

TEHNOLOGIE DE OBTINERE A BALSAMULUI AFRODISIAC ”SPIRUPOTENT”

Rudic Valeriu¹, Carauș Vladimir²

¹Institutul de Microbiologie și Biotehnologie

²Scoala Doctorală Științe Biologice a Universității de Stat ”Dimitrie Cantemir”

Rezumat

În articol este descrisă tehnologia de producere a balsamului curativo-profilactic cu efect afrodisiac ”Spirupotent”. Balsamul include extracte din rădăcina de *Glycyrrhiza glabra* L., rizomii *Acorus calamus* L., partea aeriană de *Hypericum perforatum* L., partea aeriană *Origanum vulgare* L., frunze de *Mentha piperita* L., partea aeriană de *Achillea millefolium* L., muguri de *Pinus sylvestris* L., partea aeriană de *Helichrysum italicum* Roth, partea aeriană de *Monarda citriodora* Cerv.ex Lag, partea aeriană de *Salvia officinalis* L., semințe de *Amaranthus caudatus* L., partea aeriană și rizom de *Apium graveolens* L., rădăcină și partea aeriană de *Petroselinum crispum*, flori de *Robinia pseudoacacia* L., extract din tescovină și semințe de struguri Vites vinifera, extract din endocarp și septuri de nucleu Juglans regia, extract de spirulină, vin roșu dulce. Balsamul curativo-profilactic ”Spirupotent” cu efect afrodisiac are o compoziție echilibrată, cu o activitate antioxidantă performantă. Etapele fluxului tehnologic de producere a balsamului asigură manifestarea efectului sinergic al componentelor cu capacitate de reducere a radicalilor liberi. Efectele benefice ale balsamului în disfuncțiile erectile

sunt asigurate în mare măsură de activitatea antioxidantă a balsamului, în special de capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric, implicarea căruia în aceste patologii este demonstrată.

Cuvinte cheie: produs curativo-profilactice, afrodisiac, activitate antioxidantă, capacitate de reducere a NO[•], materiale vegetale, spirulină.

Depus la redacție: 20 decembrie 2019

Adresa pentru corespondența: Carauș Vladimir, caraus_vadim@mail.ru; tel. (+373 22) 72 53 06

Introducere

Disfuncțiile sexuale prezintă un simptom medical și social grav care apare, după diferite estimări, la 10-52% dintre bărbați și 25-63% dintre femei [2,3,8]. Cauzele organice ale disfuncției erectile includ hipogonadismul, hiperprolactinemă și tulburările neurologice. Diabetul, afecțiunile cardio-vasculare, afecțiunile tractului urinar și maladiile cronice sunt de asemenea factori de risc semnificativi pentru disfuncțiile sexuale. Dintre cauzele sociale ale acestor tulburări, cel mai important factor este stresul. Depresia și anxietatea sunt implicate în dezvoltarea disfuncțiilor sexuale la femei și bărbați [7]. Mai multe studii controlate randomizate susțin corelarea între mediul inflamator și disfuncția erectilă la bărbații care suferă de boli metabolice [5]. În plus, multe tratamente administrate în caz de diabet zaharat, hipertensiune arterială și psihoză contribuie, de asemenea, la agravarea situației cu disfuncție erectilă la bărbați și libido la femei. Este bine cunoscut faptul că la persoanele care suferă de stres și insomnie pentru o lungă perioadă de timp, libidoul scade, ducând din nou la apariția stresului și a insomniei, declanșând astfel un cerc vicios de patologie.

În prezent, medicamentele disponibile și tratamentele destinate disfuncțiilor sexuale, inclusiv cele erectile, au o eficiență limitată, se caracterizează prin numeroase efecte secundare neplăcute și contraindicații în anumite tulburări. Citratul de sildenafil (Viagra) este unul dintre cele mai de succes medicamente în acest scop, care modifică hemodinamica penisului, provocând reacții adverse comune, cum ar fi dureri de cap, înroșire facială, dispepsie și congestie nazală. Din aceste motive, dezvoltarea unor noi medicamente eficiente, cu efecte adverse minime în tratamentul disfuncției sexuale, rămâne în permanență în centrul atenției cercetătorilor.

A fost demonstrată legătura dintre stresul oxidativ și disfuncțiile sexuale la bărbați [10]. Corelarea respectivă se produce, în special, prin intermediul oxidului nitric. Oxidul nitric (NO) este considerat molecula cheie pentru mecanismele erectile: cascada NO / cGMP (guanozin monofosfatul ciclic) este principalul sistem de control al erecției penisului [1]. NO acționează asupra relaxării vasculaturii și a mușchilor netezi ai penisului pe calea cGMP. Atunci când concentrațiile de specii reactive ale oxigenului (SRO) depășesc abilitățile de decontaminare ale celulelor, O₂^{•-} reacționează cu NO, ceea ce duce la producerea de specii reactive ale azotului (SRN), inclusiv peroxinitrit (ONOO[•]) și acid peroxinitros (ONOOH); ambii compuși sunt foarte reactivi, având activitate citotoxică ridicată [4]. De rând cu aceasta se reduce brusc disponibilitatea oxidului nitric pentru reacțiile care asigură funcția erectilă.

Având în vedere că stresul oxidativ este practic omniprezent și nedagnosticabil în evaluarea de rutină și că administrarea de scavengeri ai SRO este relativ lipsită de reacții adverse, tratamentul cu antioxidanți se propune ca o substituție sau o

completare la terapiile existente pentru disfuncțiile sexuale masculine. Efecte benefice ale antioxidanților atât în tratamentul, cât și în prevenirea disfuncțiilor erectile sunt asigurate prin disponibilitatea crescută a oxidului nitric și reducerea stresului oxidativ [10].

Elaborarea de remedii preventive și terapeutice pentru disfuncțiile erectile bazate pe componente naturale este o direcție de perspectivă în biomedicina contemporană. Pornind de la aceasta, cercetările noastre s-au concentrat pe conceperea unui remediu curativo-profilactic, care, împreună cu efectul antioxidant, are și acțiune afrodisiacă.

Metode de cercetare

În calitate de materie primă vegetală au fost utilizate rădăcina de lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra* L.), rizomii de obligeană (*Acorus calamus* L.), partea aeriană de sunătoare (*Hypericum perforatum* L.), partea aeriană de sovârv (*Origanum vulgare* L.), frunze de izmă bună (*Mentha piperita* L.), partea aeriană de coada-șoricelului (*Achillea millefolium* L.), muguri de pin (*Pinus sylvestris* L.), partea aeriană de imortele (*Helichrysum italicum* Roth), partea aeriană de mentă decorativă (*Monarda citriodora* Cerv.ex Lag), partea aeriană de salvie (*Salvia officinalis* L.), semințe de amarant (*Amaranthus caudatus* L.), partea aeriană și rizom de țelină (*Apium graveolens* L.), rădăcina și partea aeriană de pătrunjel (*Petroselinum crispum*), flori de salcâm (*Robinia pseudoacacia* L.). De asemenea, a fost utilizată biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* CNMN-CB-11, obținută în laboratorul Ficobiotehnologie al Institutului de Microbiologie și Biotehnologie.

Determinarea activității antioxidante s-a efectuat cu utilizare metodei de reducere a radicalului cation $ABTS^{+}$ [9]. Radicalul ABTS este generat prin oxidarea ABTS (2,2 azinobis 3-etilbenzotiazolină-6- acidului sulfonic), iar reducerea lui are loc prin mecanismul de adăugare de electroni. Oxidarea ABTS în scopul formării radicalului cation ABTS se realizează cu utilizarea persulfatului de potasiu. Pentru aceasta se prepară soluția stoc a reagentului ABTS de 7 mM în apă deionizată, la care se adaugă persulfatul de potasiu în concentrația de 2,45 mM în raport de 1:1.

Reacția de formare a radicalului ABTS decurge la întuneric, la temperatura camerei timp de cel puțin 12-16 ore. Soluția de lucru se prepară din soluția stoc de ABTS, care se dizolvă în etanol sau apă distilată până la stabilizarea valorii absorbanței la $0,700 \pm 0,020$ unități la lungimea de undă de 734 nm.

Amestecul reactant constă din 0,3 ml extract antioxidant și 2,7 ml soluție ABTS. Reacția de reducere decurge la temperatura camerei timp de 6 min.

Activitatea antioxidantă este exprimată în unități echivalente de Trolox - mM Trolox / g substanță activă (biomasă), utilizând curba de calibrare pentru Trolox. Intervalul liniar pentru curba de calibrare este de 20 - 1000 μ M Trolox ($r^2 = 0,9976$).

Determinarea capacității de reducere a radicalului oxidului nitric NO \cdot . Principiul metodei constă în determinarea de producere a radicalului oxidului nitric generat de nitroprusid de sodiu. Oxidul nitric interacționează cu oxigenul și formează nitriți care sunt determinați spectrofotometric cu utilizarea reagentul Greiss. Formarea cromoforului are loc în rezultatul diazotizării nitritului cu sulfanilamidă și cuplarea lui cu naftiletilediamină.

Soluția de nitroprusid de sodiu se prepară imediat înaintea efectuării testului, prin dizolvarea a 10 mM nitroprusid de sodiu în 20 mM soluție tampon fosfat, pH 7,4.

Pentru aceasta se prepară:

- $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10 mM: 0,262 g la 100 ml sol tampon fosfat;
- Sol tampon fosfat: 1,36 g KH_2PO_4 la 100 ml H_2O (100 ml 0,1M KH_2PO_4) 0,4 g NaOH la 100 ml H_2O (100 ml 0,1M NaOH)

Se amestecă 100 ml 0,1M KH_2PO_4 cu 78,2 ml 0,1M NaOH. Se obține soluția tampon cu pH 7,4. Amestecul reagent conține 0,5 ml probă și 0,5 ml soluție nitroprusid de sodiu este supus incubării la 25°C timp de 150 min. După perioada de incubare, la amestec se adaugă 2 ml reagentul Greiss (1% sulfanilamidă, 2% acid fosforic și 0,1% naftiletilediamină dihidroclorid) și se măsoară extincția la 542 nm.

Valoarea rezultatelor se exprimă în % inhibiție al producerii oxidului nitric. În calitate de control pozitiv se aplică acidul ascorbic soluție 0,01 mg/ml [6].

Rezultate și discuții

Blsamul curativo-profilactic cu activitate antioxidantă înaltă și efect afrodisiac include în calitate de ingrediente vegetale macerate din următoarele materiale vegetale (la un litru de balsam): rădăcini de lemn-dulce (*Glycyrrhiza glabra L.*) 2,00g , rizomi de obligeană (*Acorus calamus L.*) 0,13 g, părți aeriene de sunătoare (*Hypericum perforatum L.*) 0,65 g, părți aeriene de sovârf (*Origanum vulgare L.*) 0,52 g, frunze de izmă bună (*Mentha piperita L.*) 0,81g, părți aeriene de coada-șoricelului (*Achillea millefolium L.*) 0,75g, muguri de pin (*Pinus silvestris L.*) 1,00 g, Strugure de viță de vie (semințe și tescovină din boabe de struguri) (*Vitis vinifera*) 2,00, flori de salcâm (*Robinia pseudoacacia L.*) 2,00g, rizomi cu părți aeriene de țelină (*Apium graveolensL*) 5,00 g, rădăcini cu părți aeriene de pătrunjel (*Petroselinum crispum*) 2,00 g, coji de Nuci (*Juglans regia*) 2,00 g. Afară de aceasta balsamul mai conține extract din spirulină cu concentrația de 20 mg/ml, vin roșu de desert tratat, alcool etilic. Procesul tehnologic de fabricație este prezentat în figura 1.

Prima etapă de fabricație include prepararea amestecului de plante și a soluției hidro etanolică. Produsul vegetal este fragmentat până la dimensiunea particulelor, ce trec prin sita cu mărimea ochiurilor de 7 mm. Amestecul vegetal constă din masele proporționale (conform rețetei) de rădăcină de lemn dulce; părți aeriene de sunătoare; sovârv și coada-șoricelului; rădăcini de obligeană; frunze de izmă bună; muguri de pin; strugure de viță de vie (semințe și tescovină din boabe de struguri); flori de salcâm; rizomi cu părți aeriene de țelină; rădăcini cu părți aeriene de pătrunjel și coji de nuci. Soluția hidro etanolică de 50% se prepară prin dizolvarea alcoolului etilic de 96.1-96-7% cu apă purificată.

Amestecul vegetal se trece în vasul de macerare, iar peste el se toarnă soluția hidro etanolică. Se utilizează aproximativ 400-600 g de solvent la 1 kg produs vegetal. Se lasă la umectat 2-4 ore în sistem închis pentru a evita evaporarea solventului. Amestecul umectat se trece în percolator. Peste el se toarnă soluția hidro etanolică astfel, ca masa vegetală să fie sub nivelul solventului cu 30-40 mm. Percolatorul se închide și se lasă la macerare pentru 5 zile. Peste 5 zile se scurge aproximativ o jumătate din conținutul percolatorului. Volumul extras se înlocuiește cu soluție hidro etanolică. Din nou se lasă la macerare timp de 5 zile, apoi se scurge jumătate din volum. Se adaugă soluție hidro etanolică astfel, ca să completeze volumul amestecului la cel inițial și din nou se lasă la macerat pentru 5 zile. În final se extrage tot extractul din percolator. În total 3 fracții care se întrunesc. În scop de cercetare, în fiecare dintre aceste fracții a fost determinată

valoarea activității antioxidante și capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric (rezultatele sunt prezentate în tabelul 1). În producere asupra fracțiilor obținute nu se intervine.

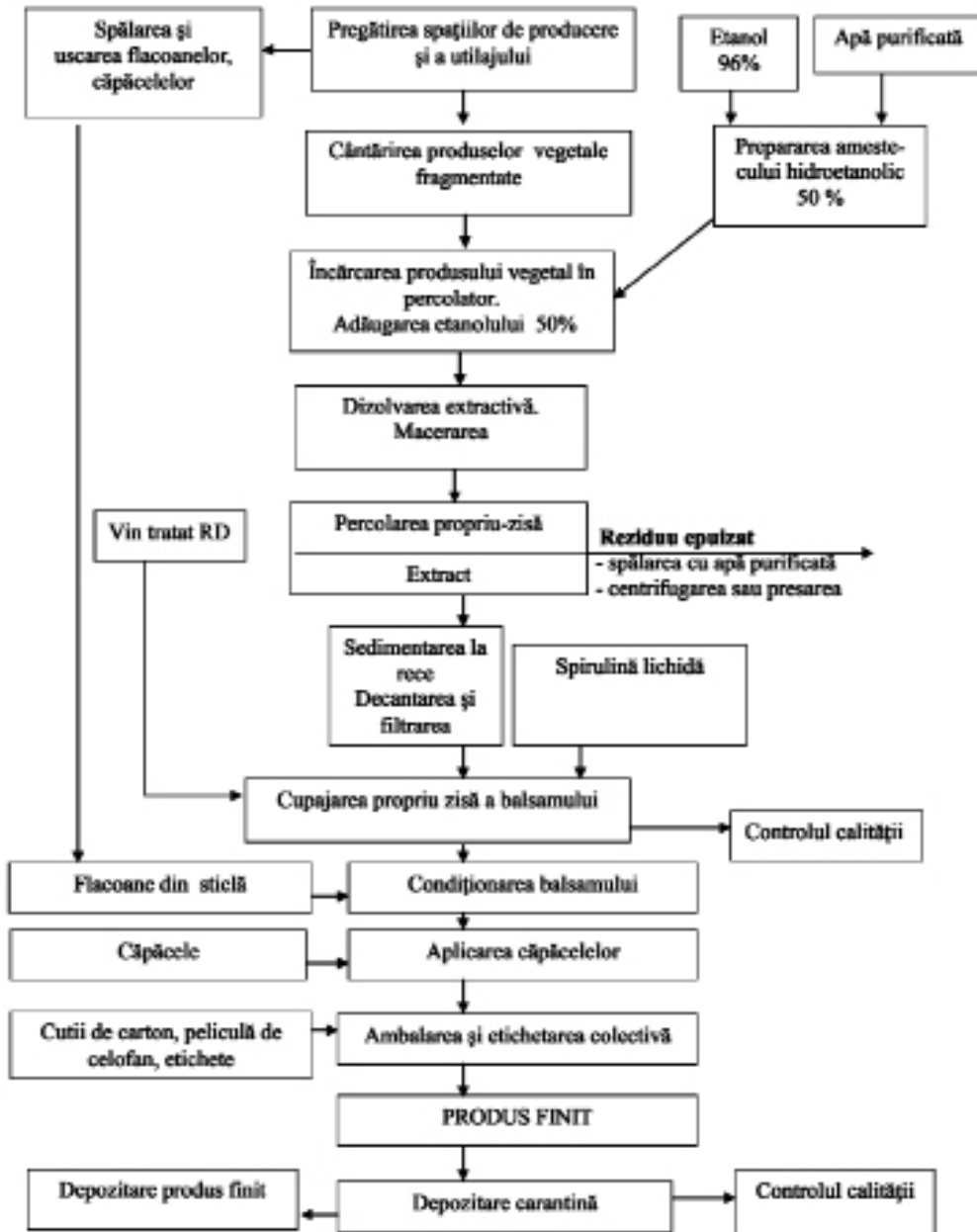


Fig. 1. Procesul tehnologic de producere industrială a balsamului Spirupotent cu efect afrodisiac.

Cele trei fracții se amestecă și se trec în vasul de sedimentare. Vasul de sedimentare cu extract se trece la frigider și se lasă în repaus la temperatura de 5-8°C timp de 24-48 ore. În producere, la expirarea termenului stabilit se ia proba pentru controlul calității

și după rezultatul pozitiv produsul extractiv se decantează și se filtrează. În scop de cercetare la această etapă s-au preluat probe de extract după sedimentare în care s-a determinat activitatea antioxidantă și capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric (rezultatele sunt prezentate în tabelul 1).

Tabelul 1. Capacitatea de reducere a radicalilor ABTS⁺ și NO[•] a componentelor balsamului "Spirupotent" la diferite etape ale fluxului tehnologic.

Componenta balsamului	Etapa fluxului tehnologic	Activitatea antioxidantă	
		Capacitatea de reducere a ABTS ⁺ μg Trolox echivalent/ml	Capacitatea de reducere a NO [•] % inhibiție
Macerat	I macerare	968±44	62,5±1,8
	II macerare	549±24	44,8±0,9
	III macerare	360±27	40,6±2,5
Extract combinat	După sedimentare	1220±43	65,2±0,9
Spirulina	Până la adăugare	60±9	43,0±0,4
Vin roșu	Până la adăugare	1644±51	82,5±2,0
Balsam "Spirupotent"	Produs finit	5678±62	94,4±1,7

În reactor cu ajutorul pompei se trece vinul roșu tratat, extractul din spirulină, extractul hidro alcoolic din produsele vegetale, etanolul și apa purificată în cantități specificate în rețetă. După acestea toate componentele se amestecă timp de 3 ore.

Balsamul obținut se filtrează prin filtru cu plăci. Presiunea în timpul filtrării nu trebuie să depășească 2,5 kg /cm². După filtrare din nou au fost efectuate testele de determinare a activității antioxidante și a capacității de reducere a oxidului nitric.

Rezultatele obținute demonstrează o capacitate înaltă a produsului finit – balsamul "Spirupotent" de a reduce radicalul cation ABTS⁺ și radicalul oxidului nitric. Este important de menționat că tehnologia de producere a balsamului asigură o combinație a componentelor, care se caracterizează prin sinergism a componentelor față de radicalii testați.

Astfel, activitatea antioxidantă a extractului combinat din 3 macerări ulterioare este mai mare decât valoarea teoretică așteptată din rezultatul simplei cumulări a activității celor 3 extracte din macerările individuale. La fel și produsul finit are o activitate antioxidantă mai înaltă decât componentele care formează cupajul final – vinul, extractul de spirulină, extractul combinat din materia primă vegetală. De asemenea, valorile obținute sunt mai mari decât valoarea teoretică așteptată din simpla cumulare a efectelor componentelor.

Balsamul curativo-profilactic "Spirupotent" cu efect afrodisiac are o compoziție echilibrată, cu o activitate antioxidantă performantă. Etapele fluxului tehnologic de producere a balsamului asigură manifestarea efectului sinergic al componentelor cu capacitate de reducere a radicalilor liberi. Efectele benefice ale balsamului în disfuncțiile erectile sunt asigurate în mare măsură de activitatea antioxidantă a balsamului, în special de capacitatea de reducere a radicalului oxidului nitric, implicarea căruia în aceste patologii este demonstrată.

Bibliografie

1. Burnett A.L. Novel nitric oxide signaling mechanisms regulate the erectile response. // Int J Impot Res. 2004;16(Suppl 1):S15–9. doi:10.1038/sj.ijir.3901209.

2. Gades N.M., Jacobson D.J., McGree M.E., et al. Longitudinal evaluation of sexual function in a male cohort: the Olmsted County Study of Urinary Symptoms and Health Status among Men. // *J Sex Med* 2009 6(9):2455-66. doi: 10.1111/j.1743-6109.2009.01374.x.
3. Johannes C.B., Araujo A.B., Feldman H.A., et al. Incidence of erectile dysfunction in men 40-69 years old: longitudinal results from the Massachusetts Male Aging Study.// *J Urol* 2000, 163(2):460-3; 163:460.
4. Landmesser U., Dikalov S., Price S.R., McCann L., Fukai T., Holland S.M., et al. Oxidation of tetrahydrobiopterin leads to uncoupling of endothelial cell nitric oxide synthase in hypertension.// *J Clin Invest.* 2003;111(8):1201-9. doi:10.1172/JCI14172.
5. Maiorino M. I., Bellastella G., Giugliano D., Esposito K. From inflammation to sexual dysfunctions: a journey through diabetes, obesity, and metabolic syndrome. // *Journal of Endocrinological Investigation.* 2018, 41(11):1249-1258. doi:10.1007/s40618-018-0872-6
6. Marcocci L., et al. The nitric oxide-scavenging properties of Ginkgo biloba extract Egb 761. // *Biochem Biophys Res Commun.*, 1994, 15;201(2):748-55. DOI:10.1006/bbrc.1994.1764
7. McCabe M. P., Sharlip I. D., Lewis, R., Atalla E., Balon R., Fisher A. D., Se Graves R. T. Risk Factors for Sexual Dysfunction Among Women and Men: A Consensus Statement From the Fourth International Consultation on Sexual Medicine 2015. // *The Journal of Sexual Medicine*, 2016, 13(2), 153-167. doi:10.1016/j.jsxm.2015.12.015
8. McCabe M. P., Sharlip, I. D., Lewis R., Atalla E., Balon R., Fisher A. D., Se Graves, R.T. Incidence and Prevalence of Sexual Dysfunction in Women and Men: A Consensus Statement from the Fourth International Consultation on Sexual Medicine 2015.// *The Journal of Sexual Medicine*, 2016, 13(2), 144-152. doi:10.1016/j.jsxm.2015.12.034
9. Re R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. // *Free Radical Biology & Medicine.* 1999, 10:1231-1237.
10. Sansone, A., Jannini, E. A., Romanelli, F. Antioxidants in Male Sexual Dysfunctions. // *Trends in Andrology and Sexual Medicine*, 2016, 71-79. doi:10.1007/978-3-319-41749-3_6