



MD 2787 G2 2005.06.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 2787⁽¹³⁾ G2
(51) Int. Cl.⁷: A 61 K 35/64

(12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2004 0186 (22) Data depozit: 2004.07.28	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2005.06.30, BOPI nr. 6/2005
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD	
(72) Inventatori: GHICAVĂI Victor, MD; CIUHRII Mircea, RO; BACINSCHI Nicolae, MD; CIUHRII Veaceslav, MD; GHICAVĂI Vitalie, MD	
(73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD	
(74) Reprezentant: VOZIANU Maria, MD	

(54) Preparat entomologic hepatoprotector și imunomodulator

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la medicină, și anume la hepatologie și imunologie.

Esența invenției constă în aceea că preparatul entomologic hepatoprotector și imunomodulator, obținut din ouă și pupe de insecte ordinul *Lepidoptera*, genul *Lymantria*, luate în raport de 1 : 3, prin mărunțirea lor până la formarea unei mase omogene, filtrarea acesteia și eliminarea apei prin

2
5
10
liofilizare, conține următoarele ingrediente: proteine – 258,0...300,0 mg/g, lipide – 131,5 mg/g, colesterol – 0,1 mg/g, trigliceride – 91,8 mg/g, amilază – 65,7 UI/g, lipază – 80,0 mUI/g, antioxidanți – 11,5 mg/g, aminoacizi esențiali și semiesențiali – 509,5 mg/g.

Revendicări: 1

MD 2787 G2 2005.06.30

Descriere:

Invenția se referă la medicină, și anume la farmacologie.

Printre preparatele folosite în tratamentul și profilaxia afecțiunilor hepatice, stărilor imunodeficitare și reconvalescente putem menționa: esențialele (de origine vegetală), silimarina (de origine vegetală), trofoparul (de origine animală), ademetonina (de origine organică), bronhomunalul (de origine bacteriană), echinacea (de origine vegetală), imunofanal (de origine organică).

Essențialele reprezintă un extras din boabe de soia. Principiul activ îl constituie fosfolipidele esențiale, necesare pentru construcția și funcționarea normală a membranelor celulare și organitelor hepatocitelor. Acestea contribuie la acțiunea membranostabilizatoare și hepatoprotectoare (menținerea structurii celulare a ficatului, restabilirea și refacerea hepatocitelor lezate), antiproliferativă (inhibă formarea țesutului conjunctiv) și de stimulare a metabolismului hepatic și funcției de dezintoxicare a ficatului (menținerea și activarea sistemelor enzimatice fosfolipid-dependente). Essențialele sunt administrate în lipodistrofia hepatică de geneză diferită, hepatite acute și cronice, ciroza hepatică, coma hepatică, afecțiunile hepatice medicamentoase și toxice, complicațiile hepatice provocate de diverse boli. Preparatul este contraindicat în caz de hipersensibilitate la preparat. Poate provoca reacții adverse, și anume senzații neplăcute în regiunea epigastrică [1].

Dezavantajele esențialelor constau în absența acțiunii imunomodulatoare, antioxidante, antivirale și de substituție a unor componenți biologic activi. Tratamentul este necesar de inițiat cu formele parenterale și continuat cu cele enterale cu folosirea unor doze mari de preparat.

Silimarina reprezintă un extras semisintetic din plante (*Silybum marianum*) cu o combinație a izomerilor silibininei, silicristinei și silidianinei. Este un bioflavonoid ce manifestă acțiune membranostabilizatoare și hepatoprotectoare (menținerea structurii celulare a ficatului, restabilirea și refacerea hepatocitelor lezate), lipotropă (previne degenerarea lipidică a ficatului) și de stimulare a metabolismului hepatic (sinteza proteică, nivelul glicoproteinelor și glicogenului). Aceasta contribuie la normalizarea indicilor digestivi și ai ficatului, sporește pofta de mâncare și restabilește masa corporală. Se administrează în hepatite acute și cronice, steatoza hepatică, ciroza hepatică, distrofiile hepatice toxico-metabolice, afecțiunile hepatice provocate de medicamente, iradiație, toxine, alcool etc. Preparatul este contraindicat în hipersensibilitate la silimarină. Poate provoca reacții adverse: exacerbarea tulburărilor vestibulare preexistente, dereglări dispeptice, alopecie la persoanele predispușe [2].

Dezavantajele silimarinei constau în absența acțiunii imunomodulatoare, antioxidante, antivirale și de substituție a componenților biologic activi. În funcție de doza preparatului sunt necesare cantități variate de forme medicamentoase. În unele cazuri reacțiile adverse pot limita utilizarea preparatului la unele categorii de pacienți.

Ademetonina (heptral). Componentul activ este S-adenozil-L-metionina ce reprezintă un substrat fiziologic al multor reacții biologice, țesuturi și medii ale organismului. Preparatul se consideră ca donator de grupe metil, participând la reacțiile de transmitere. Se consideră că în leziunile ficatului are loc un deficit de ademetonină. Ca sursă exogenă de ademetonină contribuie la prevenirea acumulării metaboliților toxici în hepatocite și la menținerea viscozității normale a membranelor celulare, precum și a activității enzimelor membranodependente. Ademetonina se implică în sinteza catecolaminelor, creșterea concentrației serotoninei în creier. Preparatul este un predecesor al compușilor tiolici. Preparatul este indicat în stările precirotoice sau cirotoice cu colestază intrahepatică. Este contraindicat în sensibilitate la preparat, graviditate (primele 6 luni). Poate provoca reacții alergice, disconfort în epigastru [3].

Dezavantajele ademetoninei constau în absența acțiunii imunomodulatoare, antioxidante, antivirale, de stimulare a metabolismului și de substituție a mai multor componenți biologic activi. Tratamentul necesită efectuarea unei cure intensive prin administrarea intramusculară sau intravenoasă și ulterior enterală a comprimatelor enterosolubile (între mese fără a fi strivite). Se indică preponderent în prima jumătate a zilei (nicidecum înainte de somn) din cauza efectului tonifiant asupra sistemului nervos central.

Trofoparul reprezintă un extras din splină de bovine ce conține un factor hepatoprotector al membranelor celulare. Preparatul restabilește activitatea funcțională a hepatocitelor prin normalizarea proceselor enzimatice, diminuează procesul inflamator mezinchemal, restabilește și normalizează sinteza proteinelor (albuminei), metabolismul lipidic și energetic. Se administrează în hepatite cronice și acute de diferită geneză, ciroza hepatică, afecțiunile hepatice, precum și în diverse maladii sau stări patologice (diabet zaharat, ulcer gastric și duodenal, malnutriție) [4].

Dezavantajele trofoparului constau în absența acțiunii imunomodulatoare, antioxidante, antivirale, de dezintoxicare și de substituție a unor componenți biologic activi. Preparatul se utilizează numai

MD 2787 G2 2005.06.30

parenteral sub formă de pulbere liofilizată ceea ce prezintă o incomoditate pentru pacient la tratamentul de durată (30 zile).

5 Echinaceea este un preparat de origine vegetală ce conține polizaharide, flavonoizi, acizi fenolici, uleiuri volatile, alcalamide. Polizaharidele cu masa moleculară de 35000 și 450000 stimulează fagocitoza, iar cele cu masa moleculară de 75000 (arabinogalactane) induc sinteza interferonului și altor imunomediatori în macrofage. Glicoproteinele stimulează transformarea limfocitelor B în celule plasmatică și secreția interleucinei I în macrofage. Alcalamidele inhibă ciclooxigenaza sau 5-lipooxigenaza și au efect antiinflamator. Preparatele de echinacee sunt indicate în profilaxia și 10 tratamentul bolilor inflamatorii ale căilor respiratorii, tractului urinar, poliartritei, reumatismului articular (ca adjuvant), stărilor imunodeficitare în maladiile inflamatorii cronice recidivante de diferită localizare, precum și în profilaxia bolilor infecțioase, surmenajul fizic și intelectual, stările după antibioticoterapie, chimioterapie antitumorală, tratamentul imunosupresiv sau radioterapie. Preparatele din echinacee sunt contraindicate în tuberculoza evolutivă, leucemie, colagenoză, bolile hematopoetice, scleroza multiplă, HIV, pacienților sub 12 ani, hipersensibilitate la preparat. Printre 15 reacțiile adverse se pot menționa reacțiile alergice [5].

Dezavantajele preparatelor din echinacee sunt determinate de absența acțiunii hepatoprotectoare, de dezintoxicare, antivirale, antioxidante, de stimulare a metabolismului și de substituție a unor componenți biologic activi. Printre indicațiile echinaceei nu sunt specificate maladiile hepatice, inclusiv de origine virală.

20 Bronhomunalul reprezintă un lizat de bacterii care provoacă de cele mai dese ori infecții ale sistemului respirator (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pyogenes*, *Branhamella catarrhalis*). Stimulează rezistența organismului prin intensificarea răspunsului imun celular și humoral. Preparatul se indică ca adjuvant în tratamentul bronșitelor acute și cronice, 25 tonsilitelor, faringitelor și laringitelor, rinitelor, sinusitelor și otitelor, infecțiilor căilor respiratorii rezistente la antibiotice, complicațiilor infecțiilor virale ale sistemului respirator, îndeosebi la copii și bătrâni. Bronhomunalul este contraindicat în caz de hipersensibilitate la preparat și cu precauție în primele 3 luni de sarcină. Printre reacțiile adverse se pot menționa: dureri în epigastru, greață, vomă, diaree (în cazuri foarte rare) [6].

30 Dezavantajele bronhomunalului constau în lipsa efectelor hepatoprotector, antioxidant, antiviral, antiproliferativ, de stimulare a metabolismului și de substituție a unor componenți biologic activi. Preparatul este indicat preponderent în afecțiunile respiratorii, nu este indicat în afecțiunile hepatice și alte maladii.

35 Imunofanul este un hexapeptid cu proprietăți imunomodulatoare, de dezintoxicare și hepatoprotectoare. Inactivează radicalii liberi. În primele zile manifestă acțiune de dezintoxicare determinată de stimularea sistemului antioxidant, sinteza ceruloplasminei, lactoferinei. În afecțiunile hepatice toxice și infecțioase previne citoliza, reduce activitatea transaminazelor și nivelul bilirubinei. La cea de a doua fază a tratamentului (între a 2-a ... a 3-a și a 7-ea... a 10-ea zi) se constată stimularea fagocitozei și moartea bacteriilor și virusurilor intracelulari. În această perioadă se poate observa o 40 oarecare acutizare a focarelor de inflamație cronică. Mai tardiv (după a 7-ea... a 10-ea zi) se manifestă efectul imunomodulator, stimularea imunității humorale și celulare, creșterea producerii de anticorpi. Imunofanul este indicat în profilaxia și tratamentul stărilor imunodeficitare de diferită genă. Preparatul este contraindicat în sarcină complicată cu Rezus-conflict [7].

45 Dezavantajele imunofanului constau în absența acțiunii de substituție a componenților biologic activi. În indicațiile preparatului nu sunt specificate afecțiunile hepatice.

Problema pe care o soluționează invenția constă în elaborarea unui preparat hepatoprotector și imunomodulator de origine organică cu unele proprietăți noi, și anume antiproliferativă, antioxidantă, antivirală și de stimulare a metabolismului.

50 Esența invenției constă în aceea că preparatul entomologic hepatoprotector și imunomodulator, obținut din ouă și pupe de insecte ordinul *Lepidoptera*, genul *Lymantria*, luate în raport de 1 : 3, prin mărunțirea lor până la formarea unei mase omogene, filtrarea acesteia și eliminarea apei prin liofilizare, conține următoarele ingrediente: proteine – 258,0 ... 300,0 mg/g, lipide – 131,5 mg/g, colesterol – 0,1 mg/g, trigliceride – 91,8 mg/g, amilază – 65,7 UI/g, lipază – 80,0 mUI/g, antioxidanți – 11,5 mg/g, aminoacizi esențiali și semiesențiali – 509,5 mg/g.

55 Rezultatul invenției constă în obținerea unui preparat hepatoprotector și imunomodulator cu acțiune antiproliferativă, antioxidantă, antivirală și de stimulare a metabolismului.

60 Avantajele invenției constau în aceea că preparatul dat reprezintă un complex de lipoproteine din ouă și pupe (în raport de 1:3) de insecte ordinul *Lepidoptera*, genul *Lymantria*, la diferite etape de dezvoltare, care de rând cu acțiunea hepatoprotectoare, membranostabilizatoare, lipotropă, antiproliferativă, imunomodulatoare și de stimulare a metabolismului, posedă și proprietăți noi, așa ca antioxidantă, antivirală, imunomodulatoare și de substituție a unor componenți biologic activi.

MD 2787 G2 2005.06.30

5

Prezența în preparat a unui spectru variat de compuși de origine proteică (inclusiv proteine hidrosolubile), lipidică, precum și a unei game variate de aminoacizi (îndeosebi esențiali) și de antioxidanți hidrosolubili permit de a manifesta complexul de efecte enumerate.

5 Preparatul reprezintă o pulbere fină, omogenă, cu miros caracteristic, fără gust, parțial solubilă în apă, acetonă, acid formic.

Preparatul a fost obținut din ouă și pupe de insecte conform unei tehnologii speciale ce include: creșterea insectelor în laboratoarele entomologice pe medii artificiale și naturale; mărunțirea ouălelor și pupelor până la obținerea unei mase omogene cu filtrarea ulterioară printr-o pânză de filtrare cu 200 de orificii/cm², eliminarea apei prin liofilizare (pentru obținerea unei pulbere stabile).

10 S-a efectuat analiza spectrală a preparatului obținut.

Conținutul cantitativ al preparatului determinat prin metode chimico-analitice: proteine – 258,0 ... 300,0 mg/g, lipide – 131,5 mg/g, colesterol – 0,1 mg/g, trigliceride – 91,8 mg/g, amilază – 65,7 UI/g, lipază – 80,0 mUI/g, antioxidanți – 11,5 mg/g, aminoacizi esențiali și semiesențiali – 509,5 mg/g.

15 Pentru cercetările clinice preparatul este propus sub formă de capsule a câte 150 mg de 2 ori pe zi (dimineața și seara) cu 30...40 min înainte de masă timp de 3 luni *per os*.

Cercetările s-au efectuat *in vitro* (pe limfocite și neutrofile) și *in vivo* pe animale cu modele experimentale de afecțiuni hepatice. Rezultatele experimentelor au dovedit că preparatul manifestă o acțiune imunomodulatoare intensă, totodată provoacă o reducere mai esențială a nivelului transaminazelor, lactatdehidrogenazei și menține la un nivel adecvat concentrația glucozei, colesterolului, ureei, proteinelor totale, creatininei.

20 *Exemplul 1*

Acțiunea hepatoprotectoare a fost studiată în hepatita toxică indusă prin administrarea unimomentană a paracetamolului în doză unică de 500 mg/kg. La animalele cu hepatită experimentală s-a depistat atât după 7 zile, cât și după 14 zile o creștere a nivelului aspartataminotransferazei (AsAT) de la 164,2±10,9 până la 325,0±34,9 Un/L (P<0,05) și, respectiv, 251,5±28,6 Un/L (P<0,05) și al alaninoaminotransferazei (AlAT) de la 56,7±2,8 până la 150,7±19,4 Un/L (P<0,05) și, respectiv, 114,5±7,9 Un/L (P<0,05). Preparatul administrat în doză de 500 mg/kg a determinat o diminuare a transaminazelor după 7 (AsAT până la 241,7±39,0) Un/L (P>0,05) și AlAT până la 96,5±17,9 Un/L (P>0,05) și 14 zile (AsAT până la 198,8±10,3 Un/L (P>0,05) și AlAT până la 103,7±6,2 Un/L (P>0,05)) față de animalele din lotul de control. Rezultatele obținute ne-au permis să presupunem că preparatul nu preîntâmpină perturbările provocate de hepatotoxic (paracetamol), dar contribuie la o ameliorare mai rapidă a dereglărilor survenite în hepatita toxică.

35 *Exemplul 2*

Efectul hepatoprotector a fost studiat în ischemia hepatică, indusă prin administrarea fenilefrinei în doza sumară de 125 mg/kg. La animalele cu hepatită experimentală s-a constatat atât după 7 zile, cât și după 14 zile o majorare a conținutului aspartataminotransferazei (AsAT) de la 164,2±10,9 până la 200,8±11,6 Un/L (P<0,05) și, respectiv, 200,7±28,6 Un/L (P<0,05) și al alaninaaminotransferazei (AlAT) de la 56,7±2,8 până la 90,3±8,4 Un/L (P<0,05) și, respectiv, 74,0±8,5 Un/L (P>0,05). Preparatul revendicat în doză de 500 mg/kg a determinat o diminuare după 7 zile (AlAT până la 67,8±7,2 Un/L (P>0,05)) și după 14 zile (AsAT până la 192,6±14,2 Un/L (P>0,05) și AlAT până la 73,8±4,0 (P>0,05)) față de animalele din lotul de control.

40 *Exemplul 3*

Acțiunea hepatoprotectoare și antivirală a preparatului s-a manifestat la administrarea a 2 capsule a câte 150 mg pe zi *per os* la 69 pacienți cu hepatită virală cronică C, constatându-se o ameliorare a simptomelor clinice (dureri în rebordul costal drept, fatigabilitate, meteorism, astenie, hepatomegalie); normalizarea sau ameliorarea considerabilă a nivelului transaminazelor (majorat la 68 pacienți), creșterea nivelului albuminelor (la toți 15 pacienți cu hipoalbuminemie) cu reducerea proteinelor (la 17 erau majorate), micșorarea încărcării virale (ARN-VHC a dispărut la 15 din 20, iar la 5 concentrația virusului s-a micșorat considerabil).

50 Utilizarea hepatoprotectorului la 54 pacienți cu hepatită virală cronică B a permis să se constate o ameliorare a simptomelor clinice (dureri în rebordul costal drept, fatigabilitate, meteorism, astenie, hepatomegalie); normalizarea sau ameliorarea considerabilă a nivelului transaminazelor (majorat la 45 pacienți), micșorarea încărcării virale (ARN-VHB a dispărut la toți cei 18 pacienți, iar la 39 nu s-a depistat AgHBs care inițial era prezent).

55 A fost studiată eficacitatea preparatului la 13 pacienți cu hepatite virale cronice B+C după un tratament de la 4 la 13 luni. De rând cu ameliorarea simptomelor clinice s-a mai constatat ameliorarea nivelului transaminazelor, albuminelor, au dispărut AgHBs, ADN-VHB și ADN-VHC, iar anti-HVC nu s-a depistat la 2 din 9 pacienți.

60 *Exemplul 4*

MD 2787 G2 2005.06.30

6

Acțiunea imunomodulatoare a preparatului a fost studiată *in vitro* prin pretratarea sângelui la investigarea a 28 pacienți, și anume a fost examinată influența preparatului asupra T și B-limfocitelor, T-helperilor și T-supresorilor. Testările au demonstrat că preparatul manifestă un efect de imunosupresie prin diminuarea conținutului procentual de T-limfocite (de la $56,0 \pm 0,86$ la $33,3\% \pm 2,92$, $P < 0,05$), B-limfocite (de la $31,9 \pm 1,29$ la $26,8 \pm 1,34\%$, $P < 0,05$) și T-helperi (de la $40,9 \pm 1,25$ la $33,3 \pm 1,99\%$, $P < 0,05$) și creșterea conținutului de T-supresori (de la $15,2 \pm 3,04$ la $22,8 \pm 2,19\%$, $P < 0,05$). Indicele de modulare constituie în cazul T-limfocitelor $0,60 \pm 0,05$, B-limfocitelor $0,86 \pm 0,04$, T-helperilor (teofilinrezistente) $0,82 \pm 0,05$ și al T-supresorilor (teofilinsensibile) $1,56 \pm 0,16$. Concomitent preparatul a majorat activitatea funcțională a neutrofilelor de la $0,27 \pm 0,02$ la $0,33 \pm 0,02$ ($P > 0,05$). Activitatea neutrofilelor era îndeosebi stimulată la pacienții cu parametrii reduși (sub $0,25$). În acest caz activitatea lor a fost majorată de la $0,19 \pm 0,01$ până la $0,26 \pm 0,03$ comparativ cu parametrii peste $0,25$ (de la $0,35 \pm 0,02$ până la $0,33 \pm 0,04$, $P > 0,05$).

Compoziții antioxidanți hidrosolubili vor asigura preparatului un efect antioxidant manifestat, posibil, la nivel celular prin inhibarea peroxidării lipidelor și, respectiv, preîntâmpinarea leziunilor membranare de diferită geneză.

Pentru modelarea hepatitelor experimentale au fost folosiți șobolani masculi cu masa de $160 \dots 220$ g, crescuți în vivariul USMF "Nicolae Testemițanu". Animalele erau selectate cu o zi înainte de începutul experimentelor, după $2 \dots 3$ zile de adaptare ele erau repartizate în celule separate. Preparatele erau amestecate în bolul alimentar. Animalele erau supravegheate până ingerau bolul.

Fracțiile obținute după filtrarea suspensiei în diverși gradienti de zahăr au fost folosite în procesul studiului chimic și în analiza spectrală a componentei preparatului.

În calitate de produs farmaceutic pentru cercetările preclinice și clinice s-a folosit preparatul, conținând toate substanțele biologic active din ouăle și pupele insectelor, obținut sub formă de pulbere, care apoi era folosită la prepararea capsulelor.

Rezultatele experimentelor au demonstrat o acțiune imunomodulatoare și o eficacitate a preparatului în hepatitele experimentale, îndeosebi de origine toxică.

Proprietățile stabilite permit de a considera că preparatul poate fi utilizat în tratamentul și profilaxia stărilor imunodeficitare și afecțiunilor hepatice de diferită origine. Se recomandă a se păstra în loc uscat, rece și ferit de lumină.

30

MD 2787 G2 2005.06.30

7

(57) Revendicare:

5 Preparat entomologic hepatoprotector și imunomodulator, obținut din ouă și pupe de insecte ordinul *Lepidoptera*, genul *Lymantria*, luate în raport de 1 : 3, prin mărunțirea lor până la formarea unei mase omogene, filtrarea acesteia și eliminarea apei prin liofilizare, care conține următoarele ingrediente: proteine – 258,0 ... 300,0 mg/g, lipide – 131,5 mg/g, colesterol – 0,1 mg/g, trigliceride – 91,8 mg/g, amilază – 65,7 UI/g, lipază – 80,0 mUI/g, antioxidanți – 11,5 mg/g, aminoacizi esențiali și semiesențiali – 509,5 mg/g.

10

(56) Referințe bibliografice:

1. Bacinschi N., Gonciar V. Medicamentele utilizate în maladiile tubului digestiv. Chișinău, 1997, p. 37-38
2. Bacinschi N., Gonciar V. Medicamentele utilizate în maladiile tubului digestiv. Chișinău, 1997, p. 32-33
3. Bacinschi N., Gonciar V. Medicamentele utilizate în maladiile tubului digestiv. Chișinău, 1997, p. 35-36
4. Bacinschi N., Gonciar V. Medicamentele utilizate în maladiile tubului digestiv. Chișinău, 1997, p. 34-35
5. Matcovschi C., Procopișin V., Parii B. Ghid farmacoterapeutic. Chișinău, 2004, p. 502-503
6. Matcovschi C., Procopișin V., Parii B. Ghid farmacoterapeutic. Chișinău, 2004, p. 323
7. Matcovschi C., Procopișin V., Parii B. Ghid farmacoterapeutic. Chișinău, 2004, p. 657

Șef Secție:

GUȘAN Ala

Examinator:

TIMONIN Alexandr

Redactor:

LOZOVANU Maria