



MD 1714 Y 2023.08.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1714** (13) **Y**
(51) Int.Cl: *A61K 36/00* (2016.01)
A61K 36/48 (2016.01)
A61K 36/282 (2016.01)
A61K 36/288 (2016.01)
A61K 31/185 (2016.01)
A61K 31/198 (2016.01)
C07D 311/32 (2016.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ**

În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție de scurtă durată, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului

(21) Nr. depozit: s 2022 0086
(22) Data depozit: 2022.11.02

(45) Data publicării hotărârii de
acordare a brevetului:
2023.08.31, BOPI nr. 8/2023

(71) Solicitant: APOSTOL Gheorghe, MD

(72) Inventatori: APOSTOL Gheorghe, MD; MEREUȚA Ion, MD; CARAUȘ Vladimir, MD;
MARGA Simion, MD; ȘAPTEFRAȚI Lilian, MD

(73) Titular: APOSTOL Gheorghe, MD

(54) **Remediu biologic activ cu activitate antioxidantă și antiischemică**

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la industria farmaceutică și sanocreatologie, și anume la un remediu biologic activ cu activitate antioxidantă și antiischemică.

Remediul, conform invenției, este obținut la dizolvarea extractelor uscate de:

2
frunze de pelin, rădăcină de păpădie, partea aeriană de trifoi dulce, taurină, glicină și dihidroquercetină în soluție fiziologică, cu agitare și filtrare ulterioară.

Revendicări: 1

MD 1714 Y 2023.08.31

(54) Biologically active agent with antioxidant and anti-ischemic activity**(57) Abstract:**

1
The invention relates to the pharmaceutical industry and sanocreatology, namely to a biologically active agent with antioxidant and anti-ischemic activity.

The agent, according to the invention, is obtained by dissolving dry extracts of:

2
common wormwood leaves, dandelion root, aboveground part of yellow sweet clover, taurine, glycine and dihydroquercetin, in physiologic saline, with stirring and subsequent filtration.

Claims: 1

(54) Биологически активное средство с антиоксидантной и антиишемической активностью**(57) Реферат:**

1
Изобретение относится к фармацевтической промышленности и санокреатологии, а именно к биологически активному средству с антиоксидантной и антиишемической активностью.

Средство, согласно изобретению, получено растворением сухих экстрактов:

2
листьев полыни горькой, корня одуванчика, надземной части донника, таурина, глицина и дигидрокверцетина, в физиологическом растворе, с перемешиванием и последующей фильтрацией.

П. формулы: 1

Descriere:

- 5 Invenția se referă la industria farmaceutică și sanocreatologie, și anume la un remediu biologic activ cu activitate antioxidantă și antiischemică.
- În calitate de cea mai apropiată soluție poate servi suplimentul alimentar cu activitate antioxidantă, care conține, în % mas: extract uscat de semințe de amarant 30, extract uscat de frunze de pelin 40, extract uscat de dihidroquercetină 15 și cărbune activat 15 [1].
- 10 Dezavantajul acestui supliment constă în aceea că el acționează numai asupra inversării colesterolului LDL în interiorul celulelor imune din peretele arterei, în mici “pungi” acide numite lizozomi și nu posedă efect antiischemic, foarte necesar în stări de ateroscleroză, care contribuie la formarea ischemiei în timp.
- Problema pe care o rezolvă invenția constă în lărgirea gamei de suplimente alimentare cu activitate antioxidantă și antiischemică în același timp.
- 15 Invenția soluționează problema prin aceea că se propune un remediu biologic activ obținut la dizolvarea extractelor uscate de: frunze de pelin, rădăcină de păpădie, partea aeriană de trifoi dulce, taurină, glicină și dihidroquercetină în soluție fiziologică, cu menținere în decurs de 10 min și filtrare ulterioară.
- Totodată, componentele sunt luate în următorul raport: extract uscat de frunze de pelin 35 mg, 20 extract uscat de rădăcină de păpădie 10 mg, extract uscat de partea aeriană de trifoi dulce 10 mg, extract uscat de taurină 10 mg, extract uscat de glicină 15 mg, extract uscat de dihidroquercetină 20 mg și soluție fiziologică 100 ml.
- Rezultatul tehnic constă în lărgirea gamei de remedii, care posedă activitate antioxidantă și antiischemică.
- 25 Rezultatul tehnic se datorează selectării reușite a raportului cantitativ și calitativ al componentelor, care manifestă sinergism și produc un efect antioxidant mai pronunțat.
- Suplimentul alimentar are următoarele avantaje:
- este simplu în preparare;
 - producerea suplimentului nu depinde de timpul de colectare;
 - 30 • are un efect dublu: antioxidant și antiischemic;
 - administrat în doze de 1,45 sau 2,9 ml/kg reduce suprafața infarctului miocardic cu 1,9 și, respectiv, 2,8 ori.
- Efectul antiischemic a fost studiat pe un lot de 90 de șobolani adulți masculi cu o greutate medie de 371 gr.
- 35 Simularea infarctului miocardic.
- Șobolanii au fost anesteziați prin injectare intraperitoneală cu hidrat de cloral la o doză de 400 mg/kg, apoi infarctul miocardic a fost simulat prin legatura reversibilă în decurs de 2,5 ore a arterei coronare stângi fără deschiderea cutiei toracice. Câmpul de operație pe pieptul animalului a fost curățat de blană, tratat cu alcool și a fost făcută o incizie; apoi, mușchii aflați în stânga toracelui au fost separați cu 40 grijă de coaste, prevenind ruptura sau deteriorarea acestora. S-a făcut o puncție în spațiul intercostal în regiunea bătăii apexului, prin care inima a fost împinsă în afară. A fost aplicată o legatură la artera coronară stângă situată în zona de la limita ventriculului drept al miocardului și apendicelui atrial, retras la aproximativ 4 mm de inelul fibros.
- Estimarea dimensiunii leziunii miocardice.
- 45 Dimensiunea necrozei a fost evaluată la 72 ore după simularea infarctului miocardic planimetric în secțiuni de inimă de 1,5 mm grosime, colorate cu soluție de 1% clorură de 2,3,5-trifeniltetrazoliu. Cu această colorare țesutul viu devine roșu, iar cel mort rămâne albicios. După oprirea reacției cu formol de 10%, secțiunile au fost plasate între lamele de sticlă și scanate pe ambele părți. Cu ajutorul curbei AUC-ROC s-a calculat procentul din zona țesutului afectat la dimensiunea ventriculului stâng al inimii. Această 50 estimare coincide cu procentul volumului de țesut necrotic din volumul total al inimii.
- Remediul revendicat a fost injectat intravenos prin jet în vena sublinguală în doze de:
- 0,29 ml/kg
 - 0,73 ml/kg
 - 1,45 ml/kg
 - 55 • 2,9 ml/kg, timp de 1 minut.
- Experimentul a fost efectuat în condiții sterile.
- Grupuri experimentale de animale.
- În studiu au fost formate patru grupuri experimentale de animale și unul de control:
1. Infarct cu administrare intravenoasă a remediei în doză de 0,29 ml/kg (F-0,1, N=17);

2. Infarct cu administrare intravenoasă a remedului în doză de 0,73 ml/kg (F-0,25, N=15);
3. Infarct cu administrare intravenoasă a remedului în doză de 1,45 ml/kg (F-0,5, N=18);
4. Infarct cu administrare intravenoasă a remedului în doză de 2,9 ml/kg (F-1, N=18);
5. Infarct cu administrare intravenoasă a remedului control în doză de 1,45 ml/kg (C-0,5, N=12).

Mortalitatea șobolanilor după simularea infarctului.

Au fost operați în total 90 de șobolani. Animalele care au murit ca urmare a anesteziei (înainte de ocluzia arterei coronare stângi, N=10) au fost excluse din experiment: un total de 10 șobolani. Astfel, 80 de șobolani au fost incluși în studiu.

Rezultatele sunt prezentate în tabelul de mai jos.

Tabel

Grupul	Înainte de operație		0 - 2,5 ore după ocluzie (înainte de perfuzie)		2,5 - 72 ore după ocluzie		Numărul total (excluzând șobolanii care au murit înainte de ocluzie)	
	decedat	supraviețuit	decedat	supraviețuit	decedat	supraviețuit	decedat	supraviețuit
C-0,5	2	12	3 (25%)	9	3 (33%)	6	6 (50%)	6
F-0,1	1	17	6 (35%)	11	5 (45%)	6	11 (65%)	6
F-0,25	3	15	6 (40%)	9	2 (22%)	7	8 (53%)	7
F-0,5	2	18	4 (22%)	14	2 (14%)	12	6 (33%)	12
F-1	2	18	1 (6%)	17	5 (29%)	12	6 (33%)	12

Perfuzia intravenoasă a remedului revendicat nu a afectat rata mortalității la șobolani. Cu toate acestea, s-a constatat o tendință de reducere a mortalității generale a animalelor de 2 ori pe fonul introducerii unor volume mari de supliment în comparație cu un volum mic: în grupul F-0,1, mortalitatea a fost de 65%, iar în grupele F-0,5 și F-1 – de 33 % (P=0,06).

Influența remedului asupra dimensiunii leziunii miocardice la 72 ore după infarct.

Dimensiunea leziunii miocardice în grupul de control C-0,5 a fost de 17,0 (13,1; 22,7)%, iar în grupurile cu administrarea remedului revendicat:

- F-0,1 – 13,2 (10,4; 18,2)%;
- F-0,25 – 17,7 (12,5; 19,7)%;
- F-0,5 – 9,2 (5,4; 12,8)%;
- F-1 – 6,0 (3,9; 12,3)% (vezi figurile 1, 2).

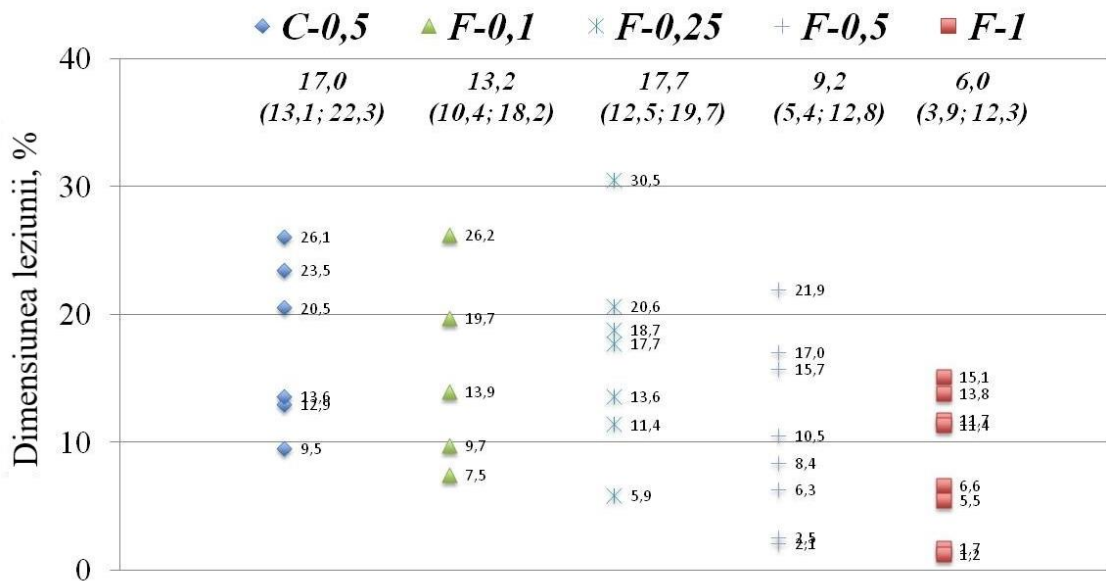


Figura 1. Dimensiunea leziunii miocardice prezentată în % din dimensiunea totală a inimii la 72 ore după simularea ischemiei.

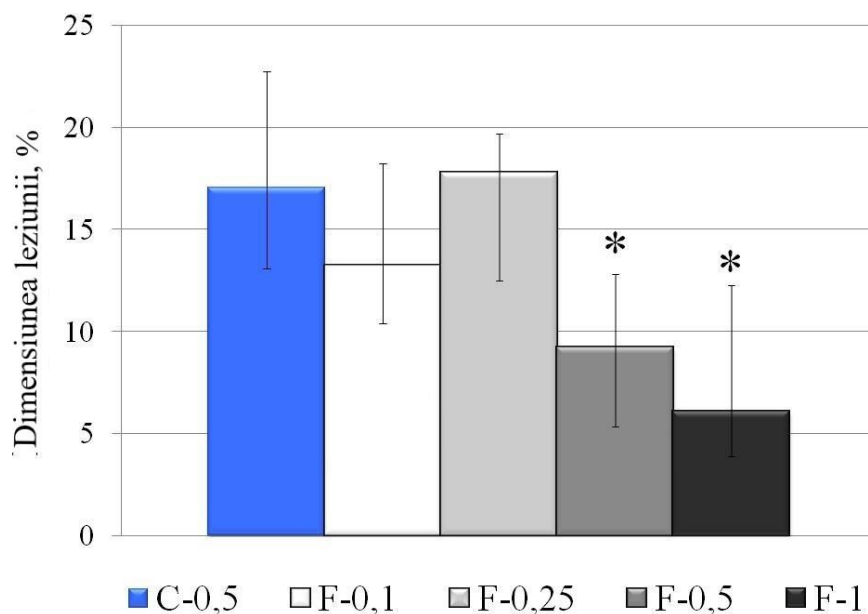


Figura 2. Dimensiunea leziunii miocardice prezentată în % din dimensiunea totală a inimii la 72 ore după simularea ischemiei.

* - $p < 0,05$ - pentru grupurile F-0,5 și F-1 comparativ cu grupul de control C-0,5.

Remediul administrat în volume mari - 1,45 ml/kg (F-0,5) și 2,9 ml/kg (F-1) a redus dimensiunea sau afectarea miocardică de 1,9 și, respectiv, de 2,8 în comparație cu lotul de control C-0,5. Volumele mai mici ale remediului studiat nu au afectat dimensiunea necrozei. Astfel, a fost indicată doza minimă eficientă a suplimentului (în intervalul de doze studiate).

A fost studiat și efectul remediului asupra formării infarctelor mari ($>9\%$) și mici ($<9\%$). Infarctul mic a fost înregistrat numai în grupurile cu administrarea remediului revendicat:

- F-0,1 – 7,5%;
- F-0,25 – 5,9%;
- F-0,5 – 4,4 (2,2; 7,7)%;
- F-1 – 4,1 (2,4; 4,9)%;

Leziuni mari au fost observate în toate grupurile studiate: în grupul de control C-0,5 - 17,0 (13,1; 22,7)% și în grupurile experimentale:

- F-0,1 – 14,0 (12,4; 19,7)%;
- F-0,25 – 18,2 (14,6; 20,1)%;
- F-0,5 – 13,8 (10,9; 16,7)%;
- F-1 – 13,8 (11,8; 15,1)%.

Ținând cont de dimensiunea eșantionului, s-a efectuat o comparație intergrup a mărimii unui infarct mare. Nu au fost găsite diferențe semnificative statistic în această comparație.

La efectuarea unei analize de frecvență a cazurilor de apariție a infarctelor mici și mari, s-a demonstrat că, odată cu creșterea volumului remediului administrat, a crescut și proporția infarctelor mici în numărul total de infarcte. Astfel, s-a demonstrat că în grupul F-0,1, procentul infarctelor mici a fost de 17%, în grupul F-0,25 – de 14%, în grupul F-0,5 – de 50%, iar în grupul F-1 – de 58% (vezi figura 3).

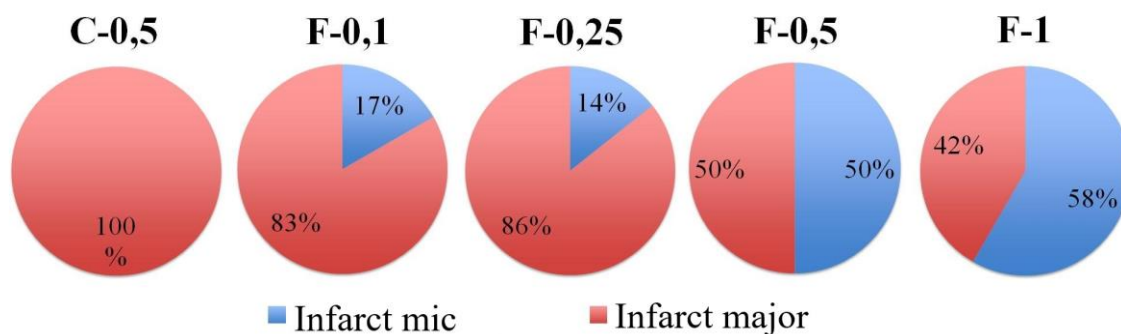


Figura 3. Incidența infarctului miocardic mare și mic în grupurile de studiu.

Deoarece analiza dimensiunii totale a leziunii a arătat că la șobolani cu administrarea remedii revendicate în doze de 1,45 ml/kg (F-1) și 2,9 ml/kg (F-1), dimensiunea leziunii a fost mai mică, atunci se poate concluziona că acest efect se realizează datorită scăderii numărului de cazuri de infarct major, mai ales că mortalitatea a avut tendința de a scădea.

Rezultatele sunt în concordanță cu datele obținute anterior privind o scădere a dimensiunii leziunilor miocardice la perfuzia remedii revendicate în doză de 2,9 ml/kg. Într-un studiu anterior, s-a demonstrat, de asemenea, că o creștere suplimentară a volumului de administrare la o valoare de 5,7 ml/kg a nivelat acest efect. Probabil, doza remedii de 2,9 ml/kg este valoarea optimă, a cărei introducere realizează efectul cardioprotector.

Luând în considerare datele obținute anterior, a fost construit un grafic doză-efect (vezi figura 4).

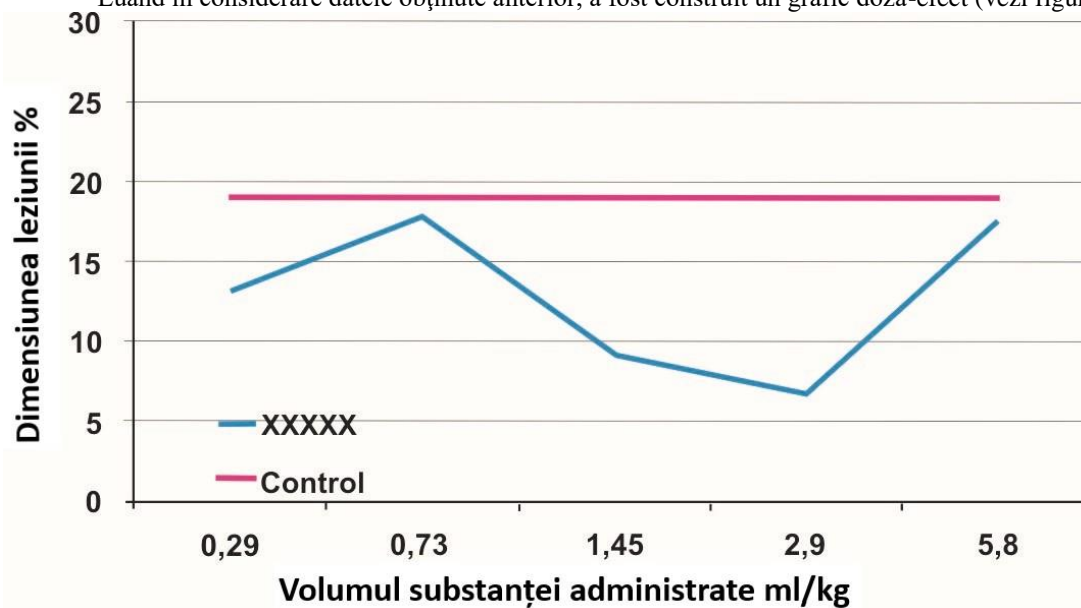


Figura 4. Influența remedii revendicate asupra dimensiunii leziunii miocardice la 72 de ore după ischemie.

Modul de preparare a remedii.

Componentele utilizate în suplimentul revendicat sunt produse de Compania EPO (Estratti Piante Officinali) L.t.d, Italia și reprezintă extracte vegetale uscate din materie vegetală pentru industria farmaceutică, standardizate 1:10, precum și alte produse autorizate spre realizare utilizate în industria farmaceutică.

Modul de preparare a remedii biologice active cu activitate antioxidantă și antiischemică este următorul: se procură componentele suplimentului, se iau în următorul raport: extract uscat din frunze de pelin 35 mg, extract uscat din rădăcină de pădărie 10 mg, extract uscat din partea aeriană de trifoi dulce 10 mg, extract uscat de taurină 10 mg, extract uscat de glicină 15 mg, extract uscat de dihidroquercetină 20 mg și se amestecă bine timp de 3...5 min, până se obține o masă omogenă, apoi se dizolvă în 100 ml de soluție fiziologică de 0,9 %, se lasă la temperatura camerei agitând amestecul timp de 10 min, apoi se filtrează printr-un filtru din sticlă cu ajutorul vidului (filtrare sterilă), mărimea porilor filtrului fiind de 2 μm.

Soluția obținută se injectează în doză de 2,9 ml/kg.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. MD 1478 Y 2021.01.31

(57) Revendicări:

Remediu biologic activ cu activitate antioxidantă și antiischemică, obținut la dizolvarea extractelor uscate de: frunze de pelin, rădăcină de păpădie, partea aeriană de trifoi dulce, taurină, glicină și dihidroquercetină în soluție fiziologică, cu agitare și filtrare ulterioară, componentele fiind luate în următorul raport: extract uscat din frunze de pelin 35 mg, extract uscat din rădăcină de păpădie 10 mg, extract uscat din partea aeriană de trifoi dulce 10 mg, extract uscat de taurină 10 mg, extract uscat de glicină 15 mg, extract uscat de dihidroquercetină 20 mg, soluție fiziologică 100 ml.