



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2016 00285**

(22) Data de depozit: **21/04/2016**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/12/2020** BOPI nr. **12/2020**

(41) Data publicării cererii:
30/10/2017 BOPI nr. **10/2017**

(73) Titular:
• **DACIA PLANT S.R.L., STR. HARMANULUI
FN, BOD, BV, RO**

(72) Inventatori:
• **IANȚĂ CĂLIN IOAN, STR. CEHLĂU
NR. 36, BRAȘOV, BV, RO;**
• **BOBIT MARIA DANA, STR. FÂNTÂNIȚEI
NR. 15, BRAȘOV, BV, RO;**
• **IONIȚĂ LUCIAN, STR. MICȘUNELELOR
BR. 318A, COMUNA
DRAGOMIREȘTI-VALE, IF, RO;**
• **IONIȚĂ CARMEN, STR. MICȘUNELELOR
NR. 318A,
COMUNA DRAGOMIREȘTI-VALE, IF, RO;**
• **GRIGORE ALICE, BD. UVERTURII NR. 43,
BL. 1, SC.4, ET. 2, AP. 131, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **PIRVU LUCIA CAMELIA, STR. BACIA
NR. 11A, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **COLCERU-MIHUL SVETLANA,
STR. RÂMNICU SĂRAT 29, BL. 11A1,
AP. 42, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **BUBUEANU CORINA, STR. CERNIȘOARA
NR. 43, BL. 012, SC. A, AP. 19, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;**

• **DOBRE NICOLETA, ALEEA IANCA NR. 2,
BL. V18, SC. 2, AP. 64, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **PANTELI MINERVA,
STR. SPĂȚAR NICOLAE MILESCU
NR. 46-48, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **VULTURESCU VIRGINIA, STR.
PRELUNGIREA GHENCEA NR. 28, BL. C5,
SC. C, ET. 8, AP. 110, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **MATEI FLORENTINA, STR. 23 AUGUST
NR. 9, BL. U4, SC. 3, AP. 22, OTOPENI, IF,
RO;**
• **TĂNASE ANDREI,
STR. AV. TRAIAN VASILE NR. 37,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **DIGUȚA CAMELIA,
STR. TÂRGU DIN VALE NR. 68, BL. P20,
SC. C, AP. 1, PITEȘTI, AG, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
**US 4012505; MARIA CORNELIA MAIOR,
CRISTINA DOBROTĂ, "NATURAL
COMPUNDS WITH IMPORTANT MEDICAL
POTENTIAL FOUND IN HELLEBORUS
SP.", CENT. RUR. J. BIOL., VOL. 8(3), 2013**

(54) **PRODUS FITOTERAPEUTIC DE UZ VETERINAR
CU ACȚIUNE IMUNOMODULATOARE ȘI PROCEDEU
DE OBȚINERE**



RO 132189 B1

1 Invenția se referă la realizarea unui produs fitoterapeutic injectabil, cu efect imunomodulator de uz veterinar și la procedeul de fabricare al acestuia prin extracția principiilor active
3 din rădăcina plantei *Helleborus*.

5 Este cunoscut ca genul *Helleborus* conține heterozide cardiotonice bufadienolidice (helebrozida = helebrina și desglucohelebrozida), saponozide sterolice (heleborina), protoanemonina (lactona hemiterpenica instabilă care se dimerizează transformându-se în anemonina (netoxică) în timpul uscării) (http://www.plante-medicinale.ro/pm/fisa_planta.php) și cantități
7 importante de ecdisteroizi, o clasă de compuși înrudiți cu steroizii polihidroxilați (**Baltaev U., Russian Journal of Bioorganiz Chemistry, 2000, 26(12), p. 799-831**).

9 Este cunoscut că efectul imunostimulator al *H. purpurascens* a fost semnalat la oaie; creșterea numărului de limfocite (2x) și neutrofile (3,5x) la 48 h de la injectarea cu 5% decoct
11 de rădăcini și rizomi a arătat îmbunătățirea răspunsului imun la aceste animale (Nueleanu, 2008). Activarea rapidă și nespecifică a mecanismelor de apărare (leucocitoza pronunțată și creșterea procentului de neutrofile) a fost raportată după administrarea subcutanată, intraperitoneală și intramusculară a unor concentrații diferite de extract de *H. odorus* (Davidovic et al.,
13 2012).

15 În medicina veterinară empirică, rădăcinile și rizomii de *Helleborus sp.* implantați în pielea animalelor sau ureche erau considerate un fel de panaceu; această tradiție are o
17 justificare științifică deoarece planta produce hiperleucocitoză și, indirect, un efect benefic în multe afecțiuni. În terapia umană se administrează produsul Boicil bazat pe extracte de
19 *Helleborus sp.* în formă de soluție injectabilă sau unguent cu acțiune miorelaxantă și antalgică (brevet **FR 2333514 (A1)** - 1977-07-01).

21 Diverse specii de *Helleborus* sunt utilizate în tratamentul anti-cancer așa cum este descris în brevetele **GR 1008552 (B)** - 2015-09-03 (**pulbere de *Helleborus odorus* Waldst. & kit, subsp. cyclophyllus (a. braun) maire & petitm), RO 128610 (A2) 2013-07-30 (extracte concentrate de *Geranium robertianum* and *Helleborus purpurascens*)**.

23 Imunomodulatoare de origine vegetală fac subiectul unor cereri de brevet, după cum urmează.

25 Brevetul **JPH 083052 (A)** - 1996-01-09 descrie obținerea unui imunomodulator de origine vegetală - esența de *Ampelopsis brevipedunculata* Trautv care poate fi administrată oral, intrarectal, local ori parenteral.

27 De asemenea, brevetul **US 2011092585 (A1)** - 2011-04-21 descrie o compoziție farmaceutică imunomodulatoare bazată pe cumarinolignoizi izolați din semințe de *Cleome viscosa* capabili să moduleze răspunsul imun umoral și celular.

29 Brevetul **US 2005202041 (A1)** 2005-09-15 descrie un extract adjuvant/ imunomodulator izolat din pielița de alune util în prepararea compozițiilor imunogene și a vaccinurilor.

31 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în realizarea produsului farmaceutic imunomodulator inovativ de uz veterinar, bazat pe principii active de natură vegetală, eficient atît în profilaxie cât și în terapie. Elaborarea unui astfel de produs destinat animalelor de fermă
33 cât și a celor de companie contribuie la stimularea industriei locale, reducând importurile și, indirect, are rol în asigurarea siguranței alimentare și a calității vieții.

35 Preparatele utilizate în prezent nu sunt standardizate sau sunt insuficient caracterizate din punct de vedere analitic iar compușii sintetici sunt de multe ori toxici. Deși în terapia veterinară se utilizează produse fitoterapeutice de uz uman, această modalitate nu este sigură,
37 în special în cazul animalelor de interes economic deoarece lipsesc studiile privind toxicitatea, efectul farmacologic, efectele secundare, remanența reziduurilor pe specia respectivă, cunoscând fiind faptul că patologia veterinară prezintă diferențe importante comparativ cu cea umană.

RO 132189 B1

Produsul imunomodulator de uz veterinar conform invenției este constituit din extract de *Hellebori radix* de concentrație 1 mg/ml, sub formă de soluție injectabilă opacă, de culoare galbenă, cu gust amar și miros caracteristic conținând 264,95 mg% (β -ecdison și 63,97 mg% acid cafeic.

Testări farmaco-toxicologice pentru evidențierea siguranței și eficacității produsului imunomodulator

Produsul fitoterapeutic Helstim testat sub aspectul toxicității după doza unică, administrat pe cale subcutanată la șobolani Wistar, în doză unică de 50 mg/kgc nu a indus letalitate sau fenomene neurotoxice la animalele tratate. Concentrația maximă administrată de 250 mg/kgc nu a provocat letalitate dar a indus fenomene de neurotoxicitate cu modificarea motilității, a reflexelor posturale și semne de afectare a reflexelor medulare somatice. Tulburările s-au remis după circa 2 h de la apariție.

Administrarea extractului produsului în diferite concentrații (7...500 μ g/ml) asupra culturii de celule tumorale Jurkat a condus la scăderea drastică a viabilității culturii (sub 20%) atât la 24 cât și la 48 h de la administrare. Substanța de referință, 5-fluorouracil a demonstrat o evoluție mai lentă, viabilitatea scăzând de la 30% la 24 h de tratament la circa 10% (comparativ cu produsul fitoterapeutic) la 48 h.

Efectul imunomodulator a fost evidențiat preclinic pe un model experimental de imunodepresie indusă cu dexametazonă la șobolani Wistar. Raportul neutrofile/limfocite utilizat în evaluarea statusului imun și inflamator a evidențiat că loturile tratate cu 12,5 mg/kgc produs imunomodulator au prezentat valori superioare lotului tratat exclusiv cu dexametazonă, semn al stimulării imunitare în contextul imunodepresiei induse, efect comparabil tratamentului cu Levamisol după aceeași schemă de administrare, subcutanată, în două prize la interval de 24 h. Testele clinice au fost efectuate pe vaci la 14...15 zile după fătare, cu evaluarea parametrilor hematologici și imunologici înainte de administrarea subcutanată a produsului, la 24 h, 5, 8 și 14 zile după administrare. La 24 h după administrarea a 1 ml (1mg/ml) produs imunomodulator este indusă inversarea raportului limfocite B/limfocite T cu activarea clonelor de limfocite B, în corelare cu creșterea funcției fagocitare a neutrofilelor. Leucocitoza apărută la 24 h este menținută timp de 14 zile de la administrare.

Avantaje

- se diversifică gama de produse cu acțiune imunomodulatoare de uz veterinar cu un produs natural, de origine vegetală;
- produsul are o toxicitate redusă;
- se utilizează o materie primă vegetală accesibilă, plantele fiind obținute din cultură;
- tehnologia are un număr redus de faze;
- tehnologia este nepoluantă, nu rezultă deșeuri toxice sau ape reziduale.

Mod de realizare

Într-un vas de inox de capacitate 250 L prevăzut cu gura de alimentare, stut de evacuare și sistem de agitare se introduc 7,5 kg material vegetal *Hellebori radix* și 75 L alcool etilic concentrat. Se macerează amestecul timp de 10 zile la temperatura camerei cu agitare ocazională. Soluția extractivă se filtrează prin stutul de evacuare. Se obțin 67,5 L soluție extractivă care se concentrează la presiune redusă (150 mm Hg) și temperatura de maximum 50°C până la eliminarea alcoolului. Se obțin 1,01 kg de reziduu spiss de culoare galben-brun care se reia în 9,9 L propilenglicol pentru a obține o concentrație de 1 mg/mL a produsului fitoterapeutic.

Produsul imunomodulator de concentrație 1mg/ml se prezintă sub formă de soluție opacă de culoare galbenă, cu gust amar și miros caracteristic conținând 264,95 mg% β -ecdison și 63,97 mg% acid cafeic.

Aplicabilitate industrială

Invenția poate fi aplicată în industria farmaceutică veterinară, pentru producția de soluții injectabile cu efect imunomodulator prelungit care să nu mai prezinte efectele adverse ale substanțelor chimice și să aibă un conținut maxim de substanță activă.

Revendicare

1

3

1. Produs fitoterapeutic imunomodulator de uz veterinar realizat integral din plante medicinale, **caracterizat prin aceea că**, este constituit din extract de *Heilebori radix* de concentrație 1 mg/ml, sub formă de soluție injectabilă opacă, de culoare galbenă, cu gust amar și miros caracteristic conținând 264,95 mg% β -ecdison și 63,97 mg% acid cafeic.

7

9

11

13

2. Procedeu de obținere a unui produs imunomodulator de uz veterinar realizat integral din plante medicinale, **caracterizat prin aceea că**, se amestecă 7,5 kg de material vegetal *Hellebori radix* cu 75 L de alcool etilic concentrat, macerarea amestecului timp de 10 zile la temperatura camerei cu agitare ocazională; filtrarea soluției extractive prin stutul de evacuare, concentrarea a 67,5 L de soluție extractivă rezultată la presiune redusă, 150 mm Hg, și temperatura de maximum 50°C până la eliminarea alcoolului, obținându-se 1,01 kg de reziduu spiss de culoare galben-brun care se preia în 9,9 L de propilenglicol pentru a realiza o concentrație de 1 mg/ml a produsului fitoterapeutic.



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 535/2020