Brighente IM. An application of the brine shrimp bioassay for general screening of Brazilian medicinal plants. *Acta Farm. Bonaerense*. 2002;21(3):175-8.
142. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta med*. 1982 May 1;45(5):31-4.
143. Clarkson C, Maharaj VJ, Crouch NR, Grace OM, Pillay P, Matsabisa MG, Bhagwandin N, Smith PJ, Folb PI. In vitro antiplasmodial activity of medicinal plants native to or naturalised in South Africa. *Journal of ethnopharmacology*. 2004 Jun 1;92(2-3):177-91.
144. Popovici V, Bucur LA, Schröder V, Gherghel D, Mihai CT, Caraiane A, Badea FC, Vochița G, Badea V. Evaluation of the Cytotoxic Activity of the *Usnea barbata* (L.) FH Wigg Dry Extract. *Molecules*. 2020 Jan;25(8):1865.
145. SCHRÖDER V, ARCUS M, ANGHEL AH, BUSURICU F, LEPADATU AC. CELL DIFFERENTIATION PROCESS OF *Artemia* sp. LARVAE TOOLS FOR NATURAL PRODUCTS TESTING. *Scientific Papers: Series D, Animal Science-The International Session of Scientific Communications of the Faculty of Animal Science*. 2019 Jan 1;62(1).
146. NETO R, Gomes Junior PP, Silva MC, Lima CS, Yara R, Guimaraes EB, SANTANA ES, SILVA LA, Lira EJ, Vieira JR. Evaluation of embryotoxic and embryostatic effects of the aqueous extract of *Rhizophora mangle* and tannic acid on eggs and larvae of *Aedes aegypti*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2018 Aug;90(2):2141-8.
147. Khanavi M, Moshteh M, Manayi A, MR SA. a, Vazirian M, Ajani Y, Ostad SN: Cytotoxic acivity of *Lythrum salicaria* L. *Res J Biol Sci*. 2011;6:55-7.



148. Laitinen LA, Galkin A, Vuorela HJ, Marvola ML, Vuorela PM. Effects of extracts of commonly consumed food supplements and food fractions on the permeability of drugs across Caco-2 cell monolayers. *Pharmaceutical research*. 2004 Oct;21(10):1904-16.
149. Martin-Thomé H, Bourdin D, Strube N, Saffarzadeh A, Morlock JF, Campard G, Evanno C, Hoornaert A, Layrolle P. Clinical Safety of a New Synthetic Resorbable Dental Membrane: A Case Series Study. *Journal of Oral Implantology*. 2018 Apr;44(2):138-45.
150. Abdelaziz D, Hefnawy A, Al-Wakeel E, El-Fallal A, El-Sherbiny IM. New biodegradable nanoparticles-in-nanofibers based membranes for guided periodontal tissue and bone regeneration with enhanced antibacterial activity. *Journal of advanced research*. 2021 Feb 1;28:51-62
151. Nyman S, Gottlow J, Karring T, Lindhe J. The regenerative potential of the periodontal ligament: an experimental study in the monkey. *Journal of clinical periodontology*. 1982 Jun;9(3):257-65.
152. Retzepi MA, Donos N. Guided bone regeneration: biological principle and therapeutic applications. *Clinical oral implants research*. 2010 Jun;21(6):567-76.
153. Sculean A, Nikolidakis D, Nikou G, Ivanovic A, Chapple IL, Stavropoulos A. Biomaterials for promoting periodontal regeneration in human intrabony defects: a systematic review. *Periodontology* 2000. 2015 Jun;68(1):182-216.
154. Florjanski W, Orzeszek S, Olchowy A, Grychowska N, Wieckiewicz W, Malysa A, Smardz J, Wieckiewicz M. Modifications of polymeric membranes used in guided tissue and bone regeneration. *Polymers*. 2019 May;11(5):782.
155. Nasajpour A, Ansari S, Rinoldi C, Rad AS, Aghaloo T, Shin SR, Mishra YK, Adelung R, Swieszkowski W, Annabi N, Khademhosseini A. A multifunctional polymeric periodontal membrane with osteogenic and antibacterial characteristics. *Advanced Functional Materials*. 2018 Jan;28(3):1703437
156. Jazayeri HE, Tahriri M, Razavi M, Khoshroo K, Fahimipour F, Dashtimoghadam E, Almeida L, Tayebi L. A current overview of materials and strategies for potential use in maxillofacial tissue regeneration. *Materials Science and Engineering: C*. 2017 Jan 1;70:913-29.
157. Alain H, Christophe RB, Fabienne W, Bénédicte E, Pierre L. Healing Process with the use of a New Resorbable Synthetic Membrane. *The Open Dentistry Journal*. 2020 Sep 24;14(1).
158. Kuo YC, Wang CC. Effect of bovine pituitary extract on the formation of neocartilage in chitosan/gelatin scaffolds. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2010 Mar 1;41(2):150-6
159. Xia W, Liu W, Cui L, Liu Y, Zhong W, Liu D, Wu J, Chua K, Cao Y. Tissue engineering of cartilage with the use of chitosan-gelatin complex scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*. 2004 Nov 15;71(2):373-80.
160. Kim IL, Mauck RL, Burdick JA. Hydrogel design for cartilage tissue engineering: a case study with hyaluronic acid. *Biomaterials*. 2011 Dec 1;32(34):8771-82.
161. Willerth SM, Sakiyama-Elbert SE. Combining stem cells and biomaterial scaffolds for constructing tissues and cell delivery. *StemJournal*. 2019 Jan 1;1(1):1-25.
162. Catelas I, Sese N, Wu BM, Dunn JC, Helgerson SA, Tawil B. Human mesenchymal stem cell proliferation and osteogenic differentiation in fibrin gels in vitro. *Tissue engineering*. 2006 Aug 1;12(8):2385-96.
163. Im GI, Shin YW, Lee KB. Do adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have the same osteogenic and chondrogenic potential as bone marrow-derived cells?. *Osteoarthritis and cartilage*. 2005 Oct 1;13(10):845-53.
164. Brück WM, Slater JW, Carney BF. Chitin and chitosan from marine organisms. Chitin, chitosan, oligosaccharides and their derivatives: biological activities and applications. Taylor & Francis, Boca Raton. 2010 Jul 14:11-9.
165. Shokrgozar MA, Bonakdar S, Dehghan MM, Emami SH, Montazeri L, Azari S, Rabbani M. Biological evaluation of polyvinyl alcohol hydrogel crosslinked by polyurethane chain for cartilage



- tissue engineering in rabbit model. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2013 Oct 1;24(10):2449-60.
166. Jung RE, Hälg GA, Thoma DS, Hämmerle CH. A randomized, controlled clinical trial to evaluate a new membrane for guided bone regeneration around dental implants. *Clinical oral implants research*. 2009 Feb;20(2):162-8
167. Fardoun R. Barrier membranes used in guided bone regeneration: A review. *International Arab Journal of Dentistry (IAJD)*. 2019 Oct 10;10(2):87-94.
168. Shaikh R, Singh TR, Garland MJ, Woolfson AD, Donnelly RF. Mucoadhesive drug delivery systems. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. 2011 Jan;3(1):89.
169. Alopaeus JF, Hellfritsch M, Gutowski T, Scherließ R, Almeida A, Sarmento B, Škalko-Basnet N, Tho I. Mucoadhesive buccal films based on a graft co-polymer–A mucin-retentive hydrogel scaffold. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020 Jan 15;142:105142.
170. Lim SY, Dafydd M, Ong J, Ord-McDermott LA, Board-Davies E, Sands K, Williams D, Sloan AJ, Heard CM. Mucoadhesive thin films for the simultaneous delivery of microbicide and anti-inflammatory drugs in the treatment of periodontal diseases. *International journal of pharmaceutics*. 2020 Jan 5;573:118860.
171. Berton F, Porrelli D, Di Lenarda R, Turco G. A critical review on the production of electrospun nanofibres for guided bone regeneration in oral surgery. *Nanomaterials*. 2020 Jan;10(1):16.
172. Mohebbi S, Nezhad MN, Zarrintaj P, Jafari SH, Gholizadeh SS, Saeb MR, Mozafari M. Chitosan in biomedical engineering: a critical review. *Current stem cell research & therapy*. 2019 Feb 1;14(2):93-116.
173. Lestari W, Yusry WN, Haris MS, Jaswir I, Idrus E. A glimpse on the function of chitosan as a dental hemostatic agent. *Japanese Dental Science Review*. 2020 Nov 1;56(1):147-54.
174. Rinaudo M. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in polymer science*. 2006 Jul 1;31(7):603-32.
175. Mandal N, Datta SC, Manjaiah KM, Dwivedi BS, Nain L, Kumar R, Aggarwal P. Novel chitosan grafted zinc containing nanoclay polymer biocomposite (CZNCPBC): Controlled release formulation (CRF) of Zn²⁺. *Reactive and Functional Polymers*. 2018 Jun 1;127:55-66.
176. Honarkar H, Barikani M. Applications of biopolymers I: chitosan. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*. 2009 Dec;140(12):1403-20.
177. El Gharas H. Polyphenols: food sources, properties and applications—a review. *International journal of food science & technology*. 2009 Dec;44(12):2512-8.
178. Merzendorfer H, Cohen E. Chitin/Chitosan: Versatile Ecological, Industrial, and Biomedical Applications. In *Extracellular Sugar-Based Biopolymers Matrices* 2019 (pp. 541-624). Springer, Cham.
179. Zhang C, Hui D, Du C, Sun H, Peng W, Pu X, Li Z, Sun J, Zhou C. Preparation and application of chitosan biomaterials in dentistry. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020 Nov 14.
180. Shibasaki K, Sano H, Matsukubo T, Takaesu Y. pH response of human dental plaque to chewing gum supplemented with low molecular chitosan. *The Bulletin of Tokyo Dental College*. 1994 May 1;35(2):61-6.
181. Arnaud TM, de Barros Neto B, Diniz FB. Chitosan effect on dental enamel de-mineralization: an in vitro evaluation. *Journal of dentistry*. 2010 Nov 1;38(11):848-52.
182. Jahanizadeh S, Yazdian F, Marjani A, Omid M, Rashedi H. Curcumin-loaded chitosan/carboxymethyl starch/montmorillonite bio-nanocomposite for reduction of dental bacterial biofilm formation. *International journal of biological macromolecules*. 2017 Dec 1;105:757-63.
183. Lotfi G, Shokrgozar MA, Mofid R, Abbas FM, Ghanavati F, Baghban AA, Yavari SK, Pajoumshariati S. Biological evaluation (in vitro and in vivo) of bilayered collagenous coated (nano electrospun and solid wall) chitosan membrane for periodontal guided bone regeneration. *Annals of biomedical engineering*. 2016 Jul;44(7):2132-44.



184. Fawzy AS, Nitisusanta LI, Iqbal K, Daood U, Beng LT, Neo J. Chitosan/Riboflavin-modified demineralized dentin as a potential substrate for bonding. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. 2013 Jan 1;17:278-89.
185. Ali S, Sangi L, Kumar N. Exploring antibacterial activity and hydrolytic stability of resin dental composite restorative materials containing chitosan. *Technology and Health Care*. 2017 Jan 1;25(1):11-8.
186. Sana FA, Yurtsever MÇ, Bayrak GK, Tunçay EÖ, Kiremitçi AS, Gümüşderelioğlu M. Spreading, proliferation and differentiation of human dental pulp stem cells on chitosan scaffolds immobilized with RGD or fibronectin. *Cytotechnology*. 2017 Aug;69(4):617-30.
187. Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2000 Aug 21;48(8):3396-402.
188. Jing Y, Diao Y, Yu X. Free radical-mediated conjugation of chitosan with tannic acid: Characterization and antioxidant capacity. *Reactive and Functional Polymers*. 2019 Feb 1;135:16-22.
189. Liang J, Yan H, Puligundla P, Gao X, Zhou Y, Wan X. Applications of chitosan nanoparticles to enhance absorption and bioavailability of tea polyphenols: A review. *Food Hydrocolloids*. 2017 Aug 1;69:286-92.
190. Al-Dhubiab BE, Nair AB, Kumria R, Attimarad M, Harsha S. Development and evaluation of buccal films impregnated with selegiline-loaded nanospheres. *Drug delivery*. 2016 Sep 1;23(7):2154-62.
191. Nair AB, Kumria R, Harsha S, Attimarad M, Al-Dhubiab BE, Alhaider IA. In vitro techniques to evaluate buccal films. *Journal of Controlled Release*. 2013 Feb 28;166(1):10-21.
192. Bégin A, Van Calsteren MR. Antimicrobial films produced from chitosan. *International journal of biological macromolecules*. 1999 Oct 1;26(1):63-7.
193. Park SY, Marsh KS, Rhim JW. Characteristics of different molecular weight chitosan films affected by the type of organic solvents. *Journal of Food Science*. 2002 Jan;67(1):194-7.
194. Li J, Ren N, Qiu J, Mou X, Liu H. Graphene oxide-reinforced biodegradable genipin-cross-linked chitosan fluorescent biocomposite film and its cytocompatibility. *International journal of nanomedicine*. 2013;8:3415.
195. De Masi A, Tonazzini I, Masciullo C, Mezzena R, Chiellini F, Puppi D, Cecchini M. Chitosan films for regenerative medicine: fabrication methods and mechanical characterization of nanostructured chitosan films. *Biophysical reviews*. 2019 Oct;11(5):807-15.
196. Ak HP, Saurabh CK, MR NF, Syakir MI, Davoudpour Y, Rafatullah M, Abdullah CK, MK MH, Dungani R. A review on chitosan-cellulose blends and nanocellulose reinforced chitosan biocomposites: Properties and their applications. *Carbohydrate Polymers*. 2016 May 14;150:216-26.
197. Chatelet C, Damour O, Domard A. Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films. *Biomaterials*. 2001 Feb 1;22(3):261-8.
198. Ren D, Yi H, Wang W, Ma X. The enzymatic degradation and swelling properties of chitosan matrices with different degrees of N-acetylation. *Carbohydrate Research*. 2005 Oct 31;340(15):2403-10.
199. Correia CO, Caridade SG, Mano JF. Chitosan membranes exhibiting shape memory capability by the action of controlled hydration. *Polymers*. 2014 Apr;6(4):1178-86.
200. Pădurețu, C., C., Apetroaei, M., R., N. Badea, N., Bucur, L., Rău, I., and Schröder, V., "Physical-chemical characterization and biological evaluation of chitosan extracted from marine waste", in *University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest (USAMV) – Faculty of Animal Productions Engineering and Management. Scientific Papers. Series D. Animal Science, vol. LXII, no. 1, Aug. 2019, pp. 143-148.*
201. Abranches J, Zeng L, Kajfasz JK, Palmer S, Chakraborty B, Wen Z, Richards VP, Brady LJ, Lemos JA. Biology of oral streptococci. *Gram-Positive Pathogens*. 2019 Oct 1:426-34.



202. Gevers D, Knight R, Petrosino JF, Huang K, McGuire AL, Birren BW, Nelson KE, White O, Methé BA, Huttenhower C. The Human Microbiome Project: a community resource for the healthy human microbiome. *PLoS Biol.* 2012 Aug 14;10(8):e1001377.
203. Huse SM, Ye Y, Zhou Y, Fodor AA. A core human microbiome as viewed through 16S rRNA sequence clusters. *PloS one.* 2012 Jun 13;7(6):e34242.
204. Tahir L, Nazir R. Dental Caries, Etiology, and Remedy through Natural Resources. *Dental Caries-Diagnosis, Prevention and Management*, Zühre Akarslan, IntechOpen, DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.201811>. 2018 Nov 5;75937:19.
205. Timoșca S., Petreanu V., Coman G., Colev A., Haralamb E. *Lucrări practice de microbiologie și parazitologie*, 1980, Litografia I.M.F., p.77 – 81
206. Buiuc D., Neguț M. *Tratat de microbiologie clinică*, ed. a III-a, Editura Medicală, București, 2009, pg. 461-470, 563-567, 586-591, 695-703, 711-717, 740-743, 765-786, 961-991.
207. Sponchiado G, Adam ML, Silva CD, Soley BS, de Mello-Sampayo C, Cabrini DA, Correr CJ, Otuki MF. Quantitative genotoxicity assays for analysis of medicinal plants: A systematic review. *Journal of ethnopharmacology.* 2016 Feb 3;178:289-96.
208. Varanda EA, Pozetti GL, Lourenço MV, Vilegas W, Raddi MS. Genotoxicity of *Brosimum gaudichaudii* measured by the Salmonella/microsome assay and chromosomal aberrations in CHO cells. *Journal of ethnopharmacology.* 2002 Jul 1;81(2):257-64.
209. Carnesoltas Lázaro D, Izquierdo López Y, Frías Vázquez AI, Domínguez Odio A, González JE, Sánchez LM, García Delgado N. Genotoxic assessment of aqueous extract of *Rhizophora mangle* L.(mangle rojo) by spermatozoa head assay. *Revista Cubana de Plantas Medicinales.* 2010 Mar;15(1):0-.
210. Odunola OA, Oyibo A, Gbadegesin MA, Owumi SE. Assessment of In-vitro Antioxidant Activities and Genotoxicity in *E. coli* of Ethanol Extracts of *Vitellaria paradoxa* (Gaertn. F). *Archives of Basic and Applied Medicine.* 2019 Mar 12;7(1):13-20.
211. Quillardet P, Huisman O, D'ari R, Hofnung M. SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1982 Oct 1;79(19):5971-5.
212. Quillardet P, Hofnung M. The SOS Chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: procedures. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects.* 1985 Jun 1;147(3):65-78.
213. Jolibois B, Guerbet M. Evaluation of industrial, hospital and domestic wastewater genotoxicity with the Salmonella fluctuation test and the SOS chromotest. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* 2005 Jan 3;565(2):151-62.
214. Mišik M, Ferk F, Schaar H, Yamada M, Jaeger W, Knasmueller S, Kreuzinger N. Genotoxic activities of wastewater after ozonation and activated carbon filtration: Different effects in liver-derived cells and bacterial indicators. *Water Research.* 2020 Nov 1;186:116328.
215. Ye Y, Weiwei J, Na L, Mei M, Donghong W, Zijian W, Kaifeng R. Assessing of genotoxicity of 16 centralized source-waters in China by means of the SOS/umu assay and the micronucleus test: initial identification of the potential genotoxicants by use of a GC/MS method and the QSAR Toolbox 3.0. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* 2014 Mar 15;763:36-43.
216. Verschaeve L, Wambacq S, Anthonissen R, Maes A. Co-exposure of ELF-magnetic fields and chemical mutagens: An investigation of genotoxicity with the SOS-based VITOTOX test in *Salmonella typhimurium*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* 2016 Jan 1;795:31-5.
217. Takemoto K, Yamazaki H, Nakajima M, Yokoi T. Genotoxic activation of benzophenone and its two metabolites by human cytochrome P450s in SOS/umu assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* 2002 Aug 26;519(1-2):199-204.
218. Serment-Guerrero J, Dominguez-Monroy V, Davila-Becerril J, Morales-Avila E, Fuentes-Lorenzo JL. Induction of the SOS response of *Escherichia coli* in repair-defective strains by several



- genotoxic agents. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2020 Jun 1;854:503196.
219. Chen J, Lü H, Fang LX, Li WL, Verschaeve L, Wang ZT, De Kimpe N, Mangelinckx S. Detection and toxicity evaluation of pyrrolizidine alkaloids in medicinal plants *Gynura bicolor* and *Gynura divaricata* collected from different Chinese locations. *Chemistry & biodiversity*. 2017 Feb;14(2):e1600221.
220. Edziri H, Guerrab M, Anthonissen R, Mastouri M, Verschaeve L. Phytochemical screening, antioxidant, anticoagulant and in vitro toxic and genotoxic properties of aerial parts extracts of *Fumaria officinalis* L. growing in Tunisia. *South African Journal of Botany*. 2020 May 1;130:268-73.
221. Aiub C, Stankevicius L, Da Costa V, Ferreira F, Mazzei J, da Silva AR, de Moura RS, Felzenszwalb I. Genotoxic evaluation of a vinifera skin extract that present pharmacological activities. *Food and chemical toxicology*. 2004 Jun 1;42(6):969-73.
222. Rodeiro I, Cancino L, González JE, Morffi J, Garrido G, González RM, Nuñez A, Delgado R. Evaluation of the genotoxic potential of *Mangifera indica* L. extract (Vimang), a new natural product with antioxidant activity. *Food and Chemical Toxicology*. 2006 Oct 1;44(10):1707-13.
223. Vargas VM, Motta VE, Leitao AC, Henriques JA. Mutagenic and genotoxic effects of aqueous extracts of *Achyrocline satureoides* in prokaryotic organisms. *Mutation Research/Genetic Toxicology*. 1990 Jan 1;240(1):13-8.
224. Oliveira VC, Naves MP, de Moraes CR, Constante SA, Orsolin PC, Alves BS, Neto FR, da Silva LH, de Oliveira LT, Ferreira NH, Esperandim TR. Betulinic acid modulates urethane-induced genotoxicity and mutagenicity in mice and *Drosophila melanogaster*. *Food and Chemical Toxicology*. 2020 Apr 1;138:111228.
225. Cvetković S, Todorović S, Nastasijević B, Mitić-Ćulafić D, Đukanović S, Knežević-Vukčević J, Nikolić B. Assessment of genoprotective effects of *Gentiana lutea* extracts prepared from plants grown in field and in vitro. *Industrial Crops and Products*. 2020 Oct 15;154:112690.
226. Edziri H, Jaziri R, Haddad O, Anthonissen R, Aouni M, Mastouri M, Verschaeve L. Phytochemical analysis, antioxidant, anticoagulant and in vitro toxicity and genotoxicity testing of methanolic and juice extracts of *Beta vulgaris* L. *South African Journal of Botany*. 2019 Nov 1;126:170-5.
227. Singh BK, Dutta PK. Chitin, chitosan, and silk fibroin electrospun nanofibrous scaffolds: a prospective approach for regenerative medicine. In *Chitin and Chitosan for Regenerative Medicine 2016* (pp. 151-189). Springer, New Delhi.
228. Zhou X, Zhang X, Zhou J, Li L. An investigation of chitosan and its derivatives on red blood cell agglutination. *RSC advances*. 2017;7(20):12247-54.
229. Kojima K, Okamoto Y, Miyatake K, Kitamura Y, Minami S. Collagen typing of granulation tissue induced by chitin and chitosan. *Carbohydrate polymers*. 1998 Oct 1;37(2):109-13.
230. Taheri P, Jahanmardi R, Koosha M, Abdi S. Physical, mechanical and wound healing properties of chitosan/gelatin blend films containing tannic acid and/or bacterial nanocellulose. *International journal of biological macromolecules*. 2020 Jul 1;154:421-32.
231. Berteanu E, Ionita D, Simoiu M, Paraschiv M, Tatia R, Apatean A, Sidoroff M, Tcacenco L. Evaluation of biodegradation and biocompatibility of collagen/chitosan/alkaline phosphatase biopolymeric membranes. *Bulletin of Materials Science*. 2016 Apr 1;39(2):377-83.