



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2016 00888

(22) Data de depozit: 23/11/2016

(41) Data publicării cererii:  
30/05/2018 BOPI nr. 5/2018

(71) Solicitant:  
• UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE  
AGRONOMICE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ  
DIN BUCUREȘTI, BD.MĂRĂȘTI NR.59,  
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;  
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE  
CHIMICO-FARMACEUTICĂ - ICCF,  
CALEA VITAN NR.112, SECTOR 3,  
BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:  
• IONIȚĂ LUCIAN, STR. MICȘUNELELOR  
BR. 318A, COMUNA  
DRAGOMIREȘTI-VALE, IF, RO;  
• GRIGORE ALICE ELENA, BD.UVERTURII  
NR.43, BL.1, AP.131, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;

• NEAGU GEORGETA,  
STR. MUNȚII MEHEDINȚI NR. 4,  
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;  
• DOBRE NICOLETA, ALEEA IANCA NR. 2,  
BL. V18, SC. 2, AP. 64, BUCUREȘTI, B, RO;  
• IONIȚĂ CARMEN, STR. MICȘUNELELOR  
NR. 318A, COMUNA DRAGOMIREȘTI  
-VALE, IF, RO;  
• BOBIT DANA, STR. FÂNTÂNIȚEI NR. 15,  
BRAȘOV, BV, RO;  
• IANTA CALIN, STR. CEAHLĂU NR. 36,  
BRAȘOV, BV, RO;  
• MATEI FLORENTINA, STR. 23 AUGUST  
NR. 9, BL. U4, SC. 3, AP. 22, OTOPENI, IF,  
RO;  
• DIGUTA CAMELIA,  
STR. TÂRGU DIN VALE NR. 68, BL. P20,  
SC. C, AP. 1, PITEȘTI, AG, RO

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A UNUI PRODUS  
FITOTERAPEUTIC CU ACȚIUNE IMUNOMODULATOARE,  
DESTINAT TERAPIEI PARODONTOZEI LA ANIMALE  
DE COMPANIE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un produs fitoterapeutic de uz veterinar, pentru prevenția și terapia afecțiunilor parodontale, și la un procedeu pentru obținerea acestuia. Produsul conform invenției este o suspensie de concentrație 0,25 g/ml dintr-un amestec de extracte de *Eupatorii herba* și *Inulae radix*, în raport 1:1, de concentrație 0,25 g/ml, sub formă de soluție opacă, de culoare brună, cu gust amar și miros aromat. Procedeu

conform invenției constă în macerarea amestecului de material vegetal cu alcool etilic 70%, timp de 10 zile, la temperatura camerei, filtrarea și concentrarea soluției extractive la presiune redusă și la temperatura de maximum 50°C, rezultând un reziduu care se reia în alcool etilic 20%.

Revendicări: 2

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



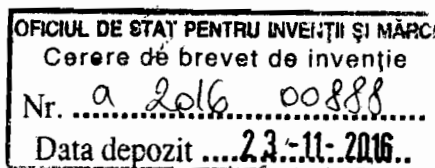
6

**PROCEDEU DE OBTINERE AL UNUI PRODUS FITOTERAPEUTIC CU ACTIUNE  
IMUNOMODULATOARE DESTINAT TERAPIEI PARODONTOZEI  
LA ANIMALE DE COMPANIE**

**Autori: Lucian Ionita, Alice Grigore, Georgeta Neagu, Nicoleta Dobre, Carmen  
Ionita, Dana Bobit, Calin Ianta, Florentina Matei, Camelia Diguta**

**Domeniul tehnic la care se referă invenția**

Inventia se refera la realizarea unui produs fitoterapeutic de uz veterinar, eficient in afectiuni inflamatorii microbiene ale cavitatii bucale si si la procedeul de fabricare al acestuia prin extractia principiilor active din partile aeriene ale speciei *Eupatorium cannabinum* si radacina de *Inula helenium*.



**Stadiul tehnicii**

Sunt cunoscute mai multe produse pe baza de extracte vegetale pentru prevenirea si/ sau tratarea parodontozei care sunt brevetate: extract de *Coptidis rhizoma* singur sau in combinatie cu *Pharbitidis semen* cu efect antiinflamator, de diferentiere a osteoblastelor si de regenerare a osului alveolar (CN102665745 (A) — 2012-09-12); extracte, pulbere, pasta de dinti cu compozitia 20-25 % of *Coptis chinensis* Franoh, 20-25 % of *Lycium chinense* Mill, 15-20 % of *Tribulus terrestris* L., 30-35 % of *Taraxacum mongolicum* Hand. Hazz, 4-7 % of *Glycyrrhiza uralensis* Fei cu efect antiinflamator (KR101150309 (B1) — 2012-06-08); amestec de extracte de *Pleurotus eryngii*, *Acanthopanax cortex* si *Notoginseng radix* (US2008038212 (A1) — 2008-02-14); extracte de *Rubi fructus*, *Puerariae flos*, *Salviae radix*, *Cinnamomi cortex*, *Cassiae semen*, *Reynoutriae radix*, *Lycii fructus* and *Houttuyniae herba* (0.01 -10% in hexan, cloroform sau acetat de etil) sub forma de pasta de dinti lichida, apa de gura si unguent oral cu actiune asupra bacteriilor si proteazelor implicate in inducerea parodontozei. (KR100431170 (B1) — 2004-04-30); pasta de dinti antiinflamatoare si hemostatica pe baza de *Dendrobium officinale*, *Isatidis folium* si *Scutellariae radix* (CN103977264 (A) — 2014-08-13).

Este cunoscut faptul ca flavonoidele exercita efect antiinflamator, asa cum este descris in cazul speciilor *Eupatorium amottianum* (Clavin et al., 2007) si *E. perfoliatum* (Maas et al., 2011). *Eupatorium cannabinum* contine, de asemenea, flavone precum: heterozide ale eupatorinei, hispidulinei, kampferolului si quercetolului; astragalin; kampferol-3-rutinozida, hiperozida; izoquercitrin si rutin (Elema et al., 1989).

*Eupatorium aschembornianum* (Sch.) este utilizata în medicina traditionala din Mexic pentru tratarea ulcerelor orale (Monroy si Castillo, 2000)

Radacina speciei *Inula helenium* L (iarba mare), familia Asteraceae, contin inulina (40-50%) si alti polimeri ai levulozei, ulei volatil, alantolactone, substante fitoncide, fridelina, stermasterna, acetat de damaradienil, etc. Frunzele contin alantopicrina, vitamina C sau in minerale iar florile contin in principal helenina (Parvu 1997). Din extractul hexanic obtinut din



radacini de *Inula helenium* s-au obtinut 7 sesquiterpene dintre care una germacrana (4 $\beta$ , 5- $\alpha$ -epoxi-1(10), 11(13)-germacradiena-8, 12-olid), una elemanica (igalanica) si 5 eudesmanice (alantolactona, isoalantolactona, 5-epoxialantolactona) (Konishi et al., 2002). Este cunoscut faptul ca diversi compusi precum tomentosin, izolata din *Inula viscosa*, alantolactona si izoalantolactona, izolata din *Inula racemosa*, si 4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -epoxialantolactona, izolata din *Inula helenium*, exercita efecte antiseptice si antimicrobiene certe (Seca et al., 2014). De asemenea, a fost semnalata si potentialul antiinflamator al unor specii de *Inula*: *Inula japonica* parti aeriene (Wang et al., 2006), *Inula cuspidata* frunze (Thapliyal et al., 2011).

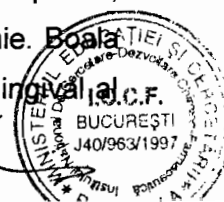
Cele doua genuri – *Inula* si *Eupatorium* – intra in compozitia unor preparate de ingrijire orala, asa cum este descris in brevetele: CN104873418 (A) — 2015-09-02 (combinatie de plante printre care *Eupatorium* solutie de ingrijire orala pentru reducerea inflamatiei, curatare si reimprospatarea respiratiei); CN103816319 (A) — 2014-05-28 (compozitie de plante din medicina traditionala chineza pentru tratarea stomatitei cu *Eupatorium fortunei* printre cele 14 specii); CN104622954 (A) — 2015-05-20 (solutie de ingrijire orala pe baza de uleiuri volatile de *Eupatorium* si *Elsholtzia*); CN103638408 (A) — 2014-03-19 (unguent pentru tratarea parodontozei pe baza de 11 plante printre care *Eupatorium fortunei*); CN103110926 (A) — 2013-05-22 (*Inula britannica chinensis* si *Eupatorium lindleyanum* intr-o compozitie complexa pentru tratarea parodontozei); CN104587113 (A) — 2015-05-06 (*Inula* herba intr-o compozitie de 9 plante eficienta in gingivita si parodontoza).

Este cunoscut ca boala parodontala este cea mai frecventa afectiune orala la animalele mici; in cazul cainelui, pana la 80% din animale fiind afectate (Riggio et al., 2011), si 85% din cainii peste 4 ani (Roman et al., 1995). Aceasta statistica face din boala parodontala cea mai prevalenta afectiune la caini (Harvey et al., 1994). Si in cazul speciei umane, studiile arata ca parodontita severa afecteaza 5-20% din populatia adulta a globului, fiind cauza majora a pierderii dintilor, atat in tarile dezvoltate cat si in cele in curs de dezvoltare. Se estimeaza ca peste 50% din populatia Europei sufera de o forma de parodontita si peste 10% au dezvoltat forma severa a bolii, cu cresterea prevalentei la 70-85% din populatia in varsta de 60-65 ani (Patel, 2012).

Clorhexidina pare a avea cea mai mare eficacitate in inhibarea placii bacteriene (Hennet, 2002), avand activitate antiseptica buna impotriva patogenilor orali (Harvey și Emily, 1993), însă prezinta insa efecte neplacute la terapia prelungita, cum ar fi pierderea simtului gustului, pigmentarea smaltului, senzatie de arsura sau chiar ulceratii ale mucoasei bucale (Zanini et al., 1995), ceea ce justifica tratamentul limitat la cateva zile si, implicit, imposibilitatea de administrare preventiva pentru prevenirea bolii parodontale. De asemenea, xilitolul, indulcitor natural, a fost introdus ca produs de uz veterinar care se adauga in apa de baut. De asemenea, uleiul de copaiba aplicat topic la caine are aceleasi efecte precum clorhexidina (Pieri et al., 2012).

### Prezentarea problemei tehnice

Problema tehnica pe care o rezolva inventia consta in realizarea unui produs fitoterapeutic, eficient atat in profilaxia cat si in terapia afectiunilor parodontale la animalele de companie. Boala parodontala include gingivita (inflamatie gingiilor) si parodontita, inflamatie tesutului nongingival al



parodontiului, rezultand din combinarea periodontopatogenilor bacterieni si raspunsul imunitar al gazdei care impreuna distrug tesutul de sustinere al dintilor.

Un produs pe baza de extracte vegetale cu ațiune imunomodulatoare și antimicrobiana este în măsura sa asigure atât terapia cât și prevenția bolii parodontale la animalele de companie, datorită lipsei de toxicitate și efectelor adverse, putand fi administrat pe perioade mai lungi de timp comparativ cu substantele de sinteza.

### Expunerea invenției

Produsul fitoterapeutic eficient in prevenția si terapia afecțiunilor parodontale conform invenției este constituit din extract de *Eupatorium cannabinum* si *Inula helenium* 0,25g/mL, sub forma de solutie orala opaca, de culoare bruna, cu gust amar si miros aromat continand alantolactona 7,2...10,8mg%, acid cafeic 9,76...14,64mg%, acid clorogenic 82,1...123,12mg%, rutin 114,4...171,6mg% iar procedeul de obtinere conform invenției consta in acela ca se extrag substantele active dintr-un amestec 1/1 m/m din speciile *Eupatorium cannabinum* si *Inula helenium* cu solvent hidroalcoolic 70% etanol, raport planta/ solvent = 1/10 m/v prin macerare timp de 10 zile la temperatura camerei cu agitare ocazionala, se concentreaza la presiune redusa solutia extractiva obtinuta pana la reziduu spiss care se reia in alcool etilic 20% (raport reziduu/ solvent = 1/3,2 m/v...1/4,8 m/v).

### Avantaje

Produsul fitoterapeutic si procedeul de obtinere prezinta urmatoarele avantaje:

- Se diversifica gama de produse eficiente atat in prevenirea cat si in terapia afecțiunilor parodontale cu un produs natural, de origine vegetala
- Produsul are o toxicitate redusa, se administreaza topic
- Se utilizeaza o materie prima vegetala accesibila, plantele fiind obtinute din cultura
- Tehnologia are un numar redus de faze
- Tehnologia este nepoluanta, nu rezulta deseuri toxice sau ape reziduale
- Produsul poate fi aplicat in terapia umana cat si in cea veterinara

### Mod de realizare

Intr-un vas de inox de capacitate 100L prevazut cu gura de alimentare, stut de evacuare si sistem de agitare se introduc 2,5 kg material vegetal uscat si macinat (*Eupatoriae herba* si *Inulae radix* 1:1 m/m) si 25L alcool etilic 70% (raport planta/ solvent – 1/10 m/v). Se macereaza amestecul timp de 10 zile la temperatura camerei cu agitare ocazionala. Solutia extractiva se filtreaza prin stutul de evacuare. Se obtin 17L solutie extractiva care se concentreaza la presiune redusa (150mm Hg) si temperatura de max



50°C pana la eliminarea solventului. Se obtin 292 g de reziduu spiss de culoare bruna care se reia in 1168 mL alcool etilic 20% pentru a obtine o solutie topica, orala cu concentratia de 0,25g/mL a substantei active.

Produsul fitoterapeutic de uz topic, oral 0,25g/mL se prezinta sub forma de solutie opaca de culoare bruna, cu gust amar si miros aromat continand alantolactona 7,2...10,8mg%, acid cafeic 9,76...14,64mg%, acid clorogenic 82,1...123,12mg%, rutin 114,4...171,6mg%.

### **Testari farmaco-toxicologice pentru evidentierea sigurantei si eficacitatii produsului imunomodulator destinat terapiei afectiunilor parodontale**

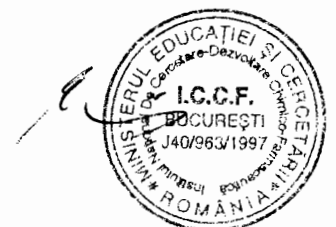
Produsul fitoterapeutic - o suspensie de concentratie 0,25 g/ml - testat sub aspectul toxicitatii dupa doza unica, administrat ca atare pe cale subcutanata (s.c.) la sobolani Wistar femele, in doza de 1,25 g/kgc (in volum de 5 ml/kgc - volum maxim administrabil pentru calea s.c. la sobolan) nu a indus fenomene neurotoxice sau letalitate la animalele tratate.

Activitatea antimicrobiană a produsului fitoterapeutic a fost testată prin metoda difuzimetrică cu discuri (Kirby-Bauer), utilizand ca martor soluția de etanol 20%. Testarea a fost realizată la 28°C pentru drojdii, și 37°C pentru bacterii, timp de 24-48 ore. Activitatea inhibitorie a fost testată pe 5 specii bacteriene Gram pozitive (*Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Staphylococcus aureus*), 3 specii bacteriene Gram negative (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* și *Pseudomonas aeruginosa*) și 3 specii de drojdii potențial patogene (*Candida albicans*, *Candida guilliermondii*, *Candida parapsilosis*). Rezultatele obținute au condus la concluzia ca produsul are activitate inhibitorie ridicata asupra speciei *Staphylococcus aureus*, iar asupra speciilor *Bacillus pumilus* și *Pseudomonas aeruginosa* activitatea antimicrobiana este moderata. Nu s-a constatat activitate inhibitorie asupra drojdiilor cu potential patogen.

Studiile clinice au demonstrat ca administrarea produsului la animale de companie (caini, pisici) cu patologii orale specifice – gingivite, stomatite, glosite, alte infectii bucale in doza de o picatura/kg/zi timp de 30 de zile conduce la remisia simptomelor si cicatrizare locala, neinregistrandu-se recidive.

### **Aplicabilitate industrială**

Inventia poate fi aplicata atat in industria farmaceutica veterinara cat si in cea umana, pentru productia de solutii topice, orale eficiente in prevenirea si terapia afectiunilor parodontale.



## REVENDICARE 1

Produs fitoterapeutic eficient in preventia si terapia afectiunilor parodontale, caracterizat prin aceea ca este constituit din extracte de Eupatorii herba si Inulae radix de concentratie 0,25g/mL, sub forma de solutie orala, opaca, de culoare bruna, cu gust amar si miros aromat continand alantolactona 7,2...10,8mg%, acid cafeic 9,76...14,64mg%, acid clorogenic 82,1...123,12mg%, rutin 114,4...171,6mg%.

## REVENDICARE 2

Procedeu de obtinere a unui produs fitoterapeutic eficient in preventia si terapia afectiunilor parodontale, caracterizat prin aceea ca se amesteca 2,5 kg material vegetal uscat si macinat (Eupatorii herba si Inulae radix 1:1 m/m) cu 25L alcool etilic 70%, macerarea amestecului timp de 10 zile la temperatura camerei cu agitare ocazionala; filtrarea solutiei extractive prin stutul de evacuare, concentrarea a 17L solutie extractiva rezultata la presiune redusa (150mm Hg) si temperatura de max. 50°C pana la eliminarea alcoolului, obtinandu-se 292 g de reziduu spiss de culoare bruna care se reia in 1168mL alcool etilic 20% pentru a obtine o solutie orala cu concentratia de 0,25g/mL a substantei active.

