



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2007 00864**

(22) Data de depozit: **13.12.2007**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **28.01.2011** BOPI nr. 1/2011

(41) Data publicării cererii:
30.06.2009 BOPI nr. 6/2009

(73) Titular:
• **BIOTEHNOS S.A., STR. GORUNULUI,**
NR. 3-5, OTOPENI, IF, RO

(72) Inventatori:
• **MÂNZATU IOAN,**
STR. DR. SANDU ALDEA, NR. 49,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
• **ȚURCANU LIUDMILA,**
STR. DRUMUL TABEREI, NR. 39, BL. OS4,
SC. A, AP. 8, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;

• **OLARIU LAURA, BD. ION MIHALACHE,**
NR. 42-52, BL. 35, SC. B, ET. 10, AP. 79,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;

• **DUMITRIU BRÎNDUȘA GEORGIANA,**
BD. ION MIHALACHE, NR. 146, BL. 9,
SC. 1, ET. 4, AP. 18, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:
RO 98317

(54) **COMPOZIȚIE FARMACEUTICĂ VASCULOPROTECTOARE ȘI
UTILIZAREA ACESTEIA ÎN TERAPIA TULBURĂRILOR
CIRCULATORII**

(57) **Rezumat:**

Invenția se referă la o compoziție farmaceutică vasculo-protectoare, constituită din acid oleanolic și esculină, ambele evaluate prin HPLC cu puritate de minimum

98%, asociate într-un raport de 1:0,1... 1:0,3 părți în greutate.

Revendicări: 16



Invenția se referă la o compoziție farmaceutică vasculoprotectoare, de origine vegetală, cu activitate trofică și tonifiantă vasculară, aplicabilă în terapia de redresare a tulburărilor circulatorii venoase și arteriale, pentru uz uman și/sau veterinar.

Importanța și influența extinsă pe care o au tulburările de irigație sanguină și de permeabilitate capilară, asupra evoluției majorității maladiilor întâlnite în practica medicală, impun aprofundarea cercetărilor referitoare la diversificarea medicamentelor destinate terapiei preventive și curative a disfuncțiilor vasculare periferice, a căror incidență socială este crescândă.

Este cunoscut că insuficiența circulatorie periferică se manifestă atât ca tulburări de irigație sanguină la nivel cerebral, coronarian, ocular, dar mai ales prin afectarea frecventă a membrelor inferioare, sub forma a numeroase maladii arteriale și venoase, de natură aterosclerotică, diabetică, inflamatorie precum: artetiopia cronică obliterantă, tromboangeita obliterantă, sindromul varicos și trombotic, tulburări trofice în sindromul posttrombotic, edeme și hematoame posttraumatice sau postoperatorii.

Componentele bioactive, specifice medicamentelor destinate acestui vast domeniu terapeutic, pot fi evaluate dependent de activitatea farmacologică și de modul de obținere:

1. *Substanțe de sinteză chimică*

- Pentoxifilina - derivat xantic din grupa vasodilatatoarelor periferice - este utilizată pentru terapia de uz intern a tulburărilor vasculare periferice arteriale și venoase, datorită vasodilatației periferice arteriolare și capilare.

Prin cercetări clinice comparative, evaluate statistic s-a evidențiat însă că vasele modificate prin procesul de ateroscleroză nu mai pot fi influențate pozitiv de medicamentele vasodilatatoare periferice de sinteză, ajungându-se la o diminuare a fluxului sanguin în vasele sclerozate, ceea ce determină accentuarea fenomenelor hipoxice în zonele irigate de aceste vase, cu scăderea oxigenării și nutriției țesuturilor.

2. *Substanțe naturale în stare pură și extracte bioactive standardizate, de origine vegetală*

Din această grupă, fac parte câteva clase de componente bioactive vegetale, care prezintă o activitate tonifiantă vasculară, aplicabilă în terapeutică, dintre care cele mai utilizate sunt:

- Flavonoidele, care constituie grupa cea mai răspândită de substanțe vegetale cu acțiune caracteristică tip vitamină P, dintre care cele mai cunoscute și mai utilizate sunt: Rutozidul (Rutin) și derivatul sau trihidroxilat de semisinteză - Troxerutin (Venoruton), ambele fiind prescrise uneori, în asociere cu vitamina C, pentru potențarea activității capilaroprotectoare.

Se consideră că flavonoidele cresc rezistența capilarelor și scad permeabilitatea acestora, intervenind în menținerea integrității lor funcționale, prin mecanisme de formare a unor sisteme redox, de protecție și potențare a vitaminei C.

Din punct de vedere al eficacității farmacologice, Rutinul și compușii săi de semisinteză tip Troxerutin, precum și alte flavonoide cunoscute și utilizate, mai ales sub formă de complex, sunt considerate o medicație capilaroprotectoare adjuvantă, fără efecte trofice regenerative asupra vaselor lezate în structura colagenului tisular.

Cu toate acestea, acestea beneficiază de o largă aplicabilitate medicală în tratamentul disfuncțiilor circulatorii arteriale și venoase, fiind prescrise ca atare sau în asociere cu alte componente vasculoprotectoare.

- Complexul de saponine triterpenice tip escină, din semințele de *Aesculus hippocastanum* (castan), constituie componenta bioactivă de bază și caracteristică a numeroase produse farmaceutice venotonice și flebotonice, de uz intern și extern, care conțin fie escina în stare pură sau complexul triterpenic purificat, cu un conținut exprimat în escină, fie un extract total, standardizat, în componentele bioactive specifice semințelor de castan: saponine triterpenice, flavonoide, leucoantocianidine, esculină și epicatehină [2].

Activitatea farmacologică a componentelor bioactive prezente în extractele din semințele de castan este complexă, datorită unor efecte terapeutice sinergice, potențate reciproc.	1
Astfel, complexul de saponine triterpenice tip escină prezintă o activitate anti-edematoasă, antiexudativă și antiinflamatoare marcată, care justifică utilizarea terapeutică a acestora în tratamentul manifestărilor inflamatorii ale insuficienței venoase acute și cronice, în edeme posttraumatice și postoperatorii.	3
Escina este mai activă decât Rutozidul și alte flavonoide, în protejarea capilarelor sanguine, diminuând semnificativ permeabilitatea acestora și crescând rezistența vasculară, de unde și aplicabilitatea sa diversificată, sub formă de produse farmaceutice de uz intern și extern, în terapia preventivă și curativă a fragilității capilare și a perturbărilor circulatorii periferice venoase și arteriale: flebite, tromboflebite, sindromul Raynaud, arteriopatia cronică obliterantă, sindromul varicos și hemoroidal.	5
Cu toată multitudinea efectelor vasculoprotectoare sus-menționate, complexul triterpenic tip escină prezintă și un dezavantaj terapeutic, care acționează ca un efect advers, manifestat printr-o activitate hemolitică, caracteristică majorității saponinelor triterpenice sau steroidice, ceea ce poate crea probleme de inocuitate și toleranță, în cazul administrării de uz intern (oral, dar mai ales parenteral).	7
Din punct de vedere al eficacității terapeutice, în <i>Farmacoterapie</i> , D. Dobrescu, Editura Medicală, 1981, București, escina este considerată, ca și Rutozidul și alte flavonoide, numai un tonifiant vascular, neavând însă și un efect trofic vascular, deoarece nu influențează redresarea alterărilor structurale ale vaselor lezate, cum sunt varicele deja constituite.	9
Escina constituie componenta bioactivă de bază a numeroase medicamente utilizate în terapia perturbărilor circulatorii periferice, ale căror formule sunt brevetate sau în curs de brevetare.	11
- Proantocianidinele se încadrează tot în grupa "factorilor P" (factori de permeabilitate), fiind constituite din compuși dimeri ai antocianidinelor, rezultați prin condensarea acestora cu catehine (epicatehina).	13
Mecanismul de acțiune a acestora în organism, așa cum este redat în <i>Plante medicinale - Fitochimie și Fitoterapie</i> , I. Ciulei, Editura Medicală, 1993, București, constă în formarea unei legături chimice cu acidul ascorbic, exercitând rolul de transportori ai acestuia la nivel celular și potențându-i activitatea capilaroprotectoare.	15
- Cumarinele naturale 6,7-hidroxiolate sunt reprezentate de esculină-glicozida agliconului esculetina: 6,7-dihidroxi-cumarin-6-glucozida, care alături de fraxină (6-metoxi-7-hidroxi-cumarin-8-glucozida) constituie componentele bioactive principale ale scoarței de castan (<i>Aesculus hippocastanum</i>) și de frasin (<i>Fraxinus species</i>), din care se obțin în stare pură sau sub formă de complex purificat, prin procedee tehnologice brevetate, așa cum este redat în brevetele de invenție RO 87724/26.10.1985, RO 97802/22.08.1989 și, respectiv, în cererea de brevet de invenție PCT/CN/WO 2004/020427/11.03.2004.	17
Referitor la activitatea farmacologică, esculina și agliconul acesteia - esculetina fac parte dintr-o importantă grupă de substanțe naturale vegetale, care deși au fost identificate și caracterizate fizico-chimic, cu peste un secol în urmă, abia în ultimele decenii au fost studiate și puse în valoare din punct de vedere al efectelor biologice și posibilităților de aplicare în terapeutică.	19
Astfel, prin studii farmacologice preclinice și clinice, s-a demonstrat că esculina posedă o activitate tonifiant-vasculară și venotropă, tip vitamina P, similară flavonoidelor tip Rutozid, prezentând, comparativ cu acesta, următoarele avantaje farmacoterapeutice:	21
- este mai activă, la doze de 5...20 ori mai mici decât Rutozidul;	23

1 - exercită o biodisponibilitate terapeutică superioară, datorită polarității structurii sale
chimice, care determină solubilitatea în apă a acesteia și posibilitatea condiționării sub formă
3 de soluții apoase, injectabile sau perfuzabile.

Activitatea tip vitamină P a esculinei se exercită în principal prin efecte de redresare
5 a permeabilității capilare și a fragilității vasculare, de activare a circulației periferice arteriale
și venoase, ceea ce a condus la obținerea unor compoziții medicamentoase pe bază de
7 esculină, realizate prin asociere cu alte componente bioactive tonifiant-vasculare: extracte
din semințe de castan, standardizate în escină, Rutozid, Troxerutin, Dihidroergocristină,
9 vitaminele B1, C și E.

Astfel de compoziții sunt avizate ca produse farmaceutice, fiind prevăzute în unele
11 nomenclatoare de medicamente europene ROTE LISTE/2002 Frankfurt/Main, 83060;
83084 și, respectiv, Agenda Medicală/2003, Editura Medicală, București, 2003, pag. 1642,
13 pentru tratamentul de uz intern și extern al disfuncțiilor vasculare.

În continuare, sunt prezentate brevetele de invenție și cererile de brevete recente,
15 care prezintă procedee de obținere a unor compoziții medicamentoase vasculoprotectoare,
aplicabile în terapia tulburărilor circulatorii.

Brevetul de invenție **EP 1463514/2004.10.06** prezintă o compoziție farmaceutică
17 pentru tratamentul perturbărilor circulatorii oculare, care conține Rutin, sub formă de
Troxerutin și escină, sub formă de extract uscat din semințe de *Aesculus hippocastanum*,
19 standardizat în escină (10...30%). Se prezintă formule de condiționare sub formă de: capsule
moi, conținând 450 mg troxerutin + 25 mg escină; capsule tari cu 600 mg troxerutin + 33 mg
21 escină și tablete cu 250 mg troxerutin + 13,75 mg escină, toate fiind aplicabile în terapia
preventivă sau curativă a perturbărilor circulatorii oculare, acute sau cronice, atribuite
23 insuficienței venoase sau arteriale, diabetului zaharat sau sclerozei vasculare și manifestate
prin hemoragii și edeme retiniene, keratite ale corneei.

Brevetul de invenție **CN 1376675/2002.10.30** prezintă o compoziție farmaceutică pe
27 bază de arginină-escină, cu efecte antiinflamatoare și de ameliorare a circulației sangvine.
Se menționează că rezolvarea solubilității escinei în apă, în procesul de preparare, reduce
29 efectele adverse ale acesteia (angiospasm) și crește siguranța sa terapeutică.

Brevetele de invenție **US 6077534/2000.06.20** și **EP 0900563/1999.03.10** prezintă
31 producerea unor formulări farmaceutice pentru tratamentul edemelor și tulburărilor sistemului
circulator venos, care au drept component principal - extractul total uscat și standardizat din
33 semințe de *Aesculus hippocastanum*, conținând 15...20% glicozide triterpenice, calculate în
escină, la care se pot asocia și alți ingrediente activi, selectați din grupa substanțelor utilizate
35 în tratamentul disfuncțiilor circulatorii precum: Rutozid, Troxerutin, Esculină, Dihidroergo-
tamină. Este prezentat procedeul de preparare a extractului uscat, standardizat, din semințe
37 de castan, condiționat prin adsorbție pe dextrină, peletizarea amestecului, încapsularea sau
tabletarea peletelor, cu un conținut de 30, 50, 75 sau 100 mg escină.

Cererea de brevet de invenție **WO 2006089317/2006.08.31** prezintă o compoziție
39 farmaceutică cu efecte asupra sistemului microcirculator, care conține drept componentă de
bază o flavonoidă (Rutozid, Troxerutin, Diosmină, Hesperidină), la care se adaugă și alți
41 ingrediente activi precum: extracte din *Ginkgo biloba*, *Vitis vinifera*, *Ruscus aculeatus*,
compuși minerali (magneziu, calciu, potasiu), aminoacizi, vitamine.

Se menționează condiționarea compoziției sub formă de tablete, drajeuri, granule,
45 soluții buvabile, precum și ca formule homeopatice.

Cererea de brevet de invenție **WO 03/080062A1/02.10.2003** prezintă o compoziție
47 farmaceutică destinată terapiei afecțiunilor circulatorii, având drept componente: acidul folic
(vitamina B9), vitamina B6, acidul lipoic și 6 extracte de plante din: *Ginkgo biloba*, usturoi,
49 *Andrographis*, *Aesculus hippocastanum*, *Centella asiatica* și semințe de struguri. Se mențio-
nează aplicabilitatea compoziției în insuficiența venoasă, tulburările circulatorii și sclero-
51 terapia vasculară.

Brevetul de invenție **US 4707360/1987.11.17** prezintă compoziții farmaceutice cu activitate vasculoprotectoare, conținând drept componentă de bază Coenzima Q10, alături de una sau mai multe din componentele: escină, troxerutin, asiaticozidă, delfinidină, tribenzozidă, heparină sodică, heparinoid natural. Compozițiile sunt condiționate sub formă de capsule, tablete, granulate, soluții sterile, unguente, creme, loțiuni, geluri sau supozitoare, testele farmacologice aplicate indicând un marcat sinergism de acțiune între Coenzima Q10 și celelalte componente vasculoprotectoare.

Brevetul de invenție **RU 2223110/2004.02.10** prezintă metoda de preparare a unui produs fitoterapic din *herba Melilotus officinalis* (sulfină), care conține, drept componente bioactive, cumarine și flavonoide sub formă de extract sic, obținut prin mai multe variante tehnologice, în funcție de metoda de extracție a materiei prime vegetale (macerare, percolare) sau de solventul de extracție (apă, alcool, amestec hidroalcoolic). Nu se menționează date analitice referitoare la evaluarea calitativă și cantitativă a produselor rezultate, dar se prezintă studiile farmacologice aplicate, prin care s-au evidențiat efecte anticoagulante, antioxidante, antiexudative, capilarotonifiante și cicatrizante.

Brevetul de invenție **FR 2668932/1992.05.15** prezintă procedeul de preparare a unui produs fitofarmaceutic sub formă de gel, în care se condiționează un extract hidroalcoolic glicerinat, obținut din planta *Justicia pectoralis* (*Acanthaceae*), care conține următoarele componente bioactive: cumarine (α -benzopirona și umbelliferona) și 4 flavonoide (swertisina, swertiajaponina, O-rhamnosyl-2-swertisina și O-rhamnosyl-2 swertiajaponina). Se menționează că, datorită efectelor pozitive ale acestor componente asupra sistemului circulator, venolimfatic, gelul preparat conform invenției poate fi utilizat în tratamentul local al tulburărilor circulatorii venoase și limfatice. Nu se prezintă date analitice referitoare la conținutul extractului în cumarine și flavonoide, nici date despre studiile farmacologice efectuate în vederea evaluării activității produsului.

Brevetul de invenție **CN 1250651/2000.04.19** prezintă o compoziție farmaceutică, destinată tratamentului preventiv și curativ al hipertensiunii intracraniene, care conține, drept componentă de bază, piracetamul, alături de alte componente precum: esculină sodică - ca antiexudativ tisular și manitol - ca diuretic osmotic, rezultând o hipotensiune controlabilă.

Brevetul de invenție **CN 1433808/2003.08.06** prezintă o compoziție farmaceutică aplicabilă în tratamentul hipertensiunii, care conține extracte din plantele: *Prunella*, *Datura*, *Uncaria*, *Crataegus*, *Cassia* și *Chrysanthemum*, obținute prin extracție supercritică cu CO₂, granulare și încapsulare.

Capsulele conțin, drept componente bioactive, acidul oleanolic (minimum 0,2 mg/capsulă) și flavonoidele: hyperozida și quercetina.

Brevetul de invenție **RO 98317/1989.04.19** prezintă un medicament cu acțiune tonică și protectoare asupra circulației cerebrale și periferice, de reducere a permeabilității și fragilității capilare sanguine, constituit din esculină și acid ascorbic, drept componente bioactive, și condiționat sub formă de comprimate sau drajeuri.

Medicamentul conform invenției conține 1 parte esculină (5...10 mg) și 5...10 părți acid ascorbic (50 mg)/comprimat/drajeu, prezentând ca activitate specifică efecte de reducere a permeabilității vasculare, antiinflamatoare, analgezice și antipiretice, ceea ce permite aplicarea acestuia în terapia afecțiunilor circulatorii.

Brevetul de invenție **RO 99523/1990.05.05** prezintă formularea și prepararea unui medicament cu acțiune asupra circulației periferice, constituit din 1 parte Rutin, ca atare sau ca sare de sodiu sau magneziu și 0,5 părți esculină, condiționat sub formă de soluție buvabilă, având ca excipienți: tiouree, glicerină, alcool etilic, apă. Nu se prezintă date farmacologice privind evidențierea activității specifice vasculoprotectoare a produsului conform invenției.

1 Brevetul de invenție **US 6756065/2004.06.29** prezintă o compoziție farmaceutică
antioxidantă, aplicabilă în terapia tulburărilor circulatorii, afecțiunilor cronice degenerative,
3 precum și în tratamentul preventiv sau curativ al hipertensiunii.

Compoziția conține un amestec de extracte din diverse plante: *Ginkgo biloba*,
5 *Melilotus officinalis*, *Aesculus hippocastanum*, *Vitis vinifera*, *Centella asiatica*, *Ruscus*
aculeatus, *Crataegus oxyacantha*, extractele fiind condiționate sub formă de fitozomi, prin
7 complexarea componentelor active cu fosfolipide din soia.

Se menționează componentele active caracteristice fiecărui extract, dar nu se
9 specifică conținutul extractului în componenta respectivă, astfel încât alcătuirea formulei
compoziției pe baza unor valori procentuale ale cantităților de extracte, nestandardizate ana-
11 litic cantitativ, conduce la plaje de variații mari ale componentelor active din formulă precum:
0,2...14% biflavone; 0,5...16% catehină; 0,1...6% cumarină; 0,3...18% asiaticozidă și
13 0,4...26% acid asiatic sau acid madecassic.

Pe baza relației doză/efect farmacologic, o variabilitate accentuată a proporției com-
15 ponentelor active într-o formulă farmaceutică determină o variabilitate și o reproductibilitate
inconstante ale activității farmacologice, ceea ce contribuie la scăderea eficacității tera-
17 peutice a medicamentului.

Brevetul de invenție **RU 2195922 C2/2003.10.01** prezintă o compoziție farmaceutică
19 destinată tratamentului local al tulburărilor circulatorii varicoase, condiționată sub formă de
cremă, care conține: extract din *Aesculus hippocastanum*, chitosan și oleuri eterice din
21 diferite plante.

Ca efecte farmacologice, se menționează îmbunătățirea circulației venoase și a
23 capilarelor, precum și prevenirea inflamațiilor.

Brevetul de invenție **RU 2203037C1/2003.04.27** prezintă formula și modul de
25 preparare a unui balsam gel cu efect antivaricos, care conține extracte hidroalcoolice din
semințe de *Aesculus hippocastanum*, frunze de mentă și scoarță de stejar, încorporate într-o
27 bază de gel pe bază de Carbopol, cu adaos de uleiuri esențiale din chiparos și mușetel.

Se menționează că balsamul-gel elimină oboseala, durerea și edemele picioarelor
29 afectate de varice sau de insuficiență circulatorie venoasă.

Brevetul de invenție **US 6228387 B1/2001.05.08** prezintă 2 compoziții fitoterapice -
31 una pentru aplicare topică și alta pentru administrare orală - destinate unui tratament integral
al hemoroizilor, care sunt considerați o manifestare locală a insuficienței venoase.

Compoziția pentru aplicare topică este condiționată ca unguent, cremă sau gel,
33 având următoarele componente: extract din *Centella asiatica*, conținând 10% asiaticozidă,
35 extract din semințe de struguri, conținând 92...95% proantocianidine, extract din *Aesculus*
hippocastanum, conținând 2% escină, extract de *Aloe vera* gel, vitaminele C și E, precum
37 și ulei esențial din *Chamomila* și Lavandă.

Compoziția pentru administrare orală este condiționată sub formă de tablete sau
39 capsule, ca supliment nutritiv, având drept componente: extracte din *Centella asiatica*,
semințe de struguri, afine, vitaminele C și E. Se menționează că extractul de afine conține
41 25% antocianozide, celelalte extracte având aceeași standardizare ca la compoziția pentru
aplicare topică.

Din punct de vedere al activității farmacologice vasculare protectoare, aplicabilă în
43 tratamentul hemoroizilor, pentru utilizarea celor 2 compoziții nu sunt prezentate studii
45 preclinice experimentale, efectuate în acest scop, enumerându-se efectele terapeutice ale
componentelor bioactive, numai pe baza datelor cunoscute din literatură.

Brevetul de invenție **RO 103862/1991.12.02** prezintă o compoziție farmaceutică
47 condiționată ca unguent antihemoroidal, care conține extracte din *Arnica montana* - flori, și
49 de *Aesculus hippocastanum* - flori și semințe, asociate cu scobutil și oxitettraciclină, într-o
bază grasă (lanolină și vaselină).

Se menționează că unguentul prezintă o activitate antiinflamatoare, antiexudativă și antiedematoasă, exercitată în mod electiv asupra sistemului vascular venos, prin efecte de diminuare a permeabilității vasculare și de creștere a rezistenței capilare. Nu sunt prezentate studiile farmacologice preclinice, efectuate în vederea evidențierii activității specifice.	1
Brevetul de invenție RO 117997B1/2002.30.12 prezintă preparate farmaceutice și cosmetice pe bază de extracte din <i>Aesculus hippocastanum</i> și <i>Helleborus species</i> , condiționate ca produse de uz extern: unguente, creme, geluri, soluții de uz extern și supozitoare.	3
Extractele utilizate pentru condiționare sunt alcoolice, fără a se menționa standardizarea analitică a acestora, prin identificarea și evaluarea cantitativă a componentelor active.	5
De asemenea, nu sunt prezentate studiile farmacologice preclinice, efectuate în vederea demonstrării efectelor terapeutice synergice și nici studiile farmacotoxicologice referitoare la inocuitatea și toleranța cutanată a produselor, având în vedere că toate speciile de <i>Helleborus</i> sunt toxice și iritante.	7
Din datele prezentate cu privire la stadiul tehnicii în domeniul obținerii unor compoziții medicamentoase cu activitate vasculoprotectoare, aplicabile în terapia tulburărilor circulatorii, rezultă următoarele:	9
- majoritatea compozițiilor brevetate sau în curs de brevetare conțin componente bioactive de origine vegetală, sub formă de extracte totale sau parțial purificate și ca substanțe în stare pură;	11
- materiile prime vegetale cele mai utilizate sunt speciile: <i>Aesculus hippocastanum</i> , <i>Ginkgo biloba</i> , <i>Centella asiatica</i> , <i>Vitis vinifera</i> , <i>Melilotus officinalis</i> ;	13
- extractul din semințe de <i>Aesculus hippocastanum</i> , cu un conținut standardizat în escină, predomină în toate compozițiile vasculoprotectoare, în asociere cu alte extracte din plante, vitamine și săruri minerale;	15
- din grupa substanțelor bioactive vegetale în stare pură, cu efecte tonifiante vasculare, cele mai utilizate sunt: escina, Rutinul ca atare sau ca Troxerutin și esculina;	17
- compozițiile care conțin extracte vegetale totale sau parțial purificate nu prezintă studii analitice cantitative complete, referitoare la evaluarea tuturor componentelor active prezente în extract concomitent cu componenta de bază în care se standardizează extractul; aceasta conduce la o largă variabilitate a componenței extractelor, care influențează negativ reproductibilitatea constantă a activității farmacologice - cerință obligatorie a legislației europene actuale, referitoare la avizarea medicamentelor de uz intern și extern;	19
- o parte din compozițiile brevetate nu prezintă studiile farmacologice preclinice experimentale, efectuate în scopul evidențierii efectelor terapeutice vasculoprotectoare, aplicabilitatea produsului respectiv în tratamentul tulburărilor circulatorii fiind bazată doar pe date farmacologice cunoscute din literatură;	21
- compozițiile medicamentoase menționate prezintă numai activitatea tonifiantă vasculară a produselor brevetate, evidențiată prin efecte antiinflamatoare, de scădere a permeabilității capilare și de creștere a rezistenței vasculare, fără a se demonstra experimental și prezența unei activități trofice vasculare, necesare refacerii tisulare a vaselor lezate prin diferite procese patologice.	23
Problema tehnică, pe care o rezolvă prezenta invenție, este aceea că această compoziție medicamentoasă, obținută din acid oleanolic și esculină în stare pură, exercită concomitent două tipuri de efecte vasculoprotectoare: tonifiant vascular și trofic vascular, strict necesare tratamentului profilactic și curativ al majorității afecțiunilor generate de insuficiența circulatorie periferică.	25
Efectele vasculoprotectoare se adresează atât tulburărilor de irigație sanguină la nivel cerebral, coronarian, ocular, dar și maladiilor arteriale și venoase, de natură aterosclerotică, diabetică sau inflamatorie ale membrelor inferioare, având un rol predominant în redresarea întregului sistem vascular arterial și venos.	27

1 Compoziția medicamentoasă, conform invenției, constă în aceea că este constituită
din acid oleanolic și esculină în stare pură (ambele evaluate prin HPLC, având minimum
3 98%), drept substanță farmaceutică activă, asociate în raportul: 1:0,1...1:0,3 (g/g), în funcție
de forma farmaceutică de condiționare.

5 Astfel, invenția se referă la o compoziție farmaceutică vasculoprotectoare, care este
constituită din acid oleanolic și esculină, ambele evaluate prin HPLC cu puritate de minimum
7 98%, asociate în raport de 1:0,1...1:0,3 părți în greutate.

Într-un aspect preferat, invenția se referă la o compoziție farmaceutică, definită mai
9 sus, care conține 90...100 părți acid oleanolic și 10...20 părți esculină condiționată sub formă
de capsule operculate tari.

11 Într-un alt aspect preferat, invenția se referă la o compoziție farmaceutică, definită
mai sus, care conține 1 parte acid oleanolic și 0,2 părți esculină, condiționată ca soluție
13 injectabilă.

Într-un alt aspect preferat, invenția se referă la o compoziție farmaceutică, definită
15 mai sus, care conține 1 parte acid oleanolic și 0,3 părți esculină, condiționată ca soluție de
uz intern.

17 Într-un alt aspect preferat, invenția se referă la o compoziție farmaceutică, definită
mai sus, care conține 1 parte acid oleanolic și 0,3 părți esculină, g/ml, condiționată ca soluție
19 de uz extern.

Într-un alt aspect preferat, invenția se referă la o compoziție farmaceutică, definită
21 mai sus, care conține 1 parte acid oleanolic și 0,2 părți esculină, condiționată ca soluție de
uz oftalmic.

23 Într-un alt aspect preferat, invenția se referă la o compoziție farmaceutică, definită
mai sus, care conține 1 parte acid oleanolic și 0,3 părți esculină, condiționată sub formă de
25 cremă sau de unguent.

Într-un alt aspect preferat, invenția se referă la o compoziție farmaceutică, definită
27 mai sus, care conține 1 parte acid oleanolic și 0,3 părți esculină, condiționată sub formă de
supozitoare.

29 Într-un alt aspect, invenția se referă la o compoziție farmaceutică, definită mai sus,
pentru redresarea metabolismului proteic și regenerarea colagenului vascular și tisular din
31 vasele lezate structural, redresarea funcționalității vaselor, scăderea permeabilității capilare
și creșterii rezistenței vasculare și ameliorarea complicațiilor inflamatorii, asociate tulburărilor
33 circulatorii din insuficiența venolimfatică.

Într-un alt aspect, invenția se referă la o compoziție farmaceutică, definită mai sus,
35 pentru tratamentul tulburărilor circulatorii periferice, arteriale și venoase, de natură atero-
sclerotică și/sau diabetică, asociate cu leziuni trofice, arteriopatiei cronice obliterante, insufi-
37 cienței venoase cronice cu leziuni trofice, maladei vericoase, trombozei, tromboflebitei, și
sindromul posttrombotic.

39 Într-un alt aspect, invenția se referă la o compoziție farmaceutică, definită mai sus,
pentru tratamentul tulburărilor circulatorii periferice, arteriale și venoase, arteriopatiei cronice
41 obliterante, sindromului posttrombotic, afecțiunilor de revascularizare postaccidente cere-
brale vasculare sau postinfarct, precum și tratamentul postchirurgical venos.

43 Într-un alt aspect, invenția se referă la o compoziție farmaceutică, definită mai sus,
pentru protejarea arterelor, venelor și capilarelor de degradare, prin reglarea tonicității, elas-
45 ticității și troficității acestora, îmbunătățirea circulației sanguine periferice a organismului,
tulburărilor circulatorii la nivel ocular, hemoragiilor retiniene datorate aterosclerozei, hiper-
47 tensiunii și diabetului.

Într-un alt aspect, invenția se referă la o compoziție farmaceutică, definită mai sus, pentru tratamentul afecțiunilor circulatorii însoțite de fragilitate capilară, flebitelor, tromboflebitelor, stărilor postflebitice, manifestărilor circulatorii la nivelul membrelor inferioare, datorate insuficienței venolimfatice, edemelor și hematoamelor posttraumatice sau postoperatorii.	1 3 5
Într-un alt aspect, invenția se referă la o compoziție farmaceutică, definită mai sus, pentru tratamentul tulburărilor circulatorii la nivel ocular, hemoragiilor retiniene datorate aterosclerozei, diabetului, hipertensiunii, alterării arteriosclerotice ale fundului de ochi.	7
Într-un alt aspect, invenția se referă la o compoziție farmaceutică, definită mai sus, pentru tratamentul durerii și edemelor membrelor inferioare, cauzate de boli cronice ale venelor sau de origine traumatică, flebitelor, tromboflebitelor, stărilor postflebitice, dermitelor varicoase, tulburărilor trofice în sindromul posttrombotic, hematoamelor posttraumatice sau postoperatorii, limfedemului consecutiv tratamentului radiochirurgical al sânului.	9 11 13
Într-un alt aspect, invenția se referă la o compoziție farmaceutică, definită mai sus, pentru tratamentul local al hemoroizilor, tromboflebitei hemoroidale, inflamației rectale și a fisurilor anale.	15
Efectele vasculoprotectoare ale acestei compoziții medicamentoase sunt date de următoarele efecte farmacologice:	17
1. activitatea trofică vasculară, exercitată prin efecte de redresare a metabolismului proteic și de regenerare a colagenului vascular și tisular din vasele lezate structural, ca urmare a unor procese de ateroscleroză, insuficiență circulatorie sau diferite traumatisme postoperatorii, postarsuri etc;	19 21
2. activitatea tonifiantă vasculară, tip vitamina P, care contribuie la redresarea funcționalității vaselor, prin efecte de scădere a permeabilității capilare și de creștere a rezistenței vasculare;	23 25
3. activitatea antiinflamatoare-antiedematoasă, exercitată atât asupra fazelor inițiale, predominant vasculare ale procesului inflamator, cât, mai ales, asupra complicațiilor inflamatorii, asociate tulburărilor circulatorii din insuficiența venolimfatică.	27
Acidul oleanolic și esculina în stare pură, utilizate la realizarea compoziției medicamentoase, conform invenției, au fost obținute prin procedeele tehnologice ce fac obiectul cererilor de brevet de invenție RO 2006-00292/04.05.2006 și RO 2006-00986/15.12.2006 , în care, pentru obținerea ambelor substanțe, se utilizează apele structurate [RO 109835/1996 -1 , Mânzatu și colaboratorii, US 5846397/1999 -1 , Mânzatu și colaboratorii, EP 0777631/1999 -1 , Mânzatu și colaboratorii, CN/ZL 9519147224/2003 -1 , Mânzatu și colaboratorii] în componența solvenților de extracție și purificare.	29 31 33 35
Studiile farmacologice preclinice experimentale <i>in vivo</i> , efectuate asupra compoziției medicamentoase, obținută conform invenției, au demonstrat că aceasta prezintă o activitate farmacologică complexă și diversificată ca mecanisme de acțiune, superioară activității fiecărei componente separate, datorită unor efecte de combinație sinergice, de potențare reciprocă a celor 2 componente bioactive, a căror asociere conduce la manifestarea unui efect farmacologic calitativ nou, nemenționat în datele din stadiul tehnicii (efectul trofic vascular și tisular), ceea ce demonstrează atât noutatea, cât și activitatea inventivă a invenției.	37 39 41
Avantajele invenției în raport cu stadiul tehnicii sunt următoarele:	43
- obținerea unei compoziții medicamentoase aplicabile în terapia preventivă și curativă a tulburărilor circulatorii, cu activitate farmacologică superioară celor utilizate la ora actuală în acest domeniu terapeutic, prin faptul că exercită concomitent, atât efecte trofice vasculare, cât și tonifiante vasculare, precum și antiinflamatoare, ceea ce extinde și diversifică domeniile de aplicabilitate clinică ale produselor condiționate, de uz intern și extern, pe baza acestei compoziții;	45 47 49

- realizarea unei compoziții medicamentoase riguros standardizate analitic și cantitativ, prin asocierea în rapoarte cantitative exacte și constante a 2 substanțe naturale vegetale de înaltă puritate (minimum 98% prin HPLC), ceea ce exclude orice fel de variabilitate a compoziției fizico-chimice, precum se poate constata la majoritatea compozițiilor pe bază de extracte din plante, incomplet caracterizate analitic și standardizate într-o singură componentă, cu o largă variabilitate procentuală a conținutului extractului respectiv;

- compoziția medicamentoasă, obținută conform invenției, asigură o eficacitate terapeutică marcată și constantă, deoarece înalta puritate a celor 2 substanțe componente determină ca dozele administrate să asigure reproductibilitatea constantă a efectelor farmacologice;

- spre deosebire de compozițiile medicamentoase pe bază de extracte din plante, care nu se pot administra pe cale parenterală, din cauza insuficienței purificării a extractelor, compoziția medicamentoasă, conform invenției, poate fi condiționată și administrată sub formă de soluție injectabilă, deoarece puritatea avansată a substanțelor componente asigură respectarea condițiilor riguroase de preparare, prevăzute de Regulile de bună practică de fabricație, în cazul soluțiilor de uz parenteral;

- studiile farmacotoxicologice preclinice, efectuate asupra compoziției medicamentoase, conform invenției, au evidențiat că aceasta prezintă o bună inocuitate, fără manifestarea unor efecte adverse, caracteristice substanțelor de sinteză sau extractelor vegetale insuficient purificate.

În continuare, sunt descrise exemplele de realizare a invenției, care se referă la modul de preparare a produselor medicamentoase, condiționate pe baza compoziției conform invenției și la testele farmacologice preclinice, efectuate în vederea evidențierii activității trofice și tonifiante vasculare, precum și evaluării aplicațiilor terapeutice.

Domeniul terapeutic major de aplicare clinică a acestor produse medicamentoase este dat de multitudinea disfuncțiilor vasculare și a complicațiilor inflamatorii ale acestora precum:

- tulburări circulatorii periferice, arteriale și venoase, de natură aterosclerotică și/sau diabetică;

- tulburări ale circulației cerebrale;

- tulburări de irigație sanguină coronariană, profilaxia infarctului de miocard și terapia postinfarct;

- tulburări circulatorii la nivel ocular.

Produsele medicamentoase din prezenta invenție se pot administra în terapia vasculară pe cale injectabilă, orală sau locală, în funcție de specificul și evoluția maladiei respective, urmărindu-se redresarea funcțională de ansamblu a întregului sistem vascular, prin utilizarea concomitentă a unor produse de uz intern și extern.

Exemplele de formule farmaceutice, prezentate în continuare, nu exclud posibilitatea realizării altor formule de condiționare, pe baza compoziției medicamentoase, conform invenției, având în vedere diversitatea și multitudinea excipienților cunoscuți și utilizați astăzi în industria farmaceutică.

Exemplul de realizare 1. *Produs medicamentos - Capsule*, conținând 100 mg acid oleanolic + 10 mg esculină/capsulă.

Formula de condiționare/capsulă:

- acid oleanolic - minimum 98% 100 mg;

- esculină - minimum 98% 10 mg;

- lactoză monohidrat 150 mg;

- glicolat sodic de amidon 9,0 mg;

RO 123164 B1

- polivinil pirolidona K ₃₀	6,5 mg;	1
- laurilsulfat de sodiu	2,0 mg;	
- aerosil	1,47 mg;	3
- talc	7,25 mg;	
- stearat de magneziu	2,90 mg.	5
<i>Modul de preparare</i>		
Acidul oleanolic se sitează cu excipienții: lactoză monohidrat și aerosil, pe o sită cu dimensiunea II; peste amestecul rezultat, se adaugă o soluție obținută prin dizolvarea esculinei și polivinilpirolidonei K30 în alcool etilic și se omogenizează, rezultând granule care se usucă la temperatura de 35...45°C, se mărunțesc la dimensiunea conferită de sita V, se amestecă cu glicolatul sodic de amidon, laurilsulfatul de sodiu, talcul, stearatul de magneziu și se omogenizează. Pulberea astfel obținută se încapsulează în capsule de mărimea 1, care se ambalează ferit de lumină.		7 9 11 13
Indicații terapeutice: tulburări circulatorii periferice, arteriale și venoase, de natură aterosclerotică și/sau diabetică, asociate cu leziuni trofice: arteriopatie cronică obliterantă, insuficiență venoasă cronică cu leziuni trofice, maladia varicoasă, tromboze, tromboflebite, sindromul posttrombotic.		15 17
Exemplul de realizare 2. Produs medicamentos - Soluție injectabilă , conținând 1% acid oleanolic + 0,2% esculină (g/ml).		19
Formula de condiționare:		
- acid oleanolic - minimum 98%	10 g;	21
- esculină - minimum 98%	2 g;	
- alcool benzilic	100 ml;	23
- soluție apoasă tampon fosfat Ph=7,4	200 ml;	
- propilenglicol	ad.1000 ml.	25
<i>Modul de preparare</i>		
Acidul oleanolic și esculina se dizolvă prin încălzire la 60...70°C, sub agitare, în amestecul format din cantitățile prevăzute de alcool benzilic și propilenglicol, se adaugă, sub agitare, soluția apoasă de tampon fosfat cu pH = 7,4, iar soluția limpede rezultată se filtrează aseptice și se condiționează în fiole din sticlă brună de 1...2 ml, care conțin 10...20 mg acid oleanolic și 2...4 mg esculină/fiolă.		27 29 31
Indicații terapeutice: tulburări circulatorii periferice, arteriale și venoase: arteriopatia cronică obliterantă, sindromul posttrombotic, terapia problemelor de revascularizare postaccidente cerebrale vasculare sau postinfarct, precum și tratamentul postchirurgical venos.		33 35
Exemplul de realizare 3. Produs medicamentos - Soluție pentru uz intern , conținând 1% acid oleanolic + 0,3% esculină (g/ml).		37
Formula de condiționare:		
- acid oleanolic - minimum 98%	10 g;	39
- esculină - minimum 98%	3 g;	
- p-hidroxibenzoat de metil	1 g;	41
- p-hidroxibenzoat de propil	2 g;	
- alcool etilic 95°	300 ml;	43
- glicerină	300 ml;	
- apă purificată	ad.1000 ml.	45
<i>Modul de preparare</i>		
Acidul oleanolic și esculina se dizolvă prin încălzire la 60...70°C, sub agitare, în cantitățile prevăzute de alcool etilic, glicerină și apă purificată; în soluția obținută, se adaugă cei 2 conservanți, se filtrează și se condiționează în flacoane din sticlă brună de 50 ml, prevăzute cu dispozitiv de picurare. Produsul conține 10 mg acid oleanolic și 3 mg esculină/ml soluție.		47 49 51

Indicații terapeutice: protejarea arterelor, venelor și capilarelor de degradare, prin reglarea tonicității, elasticității și troficității lor, îmbunătățirea circulației sanguine, mai ales în zonele periferice ale organismului, tulburări circulatorii la nivel ocular: hemoragii retiniene datorate aterosclerozei, hipertensiunii și diabetului.

Exemplul de realizare 4. *Produs medicamentos - Soluție pentru uz extern*, conținând 1% acid oleanolic + 0,3% esculină (g/ml).

Formula de condiționare:

- acid oleanolic - minimum 98% 10 g;
- alcool etilic 95° 400 ml;
- esculină - minimum 98% 3 g;
- propilenglicol 400 ml;
- ulei volatil de lavandă 10 ml;
- apă purificată ad. 1.000 ml.

Modul de preparare

Acidul oleanolic și esculina se dizolvă prin încălzire la 60...70°C, sub agitare, în amestecul format din cantitățile prevăzute de alcool etilic, propilenglicol și apă purificată; în soluția obținută, se adaugă, sub agitare, uleiul volatil de lavandă, soluția limpede rezultată se filtrează și se condiționează în flacoane din sticlă brună, cu pulverizator de 100 ml sau în flacoane presurizate cu freon. Produsul conține 10 mg acid oleanolic și 3 mg esculină/ml soluție.

Indicații terapeutice: afecțiuni circulatorii însoțite de fragilitate capilară, flebite, tromboflebite, stări postflebitice; manifestări circulatorii la nivelul membrelor inferioare din insuficiența venolimfatică; edeme și hematoame posttraumatice sau postoperatorii.

Exemplul de realizare 5. *Produs medicamentos - Soluție pentru uz oftalmic*, conținând 1% acid oleanolic + 0,2% esculină (g/ml)

Formula de condiționare:

- acid oleanolic - minimum 98% 10 g;
- esculină - minimum 98% 2 g;
- clorură de benзалconiu 0,1 g;
- ulei de ricin rafinat ad. 1.000 ml.

Modul de preparare

Acidul oleanolic, esculina și clorura de benзалconiu se dizolvă aseptice în uleiul de ricin rafinat și sterilizat, prin încălzire la 60...70°C, rezultând o soluție limpede, care se filtrează aseptice și se condiționează în flacoane din sticlă brună de 10 ml, cu dispozitiv de picurare. Produsul conține 10 mg acid oleanolic și 2 mg esculină/ml soluție.

Indicații terapeutice: tulburări circulatorii la nivel ocular: hemoragii retiniene datorate aterosclerozei, diabetului, hipertensiunii, alterări arteriosclerotice ale fundului de ochi.

Exemplul de realizare 6. *Produs medicamentos - Cremă*, conținând 1% acid oleanolic + 0,3% esculină (g/g).

Formula de condiționare:

- acid oleanolic - minimum 98% 10 g;
- esculină - minimum 98% 3 g;
- alcool cetilic 200 g;
- vaselină albă 200 g;
- glicerină 120 g;
- Tween 80 70 g;
- p-hidroxibenzoat de metil 1 g;
- p-hidroxibenzoat de propil 2 g;
- apă purificată ad. 1000 g.

<i>Modul de preparare</i>	1
Acidul oleanolic și esculina se dizolvă prin încălzire la 60...70°C, sub agitare, în cantitatea prevăzută de glicerină, iar soluția rezultată se încorporează după răcire în masa de unguent, obținută prin topirea la 60°C a alcoolului cetilic și a vaselinei, urmat de emulsionare, prin adăugarea a 70 g Tween 80 și a minimum 400 g apă purificată în care s-au dizolvat în prealabil conservanții prevăzuți în formulă.	3
Masa de unguent se agită pentru emulsionare și omogenizare, după care se ambalează în tuburi a 40...50 g.	5
Produsul se prezintă sub formă de cremă onctuoasă, omogenă, albă, cu aspect sidefat, având o absorbție dermică rapidă.	7
Indicații terapeutice: dureri și edeme ale membrelor inferioare, cauzate de boli cronice ale venelor sau de origine traumatică, flebite, tromboflebite, stări postflebitice, dermite varicoase, tulburări trofice în sindromul posttrombotic, hematoame posttraumatice sau post-operatorii, limfedem consecutiv tratamentului radiochirurgical al sânului.	9
Exemplul de realizare 7. <i>Produs medicamentos - Unguent</i>, conținând 1% acid oleanolic + 0,3% esculină (g/g).	11
Formula de condiționare:	13
- acid oleanolic - minimum 98%	10 g;
- esculină - minimum 98%	3 g;
- propilenglicol	100 g;
- clorură de benзалconiu	0,1 g;
- polietilenglicol 4000	300 g;
- polietilenglicol 400	ad.1000 g.
<i>Modul de preparare</i>	23
Acidul oleanolic, esculina și clorura de benзалconiu se dizolvă prin încălzire la 60...70°C, sub agitare, în cantitatea prevăzută de propilenglicol, iar soluția obținută se încorporează, după răcire, în masa de unguent rezultată prin topirea la 65...70°C a amestecului de 300 g polietilenglicol 4000 cu 587 g polietilenglicol 400. Se amestecă prin agitare lentă, rezultând o masă de unguent onctuoasă, omogenă, albă, cu aspect sidefat, care se ambalează în tuburi a 40...50 g.	25
Indicații terapeutice: dureri și edeme ale membrelor inferioare, cauzate de boli cronice ale venelor sau de origine traumatică, flebite, tromboflebite, stări postflebitice, dermite varicoase, tulburări trofice în sindromul posttrombotic, hematoame posttraumatice sau post-operatorii, limfedem consecutiv tratamentului radiochirurgical al sânului.	27
Exemplul de realizare 8. <i>Produs medicamentos - Supozitoare</i>, conținând 1% acid oleanolic + 0,3% esculină (g/g).	29
Formula de condiționare:	31
- acid oleanolic - minimum 98%	10 g;
- esculină - minimum 98%	3 g;
- polietilenglicol 400	100 g;
- <i>p</i> -hidroxibenzoat de metil	1 g;
- <i>p</i> -hidroxibenzoat de propil	2 g;
- Suppocire (amestec trigliceride de semisinteză)	ad.1000 g.
<i>Modul de preparare</i>	43
Acidul oleanolic și esculina se dizolvă prin încălzire la 60...70°C, sub agitare, în cantitatea prevăzută de polietilenglicol 400, iar soluția obținută, răcită la 40°C, se adaugă peste masa de Suppocire, care a fost încălzită, în prealabil, la 40°C. Se adaugă amestecul de conservanți, se omogenizează și se condiționează ca supozitoare a câte 2 g fiecare. Produsul conține 20 mg acid oleanolic + 6 mg esculină/supozitor.	45

Indicații terapeutice: tratamentul local în: hemoroizi, tromboflebită hemoroidală, inflamații rectale și fisuri anale.

Teste farmacologice preclinice in vivo

I. Activitatea tonifiantă vasculară

Este cunoscut că în orice sistem circulator închis, schimburile se produc în exclusivitate prin rețeaua de capilare, care pătrunde în toate țesuturile vii ale organismelor, exercitând 2 proprietăți fiziologice importante:

- permeabilitatea - proprietatea de a fi traversate de apă și substanțele solvite;
- rezistența - scăderea acesteia determinând fragilitatea vasculară.

În condiții patologice, se pot manifesta atât creșterea permeabilității capilarelor, cu formarea de edeme, cât și scăderea rezistenței acestora, care poate conduce la hemoragii spontane.

Evaluările statistice medicale arată că la majoritatea maladiilor circulatorii, ambele tipuri de tulburări ale funcționalității microvasculaturii se întâlnesc concomitent.

1. Activitatea de reducere a permeabilității capilare

Scopul experimentului a fost de a se evidenția efectul compoziției medicamentoase, conform invenției, de scădere a permeabilității capilarelor, crescută patologic, când se produc extravazări ale proteinelor plasmatică, cu formarea consecutivă de edeme.

Material și metodă

S-a aplicat modelul experimental descris de K. Shimomura și T. Fukushima în *J. Pharm. Pharmacol.*, 1972, 24, 10, 837, având, ca principiu, dozarea cantității de colorant extravazat, datorită unei modificări de permeabilitate vasculară, realizată prin determinarea efectului de împiedicare a difuziunii colorantului albastru Evans în papula dermică produsă de histamină.

Modul de lucru

Testarea s-a efectuat pe șobolani Wistar masculi, în greutate de 150 ± 10 g, epliați în regiunea dorsolombară, cu 24 h înaintea testării și repartizați în 4 loturi omogene, a câte 10 animale/lot, după cum urmează:

Lotul 1 - martor, injectat i.p. cu soluție apoasă NaCl 9‰;

Lotul 2 - substanță de referință Troxerutin, administrată intraperitoneal (i.p.) în soluție apoasă 2%, în doza de 200 mg/kg corp;

Lotul 3 - Soluție injectabilă - Exemplul de realizare 1 - conținând 1% acid oleanolic și 0,2% esculină, administrată intraperitoneal (i.p.) în doză de 1 ml probă/100 g animal, respectiv, 100 mg acid oleanolic și 20 mg esculină/kg corp;

Lotul 4 - Soluție uz extern - Exemplul de realizare 4 - conținând 1% acid oleanolic și 0,3% esculină, aplicată epicutan.

Administrarea probelor test (loturile 2, 3 și 4) s-a efectuat cu o oră înainte de administrarea histaminei.

La toate loturile (martor + test), s-a administrat intradermic, fiecărui animal, câte 0,1 ml soluție histamină clorhidrică 30 μ g/ml în ser fiziologic, după care, imediat, s-a injectat intravenos 1 ml soluție de colorant albastru Evans 1% în ser fiziologic, iar după 30 min, animalele au fost sacrificate. După sacrificare, s-a prelevat zona colorată de piele, cuprinzând papula histaminică, care a fost divizată în probe de 250 mg, peste care s-au adăugat câte 3 ml soluție de acid lactic 28%; probele s-au încălzit la fierbere, timp de 5 min, după care s-au adăugat câte 3 ml HCl 1N și s-au fiert din nou, timp de 5 min, până la obținerea unei colorații albastre de diverse intensități, în funcție de cantitatea de colorant albastru Evans reținută în papula dermică de histamină clorhidrică.

Probele răcite la 20°C s-au extras prin agitare cu câte 5 ml CCl₄, iar amestecul celor 2 faze nemiscibile s-a centrifugat la 3.000 rot/min, în vederea separării fazelor. Peste faza apoasă separată, s-au adăugat 5 ml acetonă, amestecul rezultat după agitare s-a centrifugat la 3.000 rot/min, iar soluția limpede colorată în albastru s-a evaluat cantitativ prin spectrometrie de absorbție moleculară în VIS, măsurându-se absorbția la 615 nm. Rezultatele obținute s-au calculat după curba etalon, concentrația stabilită fiind raportată la 100 mg piele.

Valoarea medie a concentrațiilor obținute la loturile 3 și 4, tratate cu cele 2 produse medicamentoase, conform invenției, indică efectul acestora de scădere a permeabilității vasculare, crescute prin administrarea histaminei, calculat în raport cu valoarea lotului martor, considerată 100%.

Datele experimentale obținute sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1

Activitatea de reducere a permeabilității capilare a compoziției medicamentoase, conform invenției, comparativ cu produsul Troxerutin. Semnificația diferenței mediilor prin testul „t” Student la p<0,05

Nr. lot	Produsul testat	Mod de administrare	Conținut substanțe bioactive%	Concentrația de colorant μg/100 mg piele media/lot ± ES	Efect de scădere a permeabilității capilare%
1.	Martor	i.p.	-	10,50 ± 0,83	-
2.	Troxerutin soluție	i.p.	2%	2,92 ± 1,12	71,4
3.	Soluție injectabilă, exemplul 1	i.p.	1% acid oleanolic 0,2% esculină	4,57 ± 0,76	56,7
4.	Soluție uz extern, exemplul 4	epicutan	1% acid oleanolic 0,3% esculină	5,06 ± 1,32	52,3

Din tabel, rezultă următoarele:

- compoziția medicamentoasă, conform invenției, condiționată ca soluție injectabilă conținând 1% acid oleanolic și 0,2% esculină, prezintă un efect semnificativ statistic de reducere a permeabilității capilare, comparativ cu produsul de referință Troxerutin, condiționat ca soluție 2% și administrat în aceleași condiții experimentale (intraperitoneal);

- compoziția medicamentoasă, conform invenției, condiționată sub formă de soluție pentru uz extern, conținând 1% acid oleanolic și 0,3% esculină, administrată în tratament local (epicutan) prezintă de asemenea un efect semnificativ de scădere a permeabilității capilare, care asigură eficacitatea terapeutică a produsului, avându-se în vedere administrările repetate caracteristice terapiei locale.

2. Activitatea antiinflamatoare - antiedematoasă

Experimentul a avut drept obiectiv studierea și evidențierea acțiunii compoziției medicamentoase, conform invenției, asupra fazelor inițiale, predominant vasculare, ale procesului inflamator.

Material și metodă

S-a aplicat metoda inducerii inflamației labei de șobolan prin injectarea, în pliul interdigital cutanat, a unei soluții apoase de carageenină 1%, după tehnica descrisă de M. Simionovici și colaboratorii în *Cercetare farmacologică și prospectarea medicamentelor*, Editura Medicală, 1983, București, administrarea probelor de testat efectuându-se cu 30 min înaintea injectării carageeninei prin aplicare epicutană.

Modul de lucru

Testarea s-a efectuat pe șobolani Wistar masculi, în greutate de 150 ± 10 g, repartizați în 5 loturi omogene, a câte 10 animale/lot, după cum urmează:

Lotul 1 - martor, injectat în doza de 0,1 ml/100 g animal cu soluție carageenină 1% în apă distilată;

Lotul 2 - 0,1 ml soluție apoasă de carageenină 1% + soluție Indometacină 2%, aplicată epicutan;

Lotul 3 - 0,1 ml soluție apoasă de carageenină 1% + Indometacină - unguent 4%, aplicat epicutan;

Lotul 4 - 0,1 ml soluție apoasă de carageenină 1% + produsul - „Soluție pentru uz extern”, conform Exemplului de realizare 4, conținând 1% acid oleanolic și 0,3% esculină, aplicată epicutan;

Lotul 5 - 0,1 ml soluție apoasă de carageenină 1% + produsul - „Unguent”, conform Exemplului de realizare 7, conținând 1% acid oleanolic și 0,3% esculină, aplicat epicutan.

S-a urmărit acțiunea de împiedicare a formării edemului inflamator al labei drepte posterioare a șobolanilor studiați, edemul fiind generat prin eliberarea de histamină, 5-hidroxitriptamină și kinine plasmatice, sub influența carageeninei.

Determinările pletismometrice s-au înregistrat inițial și la 1; 2; 3; 24; 48 h de la injectarea agentului proinflamator.

Calculul rezultatelor s-a efectuat după formula lui Newbould:

$$100 \times 1 - \left(\frac{a-x}{b-y} \right)$$

în care:

a = media volumului final al labei la loturile de șobolani tratați;

b = idem, la lotul de șobolani netratați;

x = media volumului inițial al labei la loturile de șobolani tratați;

y = idem, la lotul de șobolani netratați.

Datele experimentale obținute sunt prezentate în tabelul 2.

Tabelul 2

Activitatea antiinflamatoare - antiedematoasă a compoziției medicamentoase, conform invenției, comparativ cu produsul Indometacină. Semnificația diferenței mediilor prin testul „t” Student la $p < 0,05$

Nr. lot	Produsul testat	Conținut substanțe bioactive%	Efect antiinflamator%				
			1 h	2 h	3 h	24 h	48 h
2.	Indometacină - soluție pentru uz extern	1%	26,1	48,4	60,2	14,4	4,8
3.	Indometacină - unguent	4%	22,5	44,3	56,5	12,6	3,2
4.	Soluție pentru uz extern, exemplul 4	1% acid oleanolic 0,3% esculină	25,2	45,6	57,1	29,3	16,4
5.	Unguent, exemplul 7	1% acid oleanolic 0,3% esculină	20,8	41,2	52,3	26,8	14,1

Din tabel, rezultă următoarele:

- compoziția medicamentoasă, conform invenției, condiționată ca soluție pentru uz extern și ca unguent prezintă o activitate antiinflamatoare - antiedematoasă cu valori similare Indometacinei, în primele 3 h de la injectarea carageeninei;

- în schimb, după 24...48 h, efectul antiinflamator al compoziției medicamentoase, conform invenției, este prelungit semnificativ, prezentând valori cu 100% mai mari la 24 h și cu 300...400% mai mari la 48 h, față de cele înregistrate în cazul Indometacinei.

Aceste rezultate asigură eficacitatea terapeutică a compoziției medicamentoase, conform invenției, în terapia locală a diferitelor manifestări inflamatorii, asociate tulburărilor circulatorii din insuficiența venolimfatică sau cele posttraumatice și postoperatorii.

Activitatea antiedematoasă-antiinflamatoare semnificativă a compoziției medicamentatoase, conform invenției, potențează acțiunea farmacologică principală, de tip capilaroflebotonic, contribuind la diversificarea aplicabilității terapeutice.

3. Activitatea de creștere a rezistenței vasculare (scăderea fragilității vasculare)

Fragilitatea vasculară este mult crescută în anumite condiții patologice, dintre care frecvent întâlnit este scorbutul (carența de vitamină C și P). De aceea, se consideră că activitatea de creștere a rezistenței capilare se suprapune cu acțiunea de tip vitamină P, exercitată prin întărirea peretelui vascular. Acest fapt conferă în mod implicit substanțelor dotate cu această activitate și rolul de a acționa ca tonice venoase, acestea fiind utilizate și pentru favorizarea întoarcerii venoase, perturbată în numeroasele cazuri clinice de insuficiență venoasă.

Material și metodă

Testarea influenței compoziției medicamentoase, conform invenției, asupra fragilității capilare și venoase s-a făcut cu ajutorul modelului experimental descris de Collot în *Pharmacologie generale*, 1972, 61, Editura Masson, Paris, utilizând șobolani Wistar supuși anterior unui regim scorbutigen, carentat în vitamină P, deoarece șobolanii nu sunt dependenți de vitamina C exogenă.

Modul de lucru

Pentru testarea activității de creștere a rezistenței vasculare, s-au utilizat șobolani Wistar masculi, în greutate de 150 ± 10 g, repartizați în 5 loturi omogene, a câte 10 animale/lot, și anume:

Lotul 1 - martor;

Lotul 2 - Produs medicamentos de referință: Troxerutin - gel 2%;

Lotul 3 - Produs medicamentos „Cremă”, Exemplul de realizare 6, conținând 1% acid oleanolic și 0,3% esculină;

Lotul 4 - Produs medicamentos „Unguent”, Exemplul de realizare 7, conținând 1% acid oleanolic și 0,3% esculină;

Lotul 5 - Produs medicamentos „Soluție pentru uz extern”, Exemplul de realizare 4, conținând 1% acid oleanolic și 0,3% esculină.

Aplicarea epicutană a produselor pe zona dorsolombară epilată s-a efectuat timp de 7 zile, începând din a 14-a zi de regim scorbutigen, a cărui durată a fost de 21 zile.

Dispozitivul folosit pentru măsurarea rezistenței capilare a constat dintr-o pompă aspiratoare, un vas tampon prevăzut cu manometru și o ventuză de metal cu diametrul de 10 mm (dispozitiv de sucțiune).

Fiecărui animal testat i s-a aplicat, pe zona epilată, ventuza dispozitivului de sucțiune la o diferență negativă de presiune față de mediul extern de 0,8 bari, timp de 30 s. După ridicarea ventuzei, s-au numărat peteșiiile apărute datorită rezistenței capilare scăzute, caz în care se produc extravazări de elemente figurate sanguine (hematii, trombocite), cu formarea consecutivă a peteșiiilor.

Fiecărui animal i s-au făcut câte două aplicații ale dispozitivului de sucțiune pe zone neadiacente, făcându-se media numărului de peteșii. Pentru fiecare lot, format din 10 animale, s-a calculat valoarea medie a numărului de peteșii.

$$\text{Efectul protector \%} = 100 \times \frac{a}{b}$$

în care:

a = număr mediu de peteșii/zona lot tratat;

b = număr mediu de peteșii/zona lot martor.

Datele experimentale obținute în scopul evidențierii activității compoziției medicamentatoase, conform invenției, de a conferi rezistență capilarelor și venelor fragilizate sunt prezentate în tabelul 3.

Tabelul 3

Activitatea de creștere a rezistenței vasculare (scăderea fragilității vasculare) a compoziției medicamentatoase, conform invenției, comparativ cu produsul Troxerutin.

Semnificația diferenței mediilor prin testul „t” Student la $p < 0,05$

Nr. lot	Produsul testat	Conținut substanțe bioactive%	Număr de peteșii media/lot $\pm$ ES	Efect de scădere % a fragilității vasculare
1.	Martor	-	22,4 $\pm$ 3,30	-
2.	Troxerutin - gel	2 g	13,2 $\pm$ 0,93	41,30
3.	Produs - cremă, exemplul 6	1 g acid oleanolic 0,3 g esculină	14,1 $\pm$ 1,02	38,42
4.	Produs - unguent, exemplul 7	1 g acid oleanolic 0,3 g esculină	14,6 $\pm$ 1,11	35,81
5.	Soluție pentru uz extern, exemplul 4	1 g acid oleanolic 0,3 g esculină	15,3 $\pm$ 1,01	32,76

Din tabel, rezultă următoarele:

- compoziția medicamentoasă, conform invenției, condiționată ca cremă, unguent, soluție pentru uz extern, prezintă un efect semnificativ statistic, de creștere a rezistenței vasculare (scăderea fragilității vasculare), comparativ cu produsul Troxerutin - gel 2%, testat ca medicament de referință și administrat în aceleași condiții experimentale (epicutan);

- aceste rezultate sunt în concordanță cu cele obținute în cadrul testului de influențare a permeabilității capilare (prezentate în tabelul 1), demonstrând activitatea tonifiantă vasculară a compoziției medicamentatoase, conform invenției.

II. Activitatea trofică vasculară

Toate maladiile vasculare, atât cele care afectează organele vitale (creierul, cordul, rinichii), cât și extremitățile, se caracterizează prin leziuni vasculare endoteliale, care conduc la ateroscleroză vasculară sau la afecțiuni vasculare periferice: arteriale, venoase și limfatice.

Prin studii farmacologice ultrastructurale, s-a evidențiat că leziunile vasculare endoteliale produc alterarea funcționalității celulelor endoteliale sau chiar dispariția endoteliului, cu afectarea directă a collagenului vascular, scăderea elasticității și troficității vasculare (Al X-lea Congres Național de Farmacie, 1994, Cluj-Napoca, N. Șildan).

În toate leziunile trofice ale țesutului conjunctiv, asociate cu tulburări de circulație sangvină în cadrul aterosclerozei sau de origine diabetică și manifestate ca maladii ocluzive arteriale periferice, insuficiențe venoase cu leziuni trofice, se produc o serie de modificări globale ale tuturor componentelor țesutului conjunctiv, în special: solubilizarea matricei glicoproteice, alterarea fibrelor de collagen, reticulină și elastină, precum și exacerbarea catabolismului proteic.

În terapia actuală, nu se cunoaște niciun fel de medicație generală sau locală cu efect protector anticatabolizant proteic pe structurile conjunctive.

Din aceste considerente, s-a investigat activitatea anticatabolizantă a compoziției medicamentoase, conform invenției, asupra biosintezei proteinelor și a colagenului la șobolani Wistar, tineri și bătrâni, în administrare internă și externă.

1. Activitatea protectoare anticatabolizantă a compoziției medicamentoase, conform invenției, în administrare internă, asupra biosintezei proteinelor și a colagenului

Material și metodă

Experimentul a urmărit evidențierea acțiunii compoziției medicamentoase, conform invenției, administrată intraperitoneal, asupra biosintezei proteinelor și a colagenului la șobolani Wistar, tineri și bătrâni, supuși stresului chimic acut, indus prin administrarea subcutană a unei soluții 20% formaldehidă, timp de 3 zile.

Modul de lucru

Testarea s-a efectuat pe șobolani albi Wistar masculi, tineri (120 ± 10 g) și bătrâni (180 ± 10 g), repartizați în 6 loturi omogene, a câte 10 animale/lot, astfel:

Lotul 1 B - martor netratat, șobolani bătrâni;

Lotul 2 B - șobolani bătrâni, cărora li s-a administrat subcutan câte 0,2 ml soluție 20% formaldehidă/100 g m.c, timp de 3 zile;

Lotul 3 B - șobolani bătrâni, cărora li s-a administrat subcutan câte 0,2 ml soluție 20% formaldehidă/100 g m.c, timp de 3 zile, urmată de administrarea intraperitoneală, timp de 5 zile, a câte 1 ml/100 g m.c. din produsul medicamentos „Soluție injectabilă”, exemplul de realizare 1, conținând 1% acid oleanolic și 0,3% esculină;

Lotul 4 T - martor netratat, șobolani tineri;

Lotul 5 T - șobolani tineri, cărora li s-a administrat subcutan câte 0,2 ml soluție 20% formaldehidă/100 g m.c, timp de 3 zile;

Lotul 6 T - șobolani tineri, cărora li s-a administrat subcutan câte 0,2 ml soluție 20% formaldehidă/100 g m.c, timp de 3 zile, urmată de administrarea intraperitoneală, timp de 5 zile, a câte 1 ml/100 g m.c. din produsul medicamentos „Soluție injectabilă”, exemplul de realizare 1, conținând 1% acid oleanolic și 0,3% esculină. După finalizarea experimentării, de la animalele sacrificate s-au recoltat probe de sânge și piele, în vederea evaluării proteinelor totale serice și tisulare, precum și a colagenului solubil în soluție NaCl 0,1M.

Datele experimentale obținute sunt prezentate în tabelul 4.

Tabelul 4

Activitatea protectoare anticatabolizantă a compoziției medicamentoase, conform invenției, în administrare internă, asupra biosintezei proteinelor și a colagenului.

Semnificația statistică a diferenței mediilor prin testul „t” Student la $p < 0,05$

Lotul testat (n=10) B = șobolani bătrâni T = șobolani tineri		Parametri ai biosintezei proteice			
Număr lot	Caracteristici	Proteine totale serice g%	Diferența față de martor %	Colagen solubil în soluția NaCl 0,1 M g%	Diferența față de martor%
1B	Martor netratat	6,42	-	0,820	-
2B	Soluție 20% formaldehidă 0,2 ml/100 g m.c/subcutan - 3 zile	5,37	-16,4*	0,670	-18,3*
3B	Soluție 20% formaldehidă 0,2 ml/100 g m.c./subcutan -3 zile + 1 ml/100 g m.c. din "Soluție injectabilă", exemplul 1/i.p. - 5 zile	6,18	+15,1**	0,802	+12,0**
4T	Martor netratat	6,78	-	0,956	-
5T	Soluție 20% formaldehidă 0,2 ml/100 g m.c./subcutan - 3 zile	5,83	-14,0*	0,831	-13,1*
6T	Soluție 20% formaldehidă 0,2 ml/100 g m.c./subcutan - 3 zile + 1 ml/100 g m.c. din "Soluție injectabilă", exemplul 1/i.p. - 5 zile	6,77	+16,2**	0,952	+14,5**

* = Diferență % calculată prin raportare la martorul netratat (loturile 1B și 4T).

** = Diferență % calculată prin raportare la martorul tratat cu soluție 20% formaldehidă (loturile 2B și 5T).

1 Din tabel, rezultă următoarele:
- la șobolanii bătrâni, tratați cu soluție 20% formaldehidă, proteinele totale serice scad
3 cu 16,4%, iar colagenul solubil cu 18,3%;
- la șobolanii tineri, tratați în aceleași condiții experimentale, scăderea este de 14%
5 pentru proteinele totale și de 13,1% pentru colagenul solubil;
- tratamentul concomitent cu compoziția medicamentoasă, conform invenției, exercită
7 o activitate protectoare anticatabolizantă asupra biosintezei proteinelor și a colagenului,
concretizată prin redresarea parametrilor investigați la valori apropiate (șobolanii bătrâni) sau
9 similare (șobolanii tineri) cu cele înregistrate la martorii netratați.

11 *2. Activitatea protectoare anticatabolizantă a compoziției medicamentoase, conform
invenției, în administrare externă, asupra biosintezei proteinelor și a colagenului*

13 *Material și metodă*

Experimentul a urmărit efectele terapiei locale cu compoziția medicamentoasă,
conform invenției, asupra redresării biosintezei proteinelor și a colagenului tisular și vascular,
15 la șobolani Wistar tineri, cu leziuni dermice induse printr-o agresiune repetată, timp de 3 zile,
cu soluție 3,7% formaldehidă.

17 *Modul de lucru*

Testarea s-a efectuat pe șobolani Wistar masculi, tineri (35...45 zile), repartizați în
19 5 loturi omogene, a câte 10 animale/lot, astfel:

Lotul 1 - martor netratat;

21 Lotul 2 - administrarea unei doze de 0,2 ml soluție 3,7% formaldehidă/100 g m.c.
subcutan, în zona interscapulară, timp de 3 zile consecutiv;

23 Lotul 3 - administrarea unei doze de 0,2 ml soluție 3,7% formaldehidă/100 g m.c.
subcutan, în zona interscapulară, timp de 3 zile consecutiv, urmată de tratament local, odată
25 pe zi, timp de 10 zile, cu 1 ml/animal/zi, produs medicamentos „Soluție pentru uz extern”,
exemplul de realizare 4, conținând 1% acid oleanolic și 0,3% esculină;

27 Lotul 4 - administrarea unei doze de 0,2 ml soluție 3,7% formaldehidă/100 g m.c.
subcutan, în zona interscapulară, timp de 3 zile consecutiv, urmată de tratament local o dată
29 pe zi, timp de 10 zile, cu 1 g/animal /zi, produs medicamentos „Cremă”, exemplul de
realizare 6, conținând 1% acid oleanolic și 0,3% esculină;

31 Lotul 5 - administrarea unei doze de 0,2 ml soluție 3,7% formaldehidă/100 g m.c.
subcutan, în zona interscapulară, timp de 3 zile consecutiv, urmată de tratament local, o dată
33 pe zi, timp de 10 zile, cu 1 g/animal/zi, produs medicamentos Fluocinolon - acetonid 0,025%
- Cremă, utilizat comparativ ca medicament de referință cu largă aplicabilitate terapeutică.

35 După finalizarea perioadei de tratament prevăzute, de la animalele sacrificate s-au
prelevat porțiuni de piele din zona tratată, care au fost prelucrate în vederea efectuării studii-
37 lor histologice ultrastructurale prin microscopie electronică, conform metodelor standardizate
cunoscute.

39 În urma examinării imaginilor ultrastructurale ale probelor de piele de la șobolanii
Wistar aparținând loturilor investigate, s-au obținut următoarele rezultate experimentale
41 histologice:

Lotul 1 - în dermă se găsește mult colagen, dispus în fascicule, ceea ce indică o acti-
43 vitate normală a sintezei proteice. Vasele de sânge au celulele endoteliale bogate în
citoplasmă;

45 Lotul 2 - administrarea formaldehidei induce modificări ultrastructurale profunde la
nivelul dermei, hipodermei și vaselor de sânge. În dermă, fasciculele cu fibre de colagen sunt
47 rare, indicând o diminuare marcată a sintezei proteice, în hipodermă structurile tisulare sunt
în mare parte distruse, cu zone de colagen alterat structural sau lizat. Vasele de sânge sunt
49 distruse masiv, cele rămase au pereții mult subțiați, iar celulele endoteliale conțin o cantitate
redușă de citoplasmă, fiind aplaziate;

Loturile 3 și 4 - tratamentul aplicat cu cele 2 produse medicamentoase, conform invenției, a determinat o semnificativă activitate protectoare asupra structurilor celulare lezate de formaldehidă, concomitent cu un efect de activare a metabolismului celular, exercitat prin stimularea sintezei proteice, în special, prin stimularea și redresarea colagenului tisular și vascular.	1 3 5
Astfel, în dermă și hipodermă, s-au constatat zone foarte bogate în colagen, ceea ce a demonstrat că acțiunea benefică a produselor conform prezentei invenții se exercită printr-o activitate crescută a proceselor de sinteză a proteinelor celulare. Referitor la colagenul vascular, nu s-au mai constatat distrugerii ale vaselor de sânge, celulele endoteliale fiind normal structurate;	7 9
Lotul 5 - tratamentul local cu Fluocinolon - acetonid 0,025% cremă, pe fondul leziunilor tegumentare induse de formaldehidă a determinat distrugerea epidermei, structurile celulare fiind în mare parte lizate și greu identificabile. În dermă și hipodermă, fibrele de colagen au fost alterate structural și nu s-au constatat aspecte ultrastructurale care să indice efecte benefice protectoare față de agresiunea formaldehidică aplicată.	11 13 15
Acele rezultate sunt în concordanță cu datele cunoscute în terapeutică, cu privire la activitatea catabolizantă asupra sintezei proteice a medicamentelor glucocorticosteroide.	17

Revendicări

1. Compoziție farmaceutică, vasculoprotectoare, **caracterizată prin aceea că** este constituită din acid oleanolic și esculină, ambele evaluate prin HPLC cu puritate de minimum 98%, asociate în raport de 1:0,1...1:0,3 părți în greutate.

2. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** aceasta conține 90... 100 părți acid oleanolic și 10...20 părți esculină condiționată sub formă de capsule operculate tari.

3. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** aceasta conține 1 parte acid oleanolic și 0,2 părți esculină, condiționată ca soluție injectabilă.

4. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** aceasta conține 1 parte acid oleanolic și 0,3 părți esculină, condiționată ca soluție de uz intern.

5. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** aceasta conține 1 parte acid oleanolic și 0,3 părți esculină, g/ml, condiționată ca soluție de uz extern.

6. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** aceasta conține 1 parte acid oleanolic și 0,2 părți esculină, condiționată ca soluție de uz oftalmic.

7. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** aceasta conține 1 parte acid oleanolic și 0,3 părți esculină, condiționată sub formă de cremă sau de unguent.

8. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** aceasta conține 1 parte acid oleanolic și 0,3 părți esculină, condiționată sub formă de supozitoare.

9. Compoziție farmaceutică, definită în revendicarea 1, pentru redresarea metabolismului proteic și regenerarea colagenului vascular și tisular din vasele lezate structural, redresarea funcționalității vaselor, scăderea permeabilității capilare și creșterii rezistenței vasculare și ameliorarea complicațiilor inflamatorii asociate tulburărilor circulatorii din insuficiența venolimfatică.

10. Compoziție farmaceutică, definită în revendicarea 2, pentru tratamentul tulburărilor circulatorii periferice arteriale și venoase, de natură aterosclerotică și/sau diabetică, asociate cu leziuni trofice, arteriopatiei cronice obliterante, insuficienței venoase cronice cu leziuni trofice, maladiei vericoase, trombozei, tromboflebitei, și sindromul posttrombotic.

11. Compoziție farmaceutică, definită în revendicarea 3, pentru tratamentul tulburărilor circulatorii periferice arteriale și venoase, arteriopatiei cronice obliterante, sindromului posttrombotic, afecțiunilor de revascularizare postaccidente cerebrale vasculare sau postinfarct, precum și tratamentul postchirurgical venos.

12. Compoziție farmaceutică, definită în revendicarea 4, pentru protejarea arterelor, venelor și capilarelor, de degradare, prin reglarea tonicității, elasticității și troficității acestora, îmbunătățirea circulației sanguine periferice a organismului, tulburărilor circulatorii la nivel ocular, hemoragiilor retiniene datorate aterosclerozei, hipertensiunii și diabetului.

13. Compoziție farmaceutică, definită în revendicarea 5, pentru tratamentul afecțiunilor circulatorii însoțite de fragilitate capilară, flebitelor, tromboflebitelor, stărilor postflebitice, manifestărilor circulatorii la nivelul membrelor inferioare, datorate insuficienței venolimfatică, edemelor și hematoamelor posttraumatice sau postoperatorii.

- | | |
|--|--------|
| 14. Compoziție farmaceutică, definită în revendicarea 6, pentru tratamentul tulburărilor circulatorii la nivel ocular, hemoragiilor retiniene datorate aterosclerozei, diabetului, hipertensiunii, alterării arteriosclerotice ale fundului de ochi. | 1
3 |
| 15. Compoziție farmaceutică, definită în revendicarea 7, pentru tratamentul durerii și edemelor membrelor inferioare, cauzate de boli cronice ale venelor sau de origine traumatică, flebitelor, tromboflebitelor, stărilor postflebitice, dermitelor varicoase, tulburărilor trofice în sindromul posttrombotic, hematoamelor posttraumatice sau postoperatorii, limfedemului consecutiv tratamentului radiochirurgical al sânului. | 5
7 |
| 16. Compoziție farmaceutică, definită în revendicarea 8, pentru tratamentul local al hemoroizilor, tromboflebitei hemoroidale, inflamației rectale și al fisurilor anale. | 9 |

