

**UNIVERSITATEA „AUREL VLAICU” DIN ARAD
ȘCOALA DOCTORALĂ INTERDISCIPLINARĂ
DOMENIUL: INGINERIA MEDIULUI**



REZUMAT

**Studii privind influența medicamentelor
prezente în sol asupra plantelor**

Monica Mihaela TĂȘCHINĂ

COORDONATOR ȘTIINȚIFIC:
Prof. univ. dr. habil. Lucian COPOLOVICI

ARAD
2022

CUPRINS

INTRODUCERE	4
OBIECTIVE.....	6
CAPITOLUL 1.....	7
1. Medicamente antiinflamatoare nesteroidiene (AINS).....	7
1.1. Generalități.....	7
1.3. Producția și piața farmaceutică a medicamentelor AINS.....	9
CAPITOLUL 2.....	11
2. Poluarea cu medicamente a apelor și solului.....	11
PARTEA EXPERIMENTALĂ.....	12
CAPITOLUL 5.....	12
5. Influența paracetamolului asupra plantelor de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	12
5.1. Studiul influenței concentrației de paracetamol asupra plantelor.....	12
5.1.1. Influența paracetamolului asupra parametrilor de fotosinteză	12
5.2.1. Influența paracetamolului asupra parametrilor de fotosinteză	13
5.2.4. Corelații între diverși parametrii.....	14
5.3. Concluzii	15
CAPITOLUL 6.....	16
6. Influența diclofenacului asupra plantelor de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	16
6.2. Influența diclofenacului asupra parametrilor de fotosinteză	16
6.3. Influența diclofenacului asupra vitezei de emisie a COV	17
6.6. Concluzii	18
CAPITOLUL 7.....	19
7. Influența algocalminului asupra plantelor de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	19
7.1. Influența metamizolului asupra parametrilor de fotosinteză.....	19
7.6. Concluzii	20
CAPITOLUL 8.....	21
8. Influența ketoprofenului asupra plantelor de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.....	21
8.2. Influența ketoprofenului asupra parametrilor de fotosinteză a frunzelor de fasole.....	21
8.3. Influența ketoprofenului asupra emisie de compuși organici volatili din frunzele de fasole ..	22
8.5. Concluzii	22

CAPITOLUL 9	23
9. Influența antiinflamatoarelor nesteroidiene asupra plantelor din familia <i>Fabaceae</i>	23
9.6. Corelații între parametrii	24
9.7. Concluzii	26
CONCLUZII GENERALE	27
BIBLIOGRAFIE	29

INTRODUCERE

Deoarece procesele convenționale utilizate în stațiile de epurare a apelor uzate nu sunt concepute pentru a elimina micropoluantii, aceștia pot persista în efluentul de apă uzată tratat.

Prin urmare, mulți dintre acești micropoluanți pot fi prezenți în mediile acvatice, inclusiv în apele de suprafață, iar prezența lor în apele de suprafață reprezintă o amenințare pentru ecosisteme și implicit pentru sănătatea umană. Prezența micropoluantilor în mediul acvatic este asociată cu o varietate de efecte negative, inclusiv toxicitatea pe termen scurt și lung, și rezistența la antibiotice a microorganismelor. Proprietățile fizice ale micropoluantului pot afecta mișcarea acestora dintr-o fază în alta (de exemplu, transferul sol-apă). Mobilitatea compușilor este determinată de factorii de transport/reținere, care depind de proprietățile chimice, cum ar fi constanta de aciditate (pK_a) și coeficientul de partiție octanol-apă (K_{ow}).

În clasa acestor micropoluanți intră nonilfenol și etoxilați de nonilfenol, bisfenol A, produse farmaceutice și de îngrijire personală și hormoni steroidieni.

Într-o epocă în care se acordă un nivel ridicat de îngrijire a sănătății umane, multe produse farmaceutice sunt utilizate în mod obișnuit pentru a vindeca sau preveni și alte afecțiuni, cum ar fi durerile de cap, durerile musculare sau afecțiunile inflamatorii. În prezent, medicamentele eliberate fără prescripție medicală sunt foarte populare, în special medicamentele antiinflamatoare nesteroidiene monociclice și policiclice (AINS) eliberate fără prescripție medicală. Medicamentele antiinflamatoare nesteroidiene (AINS) reprezintă unul dintre cele mai frecvent utilizate produse farmaceutice la nivel internațional și se numără printre primii 10 poluanți persistenți. Dintre AINS-urile, printre cele mai frecvent detectate în mediul înconjurător se numără diclofenacul, indometacinul și naproxenul, recunoscute ca potențiali contaminanți cu un coeficient de partiție apă-octanol ridicat și valori scăzute ale pK_a . În aceeași direcție, la aceste produse farmaceutice se observă o mare capacitate de difuzie pasivă prin membranele biologice, cu o persistență ridicată în mediile acvatice.

Din cauza prezenței relativ scăzute a AINS-urilor în apele subterane, există studii și practici limitate privitoare la apariția acestor compuși în apele subterane, deși există surse majore de contaminare, cum ar fi levigatul de la depozitele de deșeuri, interacțiunea cu corpurile de apă și drenajul sistemului de canalizare, care pot afecta apele subterane. AINS-

urile sunt produse farmaceutice mobile care se scurg din deșeurile solide, nămolurile de epurare și îngrășăminte și care ajung în cele din urmă în apele subterane. Din aceste ape, acești contaminanți pot ajunge la nivelul sistemului radicular al plantelor și implicit să reprezinte un factor de stres pentru acestea. Astfel, plantele sunt supuse unor factori de stres care pot să determine modificări în metabolismul primar și/sau secundar al acestora.

Plantele de fasole, mazăre, năut, linte și bob fac parte din *Fabaceae* care este a treia familie de plante cu flori ca mărime. În plus, nici o altă familie, nu are o distribuție geografică mai largă într-o gamă mai largă de habitate fiind distribuite pe toate continentele, cu excepția Antarcticii.

OBIECTIVE

Scopul prezentei teze de doctorat îl reprezintă investigarea modului în care medicamentele antiinflamatoare nesteroidiene (AINS) prezente în sol influențează dezvoltarea plantelor din familia *Fabaceae*. Cercetarea pornește de la ipoteza că în lipsa unor metode avansate de descompunere a acestor medicamente, în apa freatică și/sau în sol există concentrații importante de AINS. Acești compuși pot să ajungă la sistemul reticular al plantelor și pe această cale sunt asimilați de acestea implicându-se în ciclurile metabolice.

Lucrarea își propune următoarele obiective:

- Stabilirea impactului pe care îl au medicamentele antiinflamatoare nesteroidiene asupra dezvoltării plantelor.
- Determinarea concentrațiilor care pot să influențeze valorile parametrilor de fotosinteză și a compușilor de metabolism ai plantelor.
- Evaluarea parametrilor de fotosinteză, concentrațiile clorofilelor și carotenilor, emisia de compuși organici volatili pentru plantele din familia *Fabaceae* supuse stresului indus de AINS.
- Stabilirea speciilor mai puțin sensibile la prezența micropoluantilor în sol.
- Evaluarea implicațiilor pe care le poate genera pentru mediu emisiile de compuși organici volatili din plantele supuse stresului abiotic.

CAPITOLUL 1

1. Medicamente antiinflamatoare nesteroidiene (AINS)

1.1. Generalități

Produsele farmaceutice sunt un grup de compuși organici emergenți care au contribuit la îmbunătățirea calității vieții noastre. Industria farmaceutică este responsabilă pentru dezvoltarea, producția și comercializarea produselor farmaceutice de marcă și generice. În 2014, veniturile farmaceutice totale la nivel mondial au depășit pentru prima dată 1 trilion de dolari americani (USD). Din 2017, piața a crescut cu o rată anuală de 5,8%. În 2017, veniturile pieței farmaceutice mondiale au fost de 1143 miliarde USD și vor ajunge la 1462 miliarde USD în 2021 [1]. Cea mai mare fracțiune a acestor venituri corespunde Americii de Nord, datorită rolului de lider al industriei farmaceutice din SUA. Cu toate acestea, în ultimii ani, industria farmaceutică chineză a înregistrat cele mai mari rate de creștere dintre țările din întreaga lume [1]. Mai mulți factori, cum ar fi reducerea taxelor și scăderea prețurilor la medicamente în SUA, o creștere a produsului intern brut mai mare de 6% în China și India, îmbătrânirea pe scară largă a populației și sedentarismul care duce la creșterea numărului de boli cronice, servicii de date industrializate în cercetare și dezvoltare (R&D) care permit utilizarea datelor din studiile clinice în simulările de studii, scăderea barierelor de reglementare pentru noile medicamente în SUA și nivelurile ridicate de poluare urbană care cresc incidența unor afecțiuni precum astmul, sunt factori care determină creșterea pieței serviciilor de sănătate [1].

Medicamentele analgezice includ, de asemenea, medicamentele antiinflamatoare nesteroidiene (AINS) și paracetamolul (paracetamol). AINS sunt utilizate pentru a ameliora durerea și, de asemenea, pentru a suprima inflamația într-un mod similar cu steroizii, dar fără efectele secundare ale acestora, paracetamolul, însă, nu are proprietăți antiinflamatorii.

Antiinflamatorii, analgezice și antipiretice nu sunt înrudite din punct de vedere chimic, dar, cu toate acestea, au în comun anumite acțiuni terapeutice. Principalul mecanism de acțiune al AINS este reprezentat de inhibarea enzimei ciclooxygenază (COX). Ciclooxygenaza este necesară pentru a transforma acidul arahidonic în tromboxani, prostaglandine și prostaciline.

Efectele terapeutice ale AINS sunt atribuite lipsei acestor eicosanoizi. Mai exact, tromboxanii joacă un rol în aderența trombocitelor, prostaglandinele provoacă vasodilatație, cresc punctul de setare a temperaturii în hipotalamus.

Există două izoenzime ale ciclooxigenazei, COX-1 și COX-2. COX-1 se exprimă constitutiv în organism și joacă un rol în menținerea mucoasei gastrointestinale, a funcției renale și a agregării plachetare. COX-2 nu se exprimă în mod constitutiv în organism; în schimb, se exprimă în mod indus în timpul unui răspuns inflamator. Cele mai multe dintre AINS sunt neselective și inhibă atât COX-1, cât și COX-2. Cu toate acestea, AINS selective pentru COX-2 (de exemplu, celecoxib) vizează doar COX-2 și, prin urmare, au un profil diferit de efecte secundare. Este important de menționat că, deoarece COX-1 este mediatorul principal pentru asigurarea integrității mucoasei gastrice, iar COX-2 este implicată în principal în inflamație, AINS selective pentru COX-2 ar trebui să ofere o ameliorare antiinflamatorie fără a compromite mucoasa gastrică [2]. Citokinele proinflamatorii, cum ar fi factorul de necroză tumorală- α și interleukina (IL)-6, IL-1 β și IL-8, trebuie să fie evidențiate datorită participării lor majore la creșterea reacției inflamatorii. Analizele structurale și funcționale ale inhibitorilor selectivi ai COX-2 în cavitatea situsului activ al COX-urilor ar putea permite introducerea unor structuri principale cu o selectivitate și o putere mai mare împotriva inflamației, cu mai puține efecte adverse. Această analiză se concentrează pe activitatea biologică a inhibitorilor sintetici recent descoperiți ai COX-2, ai inhibitorilor hibridi COX-2, ai inhibitorilor hibridi dubli COX-2/lipoxigenază și ai inhibitorilor hibridi COX-2/epoxid hidrolază solubilă, care se bazează în principal pe motivele active ale medicamentelor înrudite aprobate de US Food and Drug Administration [2]. AINS sunt compuși acizi cu hidrofobicitate variabilă. Ca analgezice, AINS sunt eficiente împotriva durerii de intensitate scăzută sau de intensitate moderată. Antipireticele reduc temperatura corporală în stările febrile [3, 4], dar principala lor activitate și aplicație clinică este ca agenți antiinflamatori în tratamentul afecțiunilor musculo-scheletice precum artrita reumatoidă și osteoartrita [4, 5].

Exemple de medicamentele antiinflamatoare nesteroidiene (AINS) și clasa farmaceutică sunt prezentate în Tabelul 1.

Tabel 1 Clasa medicamentoasă a antiinflamatoarelor nesteroidiene (AINS) [6]

Clasa farmacologică	Denumire
Derivați al acidului acetic	Indometacin

	Aceclofenac
	Combi-nații de diclofenac
	Sulindac
	Diclofenac
Butilpirazolidină	Fenilbutazonă
Coxibs	Valdecoxib
	Rofecoxib
	Celecoxib
	Etoricoxib
Fenamit	Tolfenamic (Tolfenic)
Oxicam	Tenoxicam
	Meloxicam
	Piroxicam
Derivați ai acidului propionic	Dexibuprofenul
	Acid tiaprofenic
	Flurbiprofen
	Ketoprofen
	Naproxen
	Ibuprofen
Altele	Nabumetonă

1.3. Producția și piața farmaceutică a medicamentelor AINS

Medicamentele musculo-scheletice au reprezentat cea mai mare piață farmaceutică la nivel mondial, cu 14% din total în 2017. A doua, a treia și a patra piață ca mărime au fost cele cardiovasculare, oncologice și a medicamentelor antiinfecțioase. Cea de-a cincea piață ca mărime a fost cea a medicamentelor pentru tratarea tulburărilor metabolice, cum ar fi diabetul, a bolilor tiroidiene și glandele hipofizare vor fi segmentul cu cea mai rapidă creștere pe piața farmaceutică mondială până în 2021. Acest segment va crește cu 9% pe an în viitor, după o creștere recentă de 11.6%.

Baza de date DrugBank 2019 (versiunea 5.1.3, lansată la 2 aprilie 2019) conținea 13.336 de medicamente; 10.256 erau medicamente cu molecule mici și 1670 erau medicamente biotehnologice, în timp ce 3732 au fost aprobate, 2593 au fost aprobate cu moleculă mică, 130 au fost nutraceutice, 6304 au fost experimentale, 205 erau ilicite și 256 erau medicamente retrase. Pe lângă piața farmaceutică, consumul de produse farmaceutice la

nivel mondial a fost, de asemenea, în creștere, parțial determinată de nevoia tot mai mare de medicamente pentru tratarea bolilor legate de îmbătrânire și a bolilor cronice și a schimbărilor în practica clinică [4, 5].

Se estimează că medicamentele antiinflamatoare nesteroidiene (AINS), unul dintre cele mai importante grupuri de medicamente, sunt produse în cantități de câteva mii de tone pe an [7]. AINS sunt utilizate în mod obișnuit în tratamentele analgezice, antipiretice și antiinflamatorii, precum și în prevenirea infarctului miocardic [8]. Spre exemplu, consumul de paracetamol în întreaga lume a crescut. Acesta este clasat printre primele trei medicamente prescrise în Anglia și top 200 rețete prescrise în SUA [9]. În Marea Britanie, în fiecare an se consumă aproximativ $3,2 \times 10^9$ comprimate de paracetamol iar în SUA aproximativ $3,6 \times 10^9$, ceea ce reprezintă o medie de 55 de comprimate/persoană [10]. În țările nordice, consumul de paracetamol depășește 20 g/persoană/an [11].

Diclofenac este inclus în lista de medicamente de urgență (EML) a 74 țări. Consumul anual exact de diclofenac în America de Nord nu este disponibil, chiar dacă în America de Nord, cotele de piață ale DCF pe piața medicamentelor sunt în continuă creștere. În SUA, DCF contribuie la aproximativ 5-6% din totalul pieței AINS, în timp ce în Canada, 17% din piața AINS consumate este DCF. În conformitate cu tendința actuală, consumul de DCF va continua să crească în America de Nord, deoarece stilul de viață și bolile legate de stilul de viață, cum ar fi artrita și bolile de inimă, devin acum frecvente și, de asemenea, populația îmbătrânită va avea nevoie de medicamente, cum ar fi analgezicele [12].

Datele anuale privind consumul sau prescrierea de diclofenac sunt disponibile pentru unele țări. Conform modelelor de estimare a consumului, în Australia, s-a estimat că se utilizează anual 4 tone de DCF [13]. În Europa, cel mai mare utilizator de DCF este Germania cu 86 de tone de DCF în anul 2001 [14]. Pentru restul țărilor europene (la nivelul anului 2001), consumul este: Anglia 26,13 tone pe an, Austria 6,14 tone pe an [15] și Franța 16 tone pe an [16-20]. Consumul total de DCF pe întreg continentul european a fost estimat la 179,8 tone pe an [15]. Pentru majoritatea țărilor asiatice și africane, datele privind consumul de DCF nu sunt disponibile din cauza lipsei studiilor privind consumul și, de asemenea, din cauza absenței unui inventar al vânzărilor. Având în vedere rapoartele frecvente privind efectele toxicologice observate în aceste țări asupra vulturilor, se poate presupune că consumul poate fi colosal [12]. Studii recente bazate pe datele IMS Health (care deservește 82% din populația mondială) din 86 de țări au estimat că în prezent se consumă în medie 1443 ± 58 tone de DCF la nivel mondial [21].

CAPITOLUL 2

2. Poluarea cu medicamente a apelor și solului

În ceea ce privește sursele de poluare, principala sursă de poluare cu medicamente este pacientul însuși. Medicamentele care sunt luate de către pacient, după ce au acționat în organism, se elimină împreună cu urina sau fecalele, fără a fi metabolizate, sau ca metaboliți activi, intrând în apele de canalizare. În figura 7 este prezentat schematic sursele și căile posibile de apariție a reziduurilor de medicamente în sol și ape.

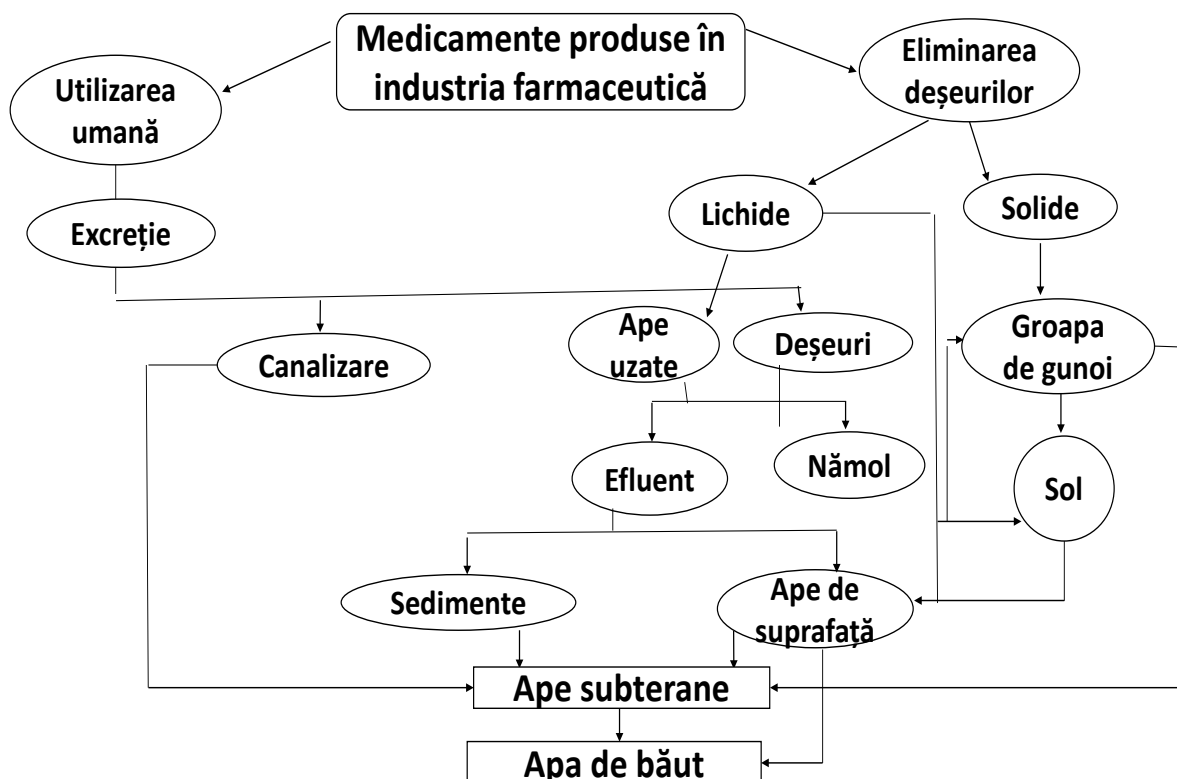


Figura 7. Sursele și căile posibile de apariție a reziduurilor de medicamente în sol și ape.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

CAPITOLUL 5

5. Influența paracetamolului asupra plantelor de *Phaseolus vulgaris* L.

În acest capitol a fost examinată influența paracetamolului asupra plantelor de fasole (*Phaseolus vulgaris* L.). Pe de o parte s-au folosit diferite concentrații de paracetamol (1 g L^{-1} , 2 g L^{-1} , 3 g L^{-1} și 4 g L^{-1}) pe o singură varietate de fasole și de asemenea la concentrația maximă (4 g L^{-1}) a fost studiat modul în care mai multe varietăți de fasole răspund la prezența paracetamolului. Pentru a stabili modul în care paracetamolul influențează creșterea și dezvoltarea plantelor de fasole s-au întrebuițat diverse soiuri de *Phaseolus vulgaris* L. după cum urmează: Minidor (GBBR, Bekescsaba Ungaria), Fideluță (Mefim Agro Bekescsaba Ungaria), Odir (GBBR, Bekescsaba Ungaria) și Ecaterina (Agrosel, Câmpia Turzii, Romania).

5.1. Studiul influenței concentrației de paracetamol asupra plantelor

5.1.1. Influența paracetamolului asupra parametrilor de fotosinteză

Vitezele nete de asimilație și conductanțele stomatală la vaporii de apă nu sunt semnificativ diferite față de control pentru plantele tratate cu 1 g L^{-1} paracetamol. Viteza de asimilare scade cu mai mult de 20% în cazul plantelor tratate cu 2 g L^{-1} paracetamol (Figura 17).

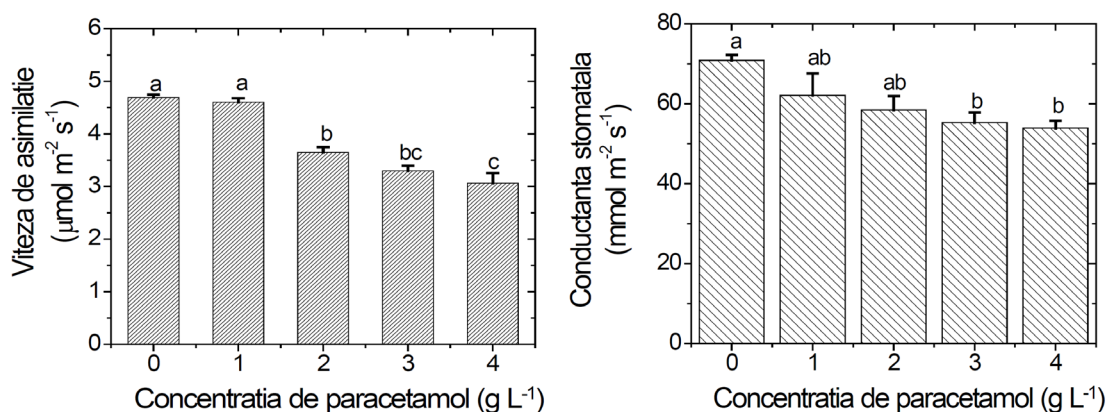
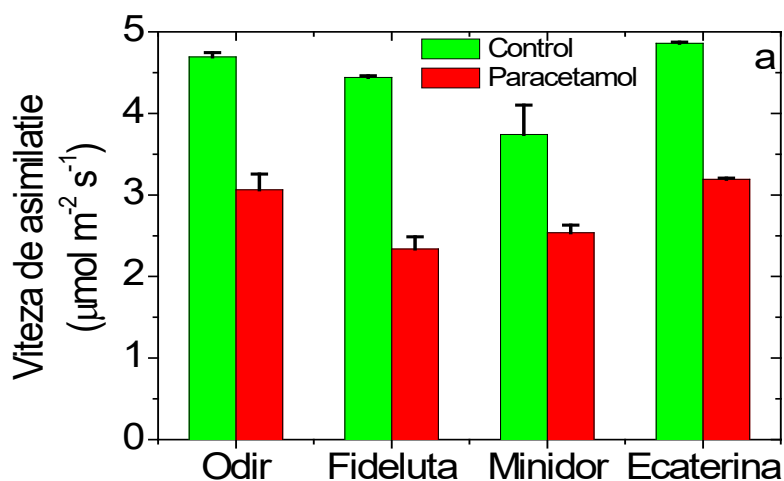


Figura 17. Modificări în viteza de asimilație și conductanța stomatală pentru plantele de *Phaseolus vulgaris* L. cv. “Odir” tratate cu paracetamol.

Aceeași tendință a fost observată pentru conductivitatea stomatală, dar în acest caz nu există diferențe semnificative între plantele tratate cu o concentrație mai mare de 2 g L^{-1} paracetamol. Un astfel de comportament al vitezei de asimilare și al conductivității stomatale indicând scăderea activității fotosintetice potențială a plantei în toate tratamentele comparativ cu plantele de control. Rezultatele noastre sunt în concordanță cu [22], care a demonstrat o scădere a raportului fluorescenței clorofilelor pentru plantele tratate cu paracetamol.

5.2.1. Influența paracetamolului asupra parametrilor de fotosinteză

Este cunoscut faptul că fotosinteza este puternic influențată de secetă, frig, sare, căldură, stres oxidativ, toxicitate cu metale grele și alți factori de stres [23]. Condițiile de stres distrug ultrastructura cloroplastului și conduc la o scădere a cantității de clorofilă, ceea ce duce la o activitate fotosintetică mai redusă [24]. Din (Figura 23 a)) se observă că viteza de asimilație a dioxidului de carbon pentru plantele tratate cu paracetamol scade dar și că există diferențe semnificative între varietățile de fasole, Fideluță și Minidor fiind cele mai afectate de prezența paracetamolului. Aceste diferențe pot fi explicate prin susceptibilitatea diferită a acestor varietăți față de stres fiind cunoscut faptul că unele varietăți sunt mai rezistente iar altele mai puțin rezistente. Cantitatea de apă din plante și fotosinteza sunt guvernate de valoarea conductanței stomatale și se constată că aceasta este grav afectată de diverși factori de stress [25]. De asemenea, s-a demonstrat că stresul are o influență negativă asupra vitezei de transpirație [26] și afectează fixarea CO_2 prin reducerea sintezei și provocarea degradării enzimelor implicate în procesul de asimilare a CO_2 .



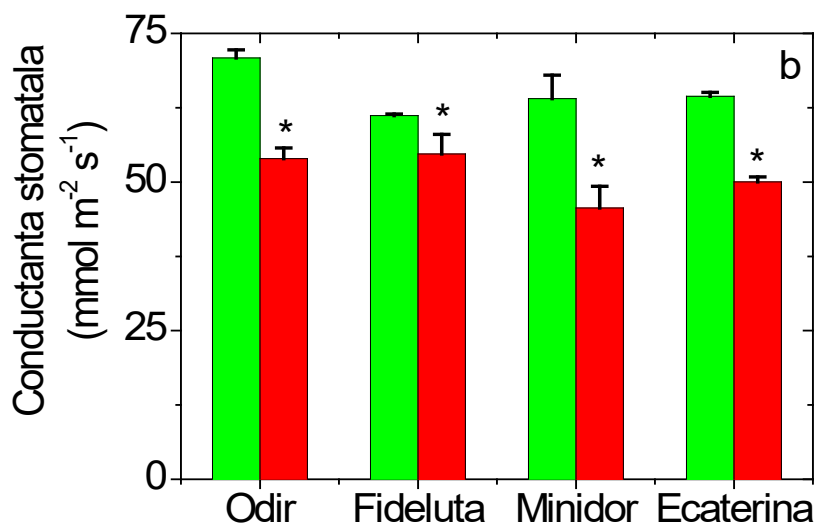
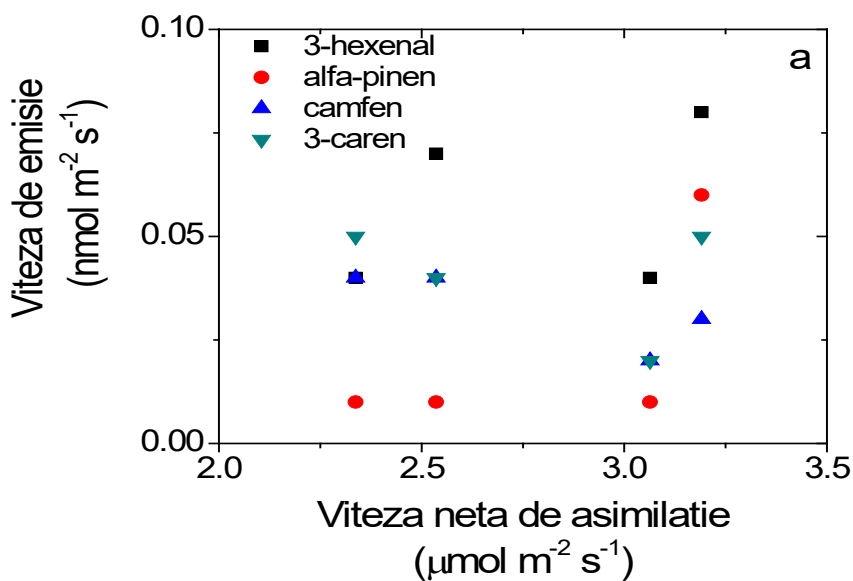


Figura 23. Variația vitezei de asimilație (a) și a conductanței stomatale (b) pentru diverse varietăți de fasole tratate cu 4 g L⁻¹ paracetamol

5.2.4. Corelații între diverși parametrii

În vederea stabilirii modului în care concentrația mare de paracetamol influențează diverși parametrii fiziologici ai plantelor, s-a încercat corelarea dintre parametrii de fotosinteză și emisia de compuși organici volatili.



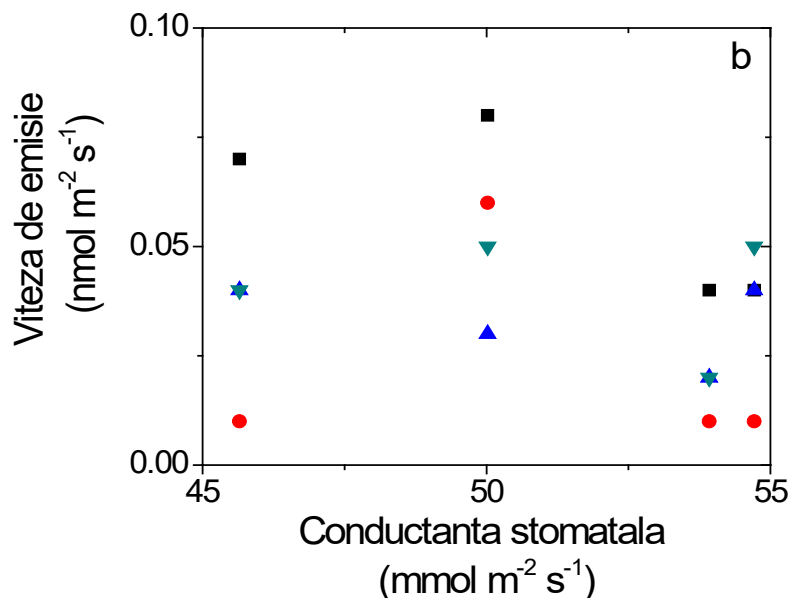


Figura 27. Corelația dintre viteza de emisie a terpenelor și viteza de asimilație (a) și conductanța stomatală (b)

Se observă că nu există o corelație între vitezele de emisie a terpenelor și parametrii de fotosinteză ceea ce înseamnă că modul în care paracetamolul intervine în ciclurile metabolice este diferit.

5.3. Concluzii

Paracetamolul rezidual din sol poate să devină un important stresor pentru plante chiar în concentrații la nivel de g L⁻¹. Plantele crescute în sol contaminat cu paracetamol prezintă parametrii fotosintetici diminuați și compuși de metabolism secundar cu concentrații scăzute față de plantele de control afectându-le capacitatea antioxidantă. S-a arătat că diversele varietăți de *P. vulgaris* reacționează diferit la stresul indus de către paracetamol mai ales în ceea ce privește parametrii de fotosinteză.

S-a demonstrat că există corelații liniare între viteza netă de asimilație și clorofila *a* pentru plantele supuse stresului.

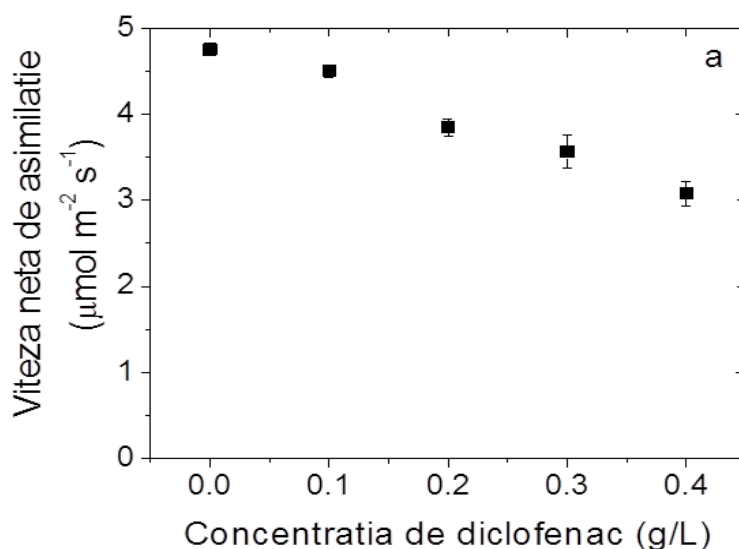
CAPITOLUL 6

6. Influența diclofenacului asupra plantelor de *Phaseolus vulgaris* L.

În acest capitol s-a analizat influența diverselor concentrații de diclofenac 0,1, 0,2, 0,3 și 0,4 g L⁻¹ asupra plantelor de fasole (*Phaseolus vulgaris* L.). Pentru experimente s-au utilizat plante de fasole (*Phaseolus vulgaris* L.) var. Ecaterina (Agrosel, Câmpia Turzii) un soi de fasole cu frunze mari și boabe cărnoase. Modul de creștere și condițiile au fost cele prezentate în Capitolul 4.

6.2. Influența diclofenacului asupra parametrilor de fotosinteză

Au fost determinați parametrii de fotosinteză ai plantelor de fasole crescute în prezența diclofenacului la diverse concentrații. Rezultatele obținute sunt prezentate în (Figura 32).



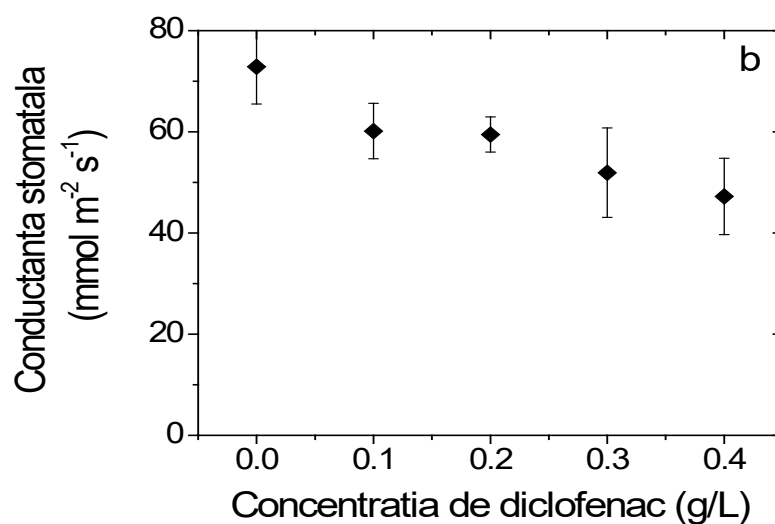


Figura 32. Dependența parametrilor de fotosinteză de concentrația de diclofenac

Se observă o scădere liniară a valorilor ambilor parametri cu creșterea concentrației de diclofenac. Tendința descrescătoare este mai accentuată pentru viteza netă de asimilație.

Principalele etape ale fotosintezei sunt reacțiile în prezența luminii în fotosistemele PSI și PSII (inclusiv, în ultimul caz, reacția Hill) și asimilarea CO₂ în ciclul Calvin. În afară de deteriorarea structurală a fotosistemelor PSII și PSI, DCF provoacă, de asemenea, perturbări ale fluxului de electroni între fotosisteme. Pierderea de apă are loc nu numai prin stomată, ci și prin intermediul căii cuticulare. În mod similar cu deschiderea stomatelor, calea cuticulară este afectată de mediul de creștere și de prezența stresorilor.

6.3. Influența diclofenacului asupra vitezei de emisie a COV

Emisia de compuși organici volatili din frunzele plantelor tratate cu DCF. De asemenea au fost prelevate probe pentru plantele de control (Figura 33 a)).

O cromatogramă tipică pentru compușii organici volatili emiși de către plante este prezentată în (Figura 33 b)).

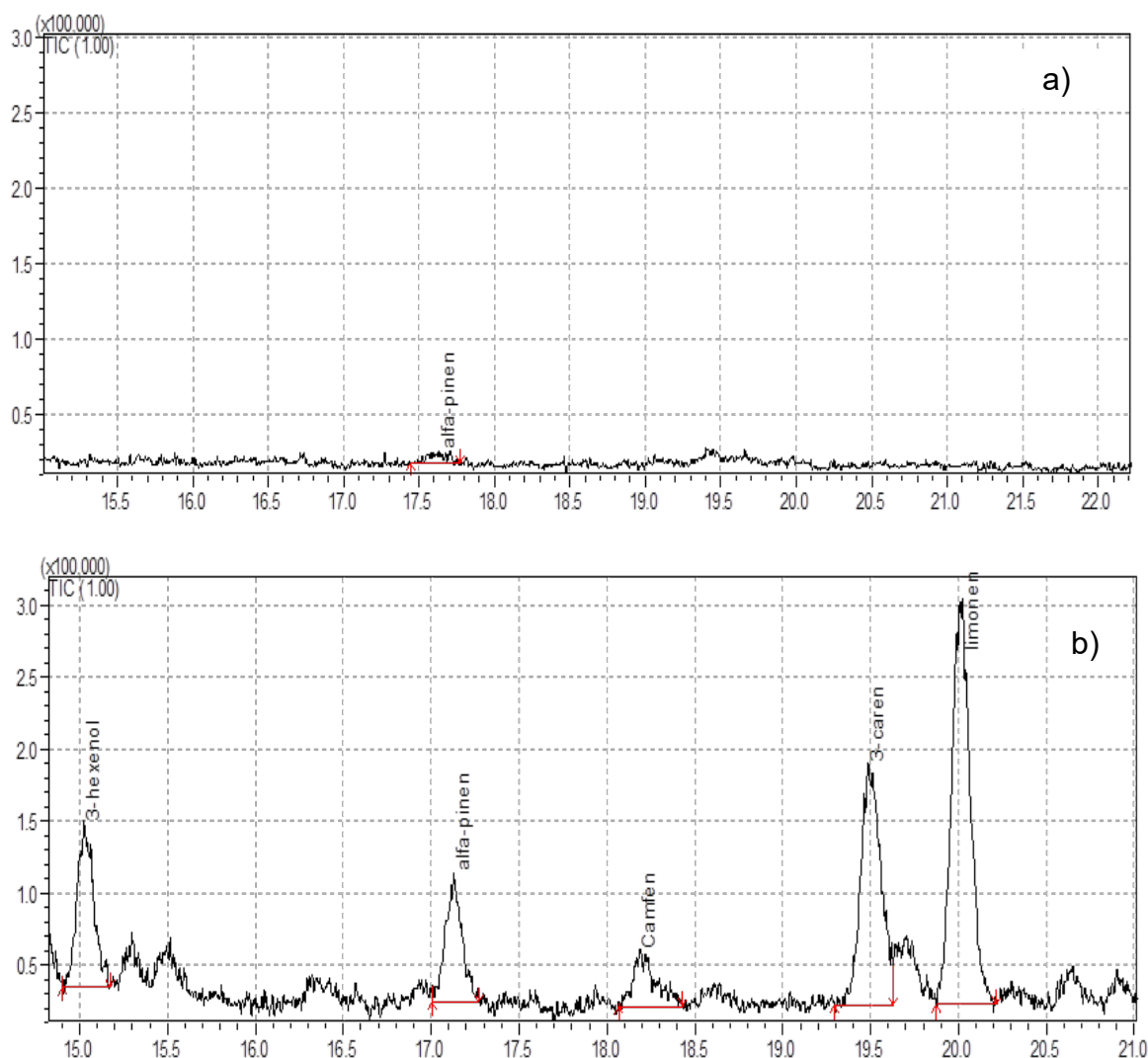


Figura 33. Cromatograme tipice pentru emisia de compuși organici volatili din frunze pentru plantele control (a) respectiv tratate cu 4 g L⁻¹ diclofenac (b)

Pe baza spectrelor de masă s-a identificat un compus din clasa aldehydelor nesaturate C₆ și patru monoterpene deși concentrațiile compușilor emiși sunt extrem de reduse.

6.6. Concluzii

S-a demonstrat că diclofenacul influențează dezvoltarea plantelor de fasole în concentrații care se găsesc în mod normal în sol. Parametrii de fotosinteză (viteza netă de asimilație și conductanța stomatală) ale frunzelor de fasole sunt scăzute pentru plantele tratate cu diclofenac. Compușii organici volatili emiși de către plante (mai ales 3-hexenolul) depinind de concentrația de diclofenac. Concentrația de clorofile și carotenoizi din frunze scade cu creșterea concentrației stresorului.

CAPITOLUL 7

7. Influența algocalminului asupra plantelor de *Phaseolus vulgaris*

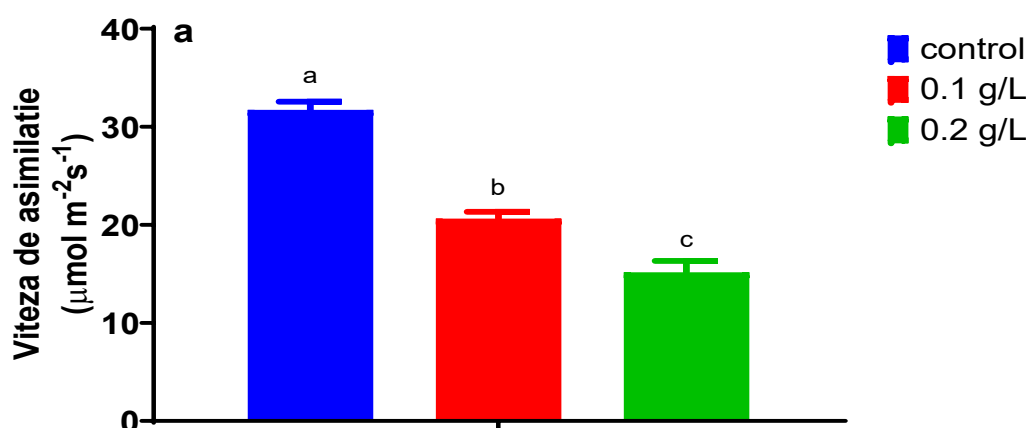
L.

Pentru a studia influența algocalminului asupra plantelor s-a utilizat varietatea de fasole Ecaterina care a fost tratată cu o concentrație de 0,1 și 0,2 g L⁻¹ metamizol sodic în apă.

Plantele au fost crescute timp de 3 săptămâni iar determinările s-au realizat cum este prezentat în Capitolul 4.

7.1. Influența metamizolului asupra parametrilor de fotosinteză

Modul în care cele două concentrații de metamizol influențează parametrii de fotosinteză (viteza de asimilație și conductanța stomatală) este prezentat în (Figura 40). Se observă o scădere drastică a ambilor parametri ajungând la concentrația de 0,2 g L⁻¹ la aproximativ 50% față de plantele de control. Astfel, datorită toxicității acestui medicament a fost afectată funcționarea lanțului fotosintetic de transport al electronilor de la PSI (fotosistemul I) la PSII, asimilarea carbonului și fotorespirația. Concentrația ridicată și toxicitatea metamizolului a deteriorat ireversibil celulele frunzelor. Acest lucru se poate datora acumulării de AINS în timp sau datorită conversiei metabolice a acestora în compuși bioactivi.



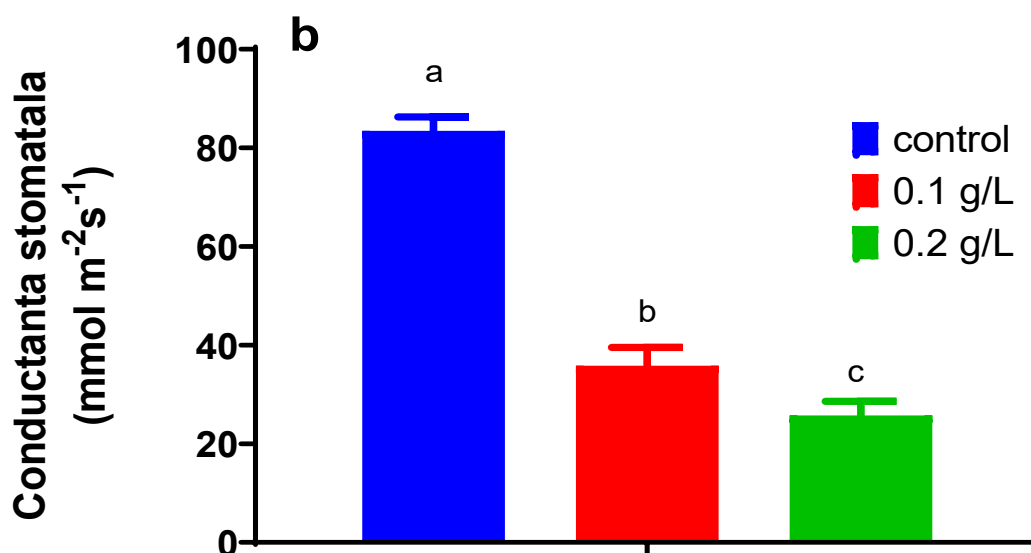


Figura 40. Dependența parametrilor de fotosinteză de concentrația de metamizol

Un astfel de comportament, cu scăderea extrem de puternică a conductanței stomatale sugerează perturbarea echilibrului de Ca care modifică faza fotochimică și afectează fotosistemul II (PSII), ceea ce reduce stabilitatea și agregarea moleculelor de clorofilă în complexul antenei.

7.6. Concluzii

S-a arătat că expunerea la algocalmin a dus la o reducere a clorofilelor, carotenoidelor, polifenolilor, flavonoidelor într-o manieră dependentă de doză.

Parametrii de fotosinteză (viteza netă de asimilație și conductanța stomatală) scad drastic pentru plantele supuse tratamentului cu algocalmin.

Datorită toxicității algocalminului și probabil solubilității sale ridicate în apă, plantele crescute pe un sol în care există acest compus pot să sufere modificări în ciclurile lor metabolice.

CAPITOLUL 8

8. Influența ketoprofenului asupra plantelor de *Phaseolus vulgaris*

L.

În acest capitol s-a analizat influența ketoprofenului în concentrație de 4 g L^{-1} asupra diverselor soiuri de fasole (*Phaseolus vulgaris* L.). S-au întrebuițat trei varietăți de fasole după cum urmează: Minidor, (GBBR, Bekescsaba Ungaria), Fideluță, (Mefim Agro Bekescsaba Ungaria) și Odir (GBBR, Bekescsaba Ungaria) (Figura 47).



Figura 47. Plantele de fasole utilizate în cadrul experimentului

8.2. Influența ketoprofenului asupra parametrilor de fotosinteză a frunzelor de fasole

Din (Figura 50) se observă că viteza de asimilație pentru plantele tratate cu ketoprofen scade dar și că există diferențe semnificative între varietățile de fasole, Fideluță și Minidor fiind cele mai afectate de prezența ketoprofenului.

8.3. Influența ketoprofenului asupra emisiei de compuși organici volatili din frunzele de fasole

În amestecul de compuși emiși din frunzele de fasole tratate cu ketoprofen a fost determinată prezența unui compus volatil verde din frunze (3-hexenol) și a trei monoterpene (α -pinene, camfen și 3-carene) (Figura 51 prezintă o cromatogramă tipică).

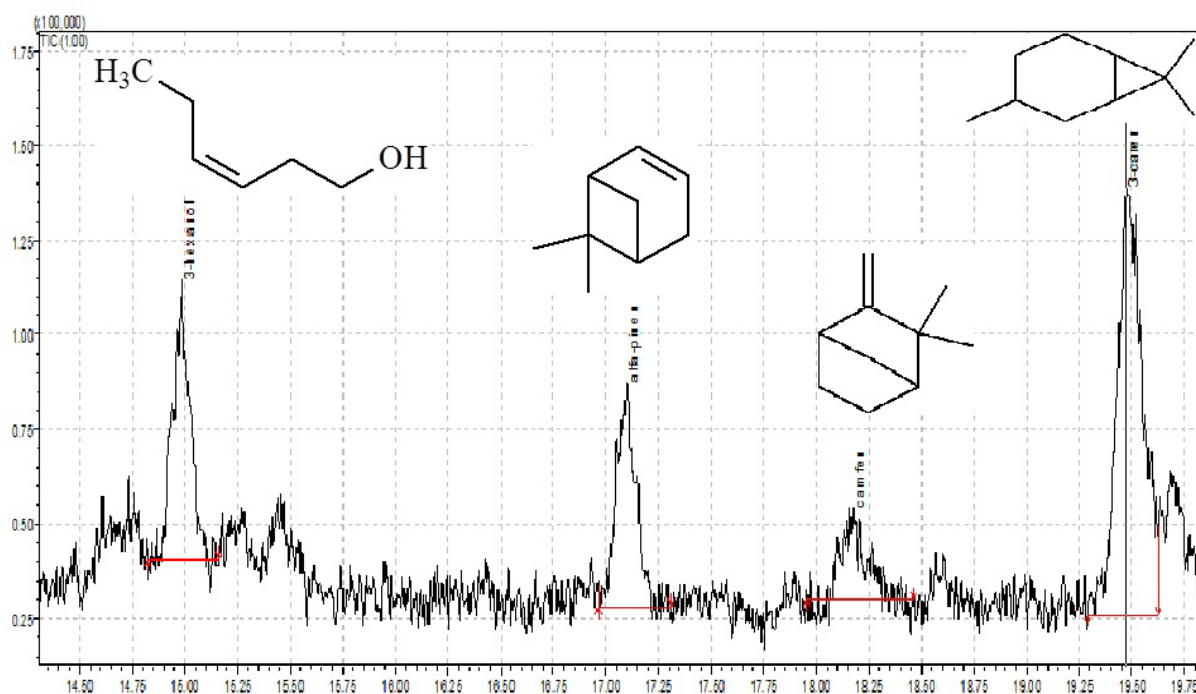


Figura 51. Cromatograma tipică pentru emisia de compuși organici volatili din frunzele tratate cu 4 g L⁻¹ ketoprofen

8.5. Concluzii

S-a arătat că prezența ketoprofenului la o concentrație relativ mare în sol influențează creșterea și dezvoltarea plantelor afectând parametrii de fotosinteză.

S-a arătat că soiurile diferite de fasole nu reacționează diferit la stresul indus de ketoprofen.

Clorofilele și β -carotenul sunt afectați pentru toate varietățile la concentrația de ketoprofen luată în lucru neexistând diferențe între varietățile de fasole.

CAPITOLUL 9

9. Influența antiinflamatoarelor nesteroidiene asupra plantelor din familia *Fabaceae*

Comportamentul plantelor a fost raportat ca fiind dependent de doză [27, 28].

Concentrația de AINS utilizată în acest studiu a fost aleasă pentru a fi mai mică decât valorile maxime determinate pentru medicamentele găsite în mediul înconjurător.[29-31]

Deoarece toate AINS-urile au aceleași efecte adverse asupra vitezei de asimilație, toate aceste medicamente pot avea un potențial de fitotoxicitate. În plus, activitatea scăzută a centrelor de reacție PSII este probabil legată de suprimarea fotosintezei.

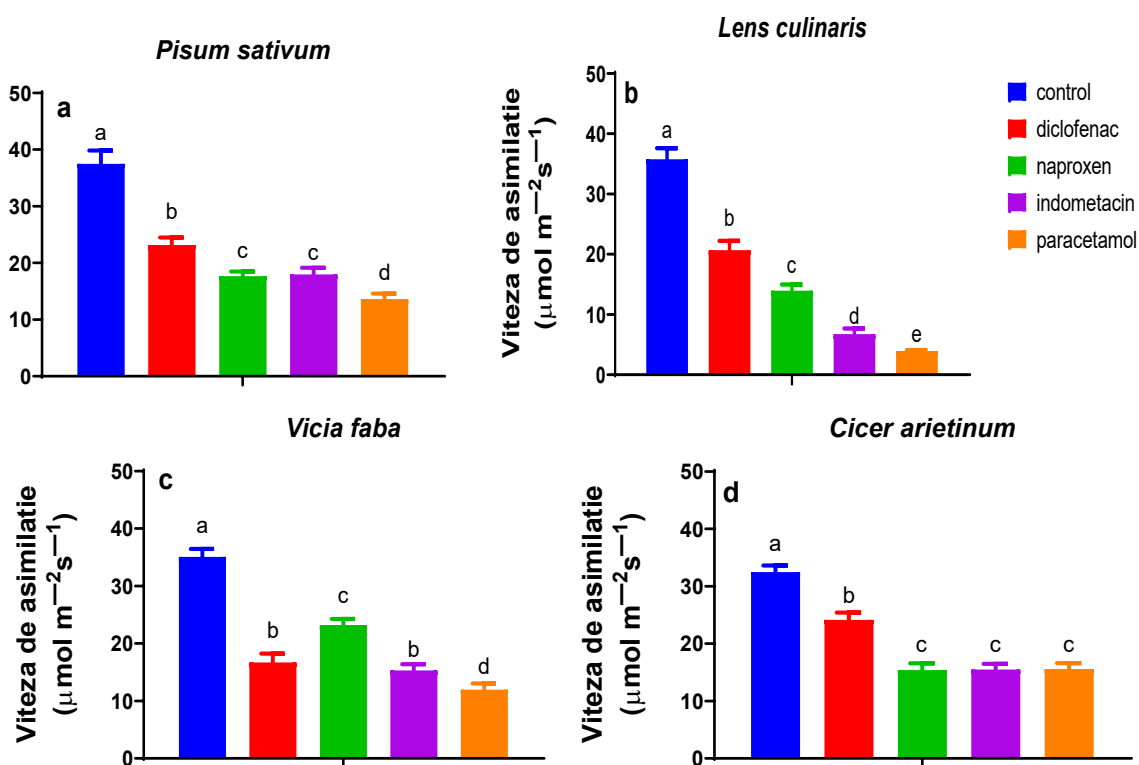


Figura 54. Viteza de asimilație pentru plantele *Pisum sativum* (a), *Lens culinaris* (b), *Vicia faba* (c) și *Cicer arietinum* (d)

9.6. Corelații între parametri

Din graficul analizei componentelor principale (PCA) doar cu parametri de fotosinteză și pigmenții clorofilieni (Figura 63), plantele de *Cicer arietinum* au fost cele mai influențate de prezența AINS-urilor, în timp ce plantele de *Pisum sativum* au fost mai puțin perturbate. S-a demonstrat deja că plantele de năut sunt sensibile la salinitatea solului [32] și la temperatură [33], iar studiul de față demonstrează, încă o dată, sensibilitatea acestora la stresul abiotic.

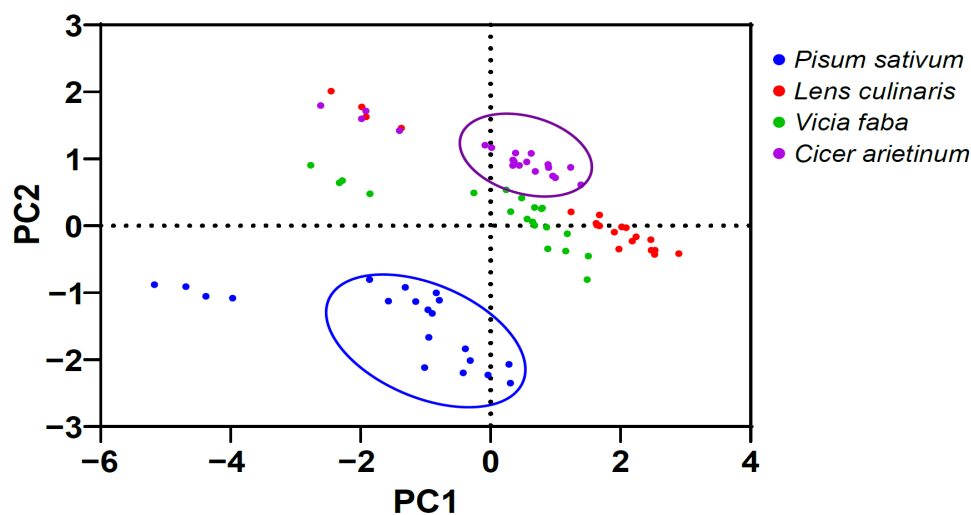


Figura 63. Graficul analizei componentelor principale (PCA) cu parametri de fotosinteză și pigmenții PCA 1 și 2 explică 84,5 % din variație (61,9 % și, respectiv, 22,6 %). (datele brute în Anexa 1).

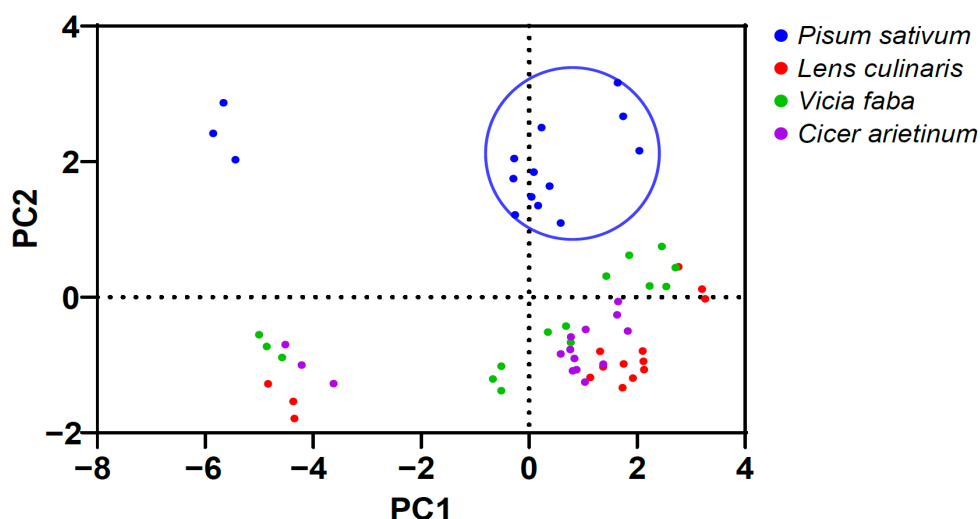


Figura 64. Diagrama analizei componentelor principale (PCA) (datele brute în Anexa 1).

Din graficul PCA cu toate datele disponibile (Figura 64), a putut fi observată gruparea plantelor de control în comparație cu plantele tratate. Chiar mai mult, plantele de *Pisum*

sativum manifestă o sensibilitate ridicată la AINS-uri, dar nu există un model clar pentru celelalte specii.

În cazul în care se realizează graficul PCA pentru variația medicamentelor se observă că deși plantele de control prezintă cluster nu se poate sesiza o dependentă clară pentru nici una din medicamentele luate în lucru.

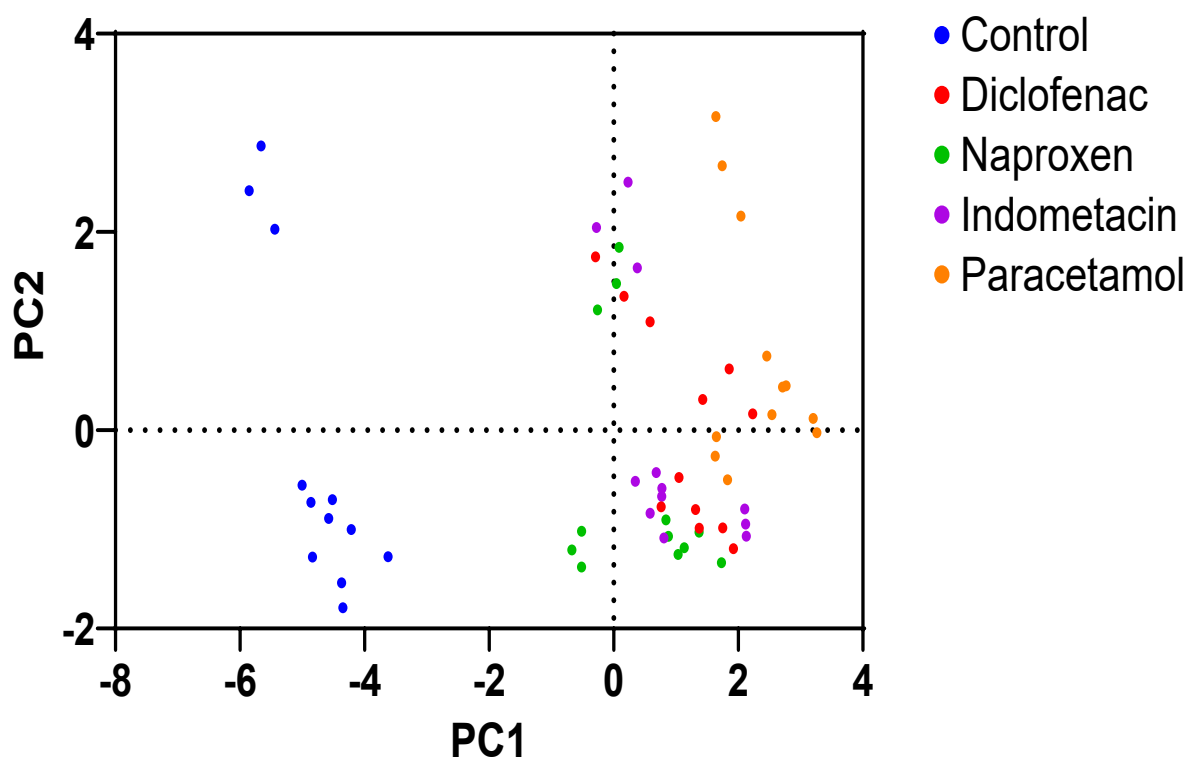


Figura 65. Diagrama analizei componentelor principale (PCA) (datele brute în Anexa 1).

Pe de altă parte, din graficul prezentat în (Figura 66) se observă că emisia de compuși organici volatili este influențată în același mod indiferent de compusul studiat în timp parametri de fotosinteză și β -carotenul sunt influențați în același mod explicând în mod clar legătura dintre ele.

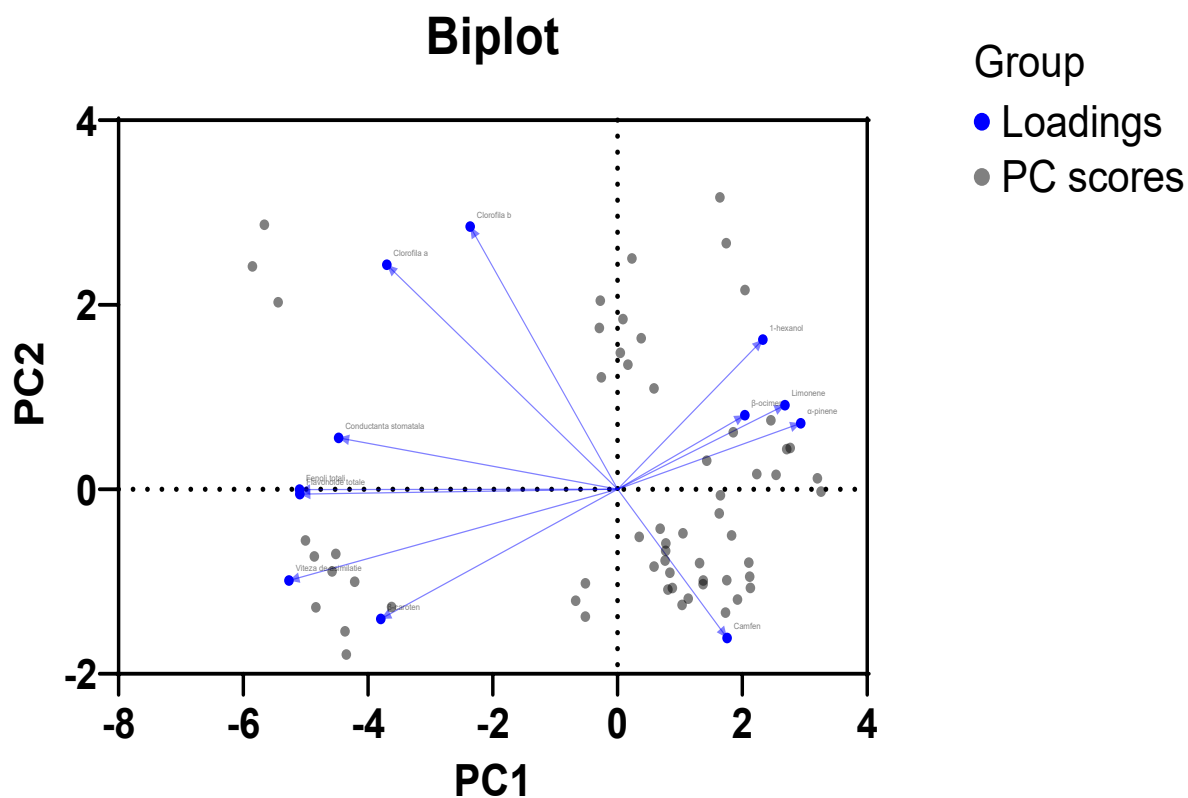


Figura 66. Diagrama analizei componentelor principale (PCA)

9.7. Concluzii

Această cercetare arată impactul a patru contaminanți organici importanți (diclofenac, indometacin, naproxen și paracetamol) asupra compoziției și ultrastructurii plantelor producătoare de alimente. Parametrii de fotosinteză, clorofilele, carotenoidele, polifenolii și flavonoidele au fost toate reduse din cauza expunerii la AINS-uri. În schimb, emisia diferitelor terpene și a substanțelor volatile din frunzele verzi implicate în formarea aerosolilor secundari a fost îmbunătățită chiar și în cazul plantelor care nu sunt cunoscute ca fiind emițătoare de compuși volatili.

CONCLUZII GENERALE

În această lucrare a fost studiat modul în care medicamentele antiinflamatoare nesteroidiene (AINS) influențează parametrii de fotosinteză, pigmentii clorofilieni și carotenoizi și metaboliții secundari din plantele din familia *Fabaceae*.

Efectul paracetamolului din mediu a fost testat pe plantele de *Phaseolus vulgaris* L. S-a arătat că diversele varietăți de fasole reacționează în același mod la prezența paracetamolului deși unele sunt mai puțin rezistente la micropoluanti. Parametrii de fotosinteză (viteza de asimilație și conductanța stomatală) sunt mai puțin dependente de varietatea de fasole față de emisia de compuși organici volatili. Pe de altă parte, a fost determinată influența diverselor concentrații de paracetamol (la valori care există în sol sau ape subterane) pe o varietate românească de fasole (Ecaterina, Agrosel, Campia-Turzii). S-a arătat că viteza de asimilație și conductanța stomatală scade pentru plantele tratate cu peste 1 g L⁻¹ paracetamol. De asemenea, viteza de emisie a compușilor organici volatili crește direct proporțional cu concentrația stresorului. Aceeași dependentă liniară (dar în acest caz descrescătoare) a fost observată pentru conținutul în clorofilă și pigmentii carotenoizi (în special clorofila *a*). Efectul diclofenacului asupra plantelor de *Phaseolus vulgaris* L. a fost studiat pentru diverse concentrații de medicamente arătându-se că diclofenacul scade procentul de semințe germinate, viteza de asimilație, conductanța stomatală și pigmentii clorofilieni și carotenoizi chiar la concentrații extrem de mici (0,1 g L⁻¹). Și în acest caz se observă că există o dependentă liniară între concentrația de medicament și parametrii analizați. S-a arătat că expunerea la metamizol (algocalmin) a plantelor de *Phaseolus vulgaris* L. a dus la scăderea drastică a parametrilor de fotosinteză (viteza netă de asimilație și conductanța stomatală). S-a observat de asemenea o reducere a clorofilelor, carotenoidelor, polifenolilor, flavonoidelor într-o manieră dependentă de doză funcție de concentrația de metamizol.

Influența ketoprofenului asupra diverselor varietăți de *Phaseolus vulgaris* L. a fost studiată pentru o concentrație găsită în mod frecvent în sol. S-a observat că parametrii de fotosinteză, concentrația de clorofila *a* și de clorofila *b*, conținutul de β-caroten din frunze scade în timp ce viteza de emisie a COV crește semnificativ pentru toate varietățile față de

plantele de control dar nu se observă diferențe semnificative între diversele varietăți luate în studiu.

Luând în considerare observațiile din capitolele precedente, s-a ales o concentrație de 0,5 g L⁻¹ cu care au fost tratate patru specii din familia *Fabaceae* (mazăre, linte, năut și bob) cu cinci AINS-uri (paracetamol, naproxen, indometacin, ketoprofen și diclofenac) observându-se în toate cazurile influențe majore asupra parametrilor de fotosinteză, concentrațiilor de clorofilă și β-caroten, conținutul de fenoli totali și flavonoide totale. Din analiza componentelor principale a rezultat că plantele de mazăre sunt mai puțin rezistente la stresul indus de medicamente. Pe de altă parte, s-a demonstrat că nu se poate realiza o ierarhizare a toxicității pentru plantele luate în lucru a AINS-urilor folosite.

În ceea ce privește contribuțiile originale ale tezei, ies în evidență următoarele:

- Determinarea emisiei de compuși organici volatili din plantele tratate cu diverse AINS – uri. Aceste emisii de COV în prezența stresului pot avea implicații în reacțiile fotochimice din atmosferă și în formarea aerosolilor secundari;
- A fost studiată pentru prima dată influența metamizolului (algoalminului) asupra plantelor;
- A fost determinată dependent, doza stresor-răspuns în plantă arătându-se că există o dependentă liniară;
- S-a arătat că diversele varietăți de fasole nu răspund diferit la stresul impus de AINS;
- Analiza componentelor principale indică faptul că toxicitatea diverselor AINS este similară cel puțin pentru plantele din familia *Fabaceae*.

Perspectivile care se desprind din cadrul acestei teze sunt:

- Pentru a înțelege mai bine impactul potențial al produselor farmaceutice și al amestecurilor acestora asupra plantelor (fie asupra durabilității acestora, fie asupra productivității și securității alimentare), ar trebui avute în vedere studii fitotoxicologice suplimentare, în special teste privind cronicitatea.
- Din cauza influenței puternice a condițiilor de mediu, a speciilor de plante, a concentrațiilor de medicamente, a amestecurilor și a timpului de expunere, precum și a altor factori de stres biologic, fizic și mecanic care ar putea interveni, sunt necesare observații in situ.
- Deoarece aceste medicamente sunt transformate în corpul uman și animal fiind excretați o mare varietate de metaboliți se impun teste realizate fie cu metaboliții rezultați fie cu substanțele excretate.

BIBLIOGRAFIE

1. González Peña, O. I.; López Zavala, M. Á.; Cabral Ruelas, H., Pharmaceuticals market, consumption trends and disease incidence are not driving the pharmaceutical research on water and wastewater. *Int J Environ Res Public Health* **2021**, *18*, (5), 2532.
2. Ahmadi, M.; Bekeschus, S.; Weltmann, K.-D.; von Woedtke, T.; Wende, K., Non-steroidal anti-inflammatory drugs: recent advances in the use of synthetic COX-2 inhibitors. *RSC Medicinal Chemistry* **2022**, *13*, (5), 471-496.
3. Sachar, M.; Bayer, T.; DeVone, F.; Halladay, C.; McConeghy, K.; Elhamamsy, S.; Rajan, A.; Cadieux, M.; Singh, M.; Nanda, A.; Rudolph, J. L., et al., The effect of age on fever response among nursing home residents with SARS-COV-2 infection. *Aging Clinical and Experimental Research* **2022**, *34*, (3), 691-693.
4. Ooi, E. E.; Dhar, A.; Petruschke, R.; Locht, C.; Buchy, P.; Low, J. G. H., Use of analgesics/antipyretics in the management of symptoms associated with COVID-19 vaccination. *npj Vaccines* **2022**, *7*, (1), 31.
5. Drake, T. M.; Fairfield, C. J.; Pius, R.; Knight, S. R.; Norman, L.; Girvan, M.; Hardwick, H. E.; Docherty, A. B.; Thwaites, R. S.; Openshaw, P. J. M.; Baillie, J. K., et al., Non-steroidal anti-inflammatory drug use and outcomes of COVID-19 in the ISARIC Clinical Characterisation Protocol UK cohort: a matched, prospective cohort study. *The Lancet Rheumatology* **2021**, *3*, (7), e498-e506.
6. Opondo, D.; Visscher, S.; Eslami, S.; Verheij, R.; Korevaar, J.; Abu-Hanna, A., Quality of Co-Prescribing NSAID and Gastroprotective Medications for Elders in The Netherlands and Its Association with the Electronic Medical Record. *PloS one* **2015**, *10*, e0129515.
7. Cleuvers, M., Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2004**, *59*, (3), 309-315.
8. Santos, L. H. M. L. M.; Araújo, A. N.; Fachini, A.; Pena, A.; Delerue-Matos, C.; Montenegro, M. C. B. S. M., Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials* **2010**, *175*, (1), 45-95.
9. Zhang, X.; Wu, F.; Wu, X.; Chen, P.; Deng, N., Photodegradation of acetaminophen in TiO₂ suspended solution. *Journal of Hazardous Materials* **2008**, *157*, (2), 300-307.
10. Jones, A. L., Mechanism of action and value of N-acetylcysteine in the treatment of early and late acetaminophen poisoning: A critical review. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology* **1998**, *36*, (4), 277-285.
11. Sheen, C. L.; Dillon, J. F.; Bateman, D. N.; Simpson, K. J.; Macdonald, T. M., Paracetamol toxicity: epidemiology, prevention and costs to the health-care system. *QJM: An International Journal of Medicine* **2002**, *95*, (9), 609-619.
12. Lonappan, L.; Brar, S. K.; Das, R. K.; Verma, M.; Surampalli, R. Y., Diclofenac and its transformation products: Environmental occurrence and toxicity - A review. *Environment international* **2016**, *96*, 127-138.
13. Khan, S. J.; Ongerth, J. E., Modelling of pharmaceutical residues in Australian sewage by quantities of use and fugacity calculations. *Chemosphere* **2004**, *54*, (3), 355-367.

14. Huschek, G.; Hansen, P. D.; Maurer, H. H.; Krenzel, D.; Kayser, A., Environmental risk assessment of medicinal products for human use according to European Commission recommendations. *Environmental toxicology* **2004**, *19*, (3), 226-40.
15. Ferrari, B.; Mons, R.; Vollat, B.; Fraysse, B.; Paxēaus, N.; Giudice, R. L.; Pollio, A.; Garric, J., Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals: Are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment? *Environmental Toxicology and Chemistry* **2004**, *23*, (5), 1344-1354.
16. Johnson, A. C.; Dumont, E.; Williams, R. J.; Oldenkamp, R.; Cisowska, I.; Sumpter, J. P., Do concentrations of ethinylestradiol, estradiol, and diclofenac in European rivers exceed proposed eu environmental quality standards? *Environmental Science & Technology* **2013**, *47*, (21), 12297-12304.
17. Johnson, A. C.; Keller, V.; Williams, R. J.; Young, A., A practical demonstration in modelling diclofenac and propranolol river water concentrations using a GIS hydrology model in a rural UK catchment. *Environ. Pollut.* **2007**, *146*, (1), 155.
18. Johnson, A. C.; Ternes, T.; Williams, R. J.; Sumpter, J. P., Assessing the concentrations of polar organic microcontaminants from point sources in the aquatic environment: Measure or model? *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42*, (15), 5390.
19. Johnson, A. C.; Williams, R. J., A model to estimate influent and effluent concentrations of estradiol, estrone, and ethinylestradiol at sewage treatment works. *Environ. Sci. Technol.* **2004**, *38*, (13), 3649.
20. Strenn, B.; Clara, M.; Gans, O.; Kreuzinger, N., Carbamazepine, diclofenac, ibuprofen and bezafibrate - investigations on the behaviour of selected pharmaceuticals during wastewater treatment. *Water Science and Technology* **2004**, *50*, (5), 269-276.
21. Acuña, V.; Ginebreda, A.; Mor, J. R.; Petrovic, M.; Sabater, S.; Sumpter, J.; Barceló, D., Balancing the health benefits and environmental risks of pharmaceuticals: Diclofenac as an example. *Environment international* **2015**, *85*, 327-333.
22. Kummerová, M.; Zezulka, Š.; Babula, P.; Tříška, J., Possible ecological risk of two pharmaceuticals diclofenac and paracetamol demonstrated on a model plant *Lemna minor*. *Journal of Hazardous Materials* **2016**, *302*, 351-361.
23. Huang, R.; Liu, Z.; Xing, M.; Yang, Y.; Wu, X.; Liu, H.; Liang, W., Heat Stress Suppresses Brassica napus Seed Oil Accumulation by Inhibition of Photosynthesis and BnWRI1 Pathway. *Plant and Cell Physiology* **2019**, *60*, (7), 1457-1470.
24. Sidhu, G. P. S.; Singh, H. P.; Batish, D. R.; Kohli, R. K., Alterations in photosynthetic pigments, protein, and carbohydrate metabolism in a wild plant *Coronopus didymus* L. (Brassicaceae) under lead stress. *Acta Physiologiae Plantarum* **2017**, *39*, (8), 176.
25. Faralli, M.; Matthews, J.; Lawson, T., Exploiting natural variation and genetic manipulation of stomatal conductance for crop improvement. *Current Opinion in Plant Biology* **2019**, *49*, 1-7.
26. Tian, F.; Hou, M.; Qiu, Y.; Zhang, T.; Yuan, Y., Salinity stress effects on transpiration and plant growth under different salinity soil levels based on thermal infrared remote (TIR) technique. *Geoderma* **2020**, *357*, 113961.
27. Opriș, O.; Ciorîță, A.; Soran, M.-L.; Lung, I.; Copolovici, D.; Copolovici, L., Evaluation of the photosynthetic parameters, emission of volatile organic compounds and ultrastructure of common green leafy vegetables after exposure to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *Ecotoxicology* **2019**, *28*, (6), 631-642.
28. Opriș, O.; Lung, I.; Soran, M. L.; Ciorîță, A.; Copolovici, L., Investigating the effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on the composition and ultrastructure of green leafy vegetables with important nutritional values. *Plant physiology and biochemistry : PPB* **2020**, *151*, 342-351.

29. Wilkinson, J. L.; Boxall, A. B. A.; Kolpin, D. W.; Leung, K. M. Y.; Lai, R. W. S.; Galbán-Malagón, C.; Adell, A. D.; Mondon, J.; Metian, M.; Marchant, R. A.; Bouzas-Monroy, A., et al., Pharmaceutical pollution of the world's rivers. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2022**, *119*, (8), e2113947119.
30. Jiménez, J. J.; Sánchez, M. I.; Pardo, R.; Muñoz, B. E., Degradation of indomethacin in river water under stress and non-stress laboratory conditions: degradation products, long-term evolution and adsorption to sediment. *Journal of environmental sciences (China)* **2017**, *51*, 13-20.
31. Radjenović, J.; Petrović, M.; Barceló, D., Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment. *Water Res* **2009**, *43*, (3), 831-41.
32. Kotula, L.; Khan, H. A.; Quealy, J.; Turner, N. C.; Vadez, V.; Siddique, K. H. M.; Clode, P. L.; Colmer, T. D., Salt sensitivity in chickpea (*Cicer arietinum* L.): ions in reproductive tissues and yield components in contrasting genotypes. *Plant, cell & environment* **2015**, *38*, (8), 1565-1577.
33. Daba, K.; Warkentin, T. D.; Bueckert, R.; Todd, C. D.; Tar'an, B., Determination of photoperiod-sensitive phase in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Frontiers in Plant Science* **2016**, *7*, 478-478.