



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2020 00709**

(22) Data de depozit: **09/11/2020**

(41) Data publicării cererii:
29/04/2021 BOPI nr. **4/2021**

(71) Solicitant:
• **UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "CAROL DAVILA" DIN BUCUREȘTI, STR.DIONISIE LUPU NR.37, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **MITITELU MAGDALENA, STR. MUSCELULUI NR. 84B, CÂMPINA, PH, RO;**
• **IONIȚĂ ANA CORINA, STR. NICOLAE FILIMON NR. 32, BL. 16, SC.1, AP. 34, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **UDEANU DENISA IOANA, ȘOS.COLENTINA NR.15, BL.R25, SC.B, AP.77, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;**

• **DINU-PIRVU CRISTINA ELENA, STR.GHEORGHE LAZĂR NR.10, ET.1, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **MOROȘAN ELENA, STR.LT.COL.CONSTANTIN MARINESCU, NR.10, BL.A38, SC.2, AP.26, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **GHICA MIHAELA VIOLETA, CALEA CRÂNGAȘI NR.26-28, BL.48-49, SC.A, ET.2, AP.4, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **IONIȚĂ ELENA IULIANA, STR.NICOLAE FILIMON, NR.32, BL.16, SC.1, ET.5, AP.34, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **GHICA MANUELA, STR.MECET, NR.35, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO**

(54) **UNGUENT ANTIREUMATIC CU ULEI DE FICAT DE RECHIN, BALSAM DE COPAIBA ȘI VENIN DE ALBINE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un unguent antireumatic cu extracte naturale cu acțiune antiinflamatoare, imunomodulatoare, antiseptică, calmantă și revulsivă. Unguentul, conform invenției, este constituit din ceară de albine, lanolină, unt de shea, ulei de ficat de rechin, ulei de ricin, balsam de copaiba, ulei volatil de eucalipt, venin de albine și soluție conservantă uzuală, într-un

raport de asociere în părți greutate de: 13...15:12...14:15:10:15:2...3:2...3:0, 1:27,9, având un aspect omogen, culoare alb-gălbui, miros aromatic și pH 5, 5...6.

Revendicări: 1



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MARC
 Cerere de brevet de invenție
 Nr. ... a 2020 ee 709
 Data depozit ... 09 -11- 2020

57

UNGUENT ANTIREUMATIC CU ULEI DE FICAT DE RECHIN, BALSAM DE COPAIBA ȘI VENIN DE ALBINE

Invenția de față se referă la un unguent antireumatic cu extracte naturale (ulei de ficat de rechin, ulei de ricin, balsam de copaiba, ulei volatil de eucalipt, venin de albine) destinat tratamentului afecțiunilor reumatismale și inflamatorii de altă origine, cu acțiune antiinflamatoare, imunomodulatoare, antiseptică, calmantă și revulsivă.

Sunt cunoscute diverse geluri antiinflamatoare cu extracte naturale precum ulei volatil de eucalipt, extract de gheara dracului, extract de arnica. De asemenea, sunt cunoscute numeroase creme și unguente antiinflamatoare cu extracte naturale: unguentul APIREVEN cu venin de albine, camfor și nicotinat de metil, unguent cu extract de arnica, unguent cu extract de ardei iute, unguent camforat etc.

Descriere: Invenția se referă la un unguent antireumatic destinat tratamentului leziunilor afecțiunilor reumatismale și inflamatorii de altă origine, ce constă în aceea că este constituit din asocierea cerii de albine cu lanolina, untul de shea, ulei de ficat de rechin, ulei de ricin, balsam de copaiba, ulei volatil de eucalipt, venin de albine, soluție conservantă, într-un raport de asociere, părți în greutate de: 13...15 : 12...14 : 15 : 10 : 15 : 2...3 : 2...3 : 0,1 : 27,9.

Principalele avantaje ale unguentului antireumatic, conform invenției, sunt următoarele:

- prin asocierea principiilor naturale se obține o acțiune antimicrobiană și antifungică eficientă (ulei de ficat de rechin, ulei de ricin, balsam de copaiba, ulei volatil de eucalipt, venin de albine);

- un efect antiinflamator și revulsiv semnificativ (ulei de ficat de rechin, ulei de ricin, balsam de copaiba, ulei volatil de eucalipt, venin de albine);

- efect imunomodulator prin mecanisme nespecifice (ulei de ficat de rechin, balsam de copaiba);

- o acțiune calmantă și anestezică evidentă de la prima utilizare (ulei de ricin, balsam de copaiba, ulei volatil de eucalipt, venin de albine);

- o îmbunătățire a circulației periferice (ulei de ricin, balsam de copaiba, ulei volatil de eucalipt, venin de albine);



Ascu

- un efect antiinflamator eficient și în profunzime generat în special de capacitatea uleiului de ricin de a penetra prin piele, dar și de compușii activi din balsamul de copaiba și uleiul volatil de eucalipt.

Acest unguent antireumatic îmbogățește gama produselor farmaceutice cu principii active naturale utilizate în tratamentul afecțiunilor reumatismale și inflamatorii de altă origine, precum și cea pentru îmbunătățirea circulației periferice, prin aceea că se obține prin asocierea unor produse naturale, fiecare cu efecte cunoscute asupra organismului uman: ulei de ficat de rechin, balsam de copaiba, ulei volatil de eucalipt, venin de albine.

Ațiunea unguent antireumatic este determinată în principal de principiile naturale care intră în compoziția sa:

Untul de shea se obține din nucile arborelui arborelui Karité (*Vitellaria paradoxa*) care crește spontan în savana africană.

Se regăsește în multe produse cosmetice, pentru că are o mulțime de beneficii pentru piele: stimulează producția de colagen (datorită polifenolilor), fapt ce duce la estomparea ridurilor, cât și la prevenirea lor (datorită antioxidanților și vitaminei E), hidratează foarte bine pielea și îi conferă o textură catifelată, calmează iritațiile. Datorită grăsimilor nesaturate și a conținutului bogat de vitamine, untul de shea este ideal pentru hidratarea și regenerarea pielii.

Untul de shea are în compoziție acizi grași polinesaturați, conține antioxidanți, precum flavonoide și polifenoli, care ajută la întărirea sistemului imunitar; conține acid cinamic, vitamine (A, K, E) și minerale care protejează pielea împotriva radicalilor liberi, vântului, razelor ultraviolete și au un puternic efect antiîmbătrânire și de prevenire a ridurilor.

La preparare s-a folosit untul de shea bio de la firma MAYAM, produs organic certificat de Ecocert Greenlife. Untul de shea nerafinat are culoare gălbuie și un miros specific. Produsul are următoarele proprietăți: emolient, nutritiv și reparator, antioxidant, încetinește procesul de îmbătrânire cutanată, ajută la regenerarea filmului hidrolipidic al pielii, întărește bariera protectoare proprie pielii, prevenind deshidratarea, apariția ridurilor și a altor semne de îmbătrânire, intensifică regenerarea și întărește rezistența pielii.

Uleiului din ficat de rechin i se acordă o atenție deosebită pentru beneficiile aduse sistemului imunitar, datorită, în special conținutului bogat de alcoigliceroli. Aceștia ajută la stimularea sintezei leucocitelor, celule importante în sistemul de autoapărare al organismului. Ingredientele principale din uleiul de ficat de rechin sunt: scualamină, alkil-gliceroli, squalen, omega-3, acizi grași liberi, vitamina A, vitamina E, vitamina D, minerale. Squalenul este necesar pentru ca rechinii de adâncime să supraviețuiască în condiții de hipoxie severă atunci



[Handwritten signature]

când înoată la adâncimi mari. În cazul organismului uman, insuficiența de oxigen și leziunile celulare oxidante sunt principalele cauze ale îmbătrânirii, dar și de apariție a unor tumori, iar squalenul are în acest sens un potențial anticancerigen, antimicrobian și fungicid. Squalamina a fost descoperită în anul 1993, fiind propusă pentru includerea în tratamentul auxiliar al cancerului și a anumitor afecțiuni oculare. În cadrul unor studii clinice s-a arătat că squalamina are proprietăți potențiale antivirale asupra anumitor virusuri umane cum sunt cele hepatice.

Uleiul din ficat de rechin este promovat drept supliment alimentar pentru întărirea sistemului imunitar, tratarea infecțiilor, vindecarea rănilor și vindecarea cancerului, precum și pentru diminuarea efectelor tratamentelor convenționale pentru cancer, combaterea stresului oxidativ. Studiile clinice au evidențiat rezultate bune în utilizarea uleiului de ficat de rechin și de pește în terapia suport a dermatitei atopice și a psoriazisului. De asemenea, uleiul de ficat de rechin are și o acțiune antiinflamatoare dovedită, datorată în special acizilor grași polinesaturați precursori ai prostaglandinelor PG3 antiinflamatoare.

Tehnologia de laborator de obținere a uleiului de ficat de rechin, adaptată după cea industrială, cuprinde următoarele etape:

1. Colectarea materiei prime: ficatul se colectează prin eviscerarea exemplarelor capturate de rechin din Marea Neagră (*Squalus acanthias*), se spală cu apă și se conservă la -15 sau -20°C;
2. Mărunțirea: ficatul congelat se mărunțește cu cuțitul (în stare congelată operația este mult mai ușoară decât în stare proaspătă);
3. Extracția: uleiul se extrage prin încălzire pe baie de apă;
4. Spălarea-decantarea: uleiul se spală cu apă caldă de 2-3 ori, iar fracțiunea uleioasă se separă cu o pâlnie de separare;
5. Fraționarea: se realizează prin răcire la 2°C când fracțiunea trigliceridică sedimentează;
6. Filtrarea: partea uleioasă lichidă se separă prin filtrare de fracțiunea trigliceridică;
7. Conservarea: uleiul se conservă în sticle brune la întuneric și la temperaturi de 8-15°C.

Descriere: lichid uleios, galben deschis, cu miros caracteristic, indice de refracție 1,480, densitate la 20°C 0,920, indice de aciditate 0,7 mg KOH/g, indice de iod 170 gI₂/100g, indice de saponificare 185 mg KOH/ 1g, indice de peroxid 2,5 mEq O₂ /kg.

Uleiul de ricin este un ulei cu o concentrație mare de acizi grași nesaturați și prezintă proprietăți antioxidante, antiinflamatorii, antibacteriene, antifungice și antivirale. Uleiul de



[Handwritten signature]

ricin conține un număr important de molecule antioxidante, ce ajută la apărarea organismului împotriva radicalilor liberi, fiind o sursă importantă de acizi grași nesaturați. Dintre aceștia face parte și acidul ricinoleic cunoscut pentru rolul său în protejarea și îngrijirea pielii și a părului. Uleiul de ricin este folosit în mod tradițional pentru prevenirea constipației, a unor infecții cutanate și a artritei.

Uleiul de ricin conține acid ricinoleic, un acid gras benefic cu rol umectant (reține apa din mediu și hidratează pielea mult timp după aplicare). Datorită acestui efect, uleiul de ricin este folosit ca ingredient în loțiuni de corp, produse de machiaj și soluții de curățare. Mai mult, acidul ricinoleic are o greutate moleculară mică motiv pentru care este ușor absorbit de piele. Acidul ricinoleic, principalul ingredient al uleiului de ricin are și efect antiinflamator iar studiile clinice au arătat o reducere semnificativă atât a inflamației, cât și a durerii. Datorită conținutului nutritiv bogat, uleiul de ricin reduce arsurile solare prin combinația dintre efectul antiinflamator, hidratarea în profunzime și hrănirea pielii (datorită conținutului bogat de acizi grași polinesaturați, omega 3, 6, 9 și vitamine, în special vitamina E).

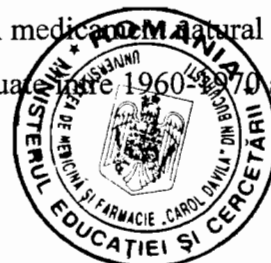
Uleiul de ricin este cunoscut și pentru efectele sale antifungice, cu acțiune semnificativă asupra *Candida albicans* și asigură menținerea sănătății orale. Unele studii clinice au arătat că uleiul de ricin poate fi folosit în tratarea stomatitei (substanțele conținute în uleiul de ricin ajută la dezvoltarea unei bariere protectoare la nivel topic).

Uleiul de ricin se obține prin presarea la rece a boabelor de ricin (*Ricinus communis*). Se prezintă ca un lichid galben pal, are un coeficient comedogenic scăzut, iar principiile nutritive din compoziția sa stimulează producția de colagen și elastină.

La prepararea unguentului antireumatic s-a folosit uleiul de ricin bio de la firma MAYAM, produs cosmetic natural și organic certificat de Ecocert, sub formă de lichid clar, culoare gălbuie, vâscozitate ridicată, aproape inodor.

Balsamul de copaiba este de fapt o oleo-rășină cu aspect ușor vâscos, culoare galbenă și o concentrație de 75% în uleiuri volatile. Se obține prin incizarea trunchiului, procedeu care nu afectează arborele și colectarea rășinii. Copaiba (*Copaifera Officinalis*) sau copahu este un arbore impunător care poate atinge o înălțime de 35 de metri și un diametru de 1,40 metri. Acesta crește în pădurile amazoniene din Brazilia, Columbia, Peru și Venezuela. Extrem de bogat în sesquiterpene, în concentrație de peste 85%, uleiul esențial de copaiba este renumit pentru proprietățile sale multiple, având printre altele și o acțiune antiinflamatorie extrem de intensă, evidențiată de multe studii clinice.

În perioada 1820-1910, balsamul de copaiba era un medicament natural ce făcea parte din Farmacopeea oficială a S.U.A. Numeroase studii efectuate între 1960-1970 au demonstrat



[Handwritten signature]

capacitatea puternic antimicrobiană contra bacteriilor rezistente la meticilină (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*). În 2002, cercetătorii brazilieni au confirmat eficacitatea balsamului de copaiba în tratarea afecțiunilor cutanate grave, fiind considerat un puternic regenerant cutanat, emolient și cicatrizant, recomandat în caz de răni grave, cicatrici post-operatorii, vergeturi, dezechilibre cutanate, psoriasis, dermatoze.

La prepararea unguentului antireumatic s-a folosit balsamul de copaiba bio de la firma AROMA – ZONE, obținut prin extracție tradițională a oleo-rășinii din trunchiul de copaiba recoltat din zone sălbatice. Descriere: lichid limpede, lejer vâscos, galben închis, cu miros rășinos, balsamic.

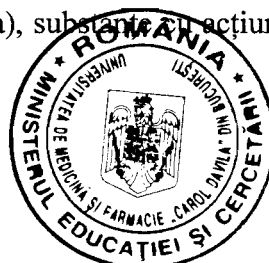
Uleiul volatil de eucalipt este utilizat pentru decongestionarea căilor respiratorii și fluidifiant al secrețiilor bronșice, ușurarea respirației, pentru combaterea stării de epuizare fizică și scădere a puterii de concentrare, reducerea durerilor musculare și articulare, durerilor de cap, în perioadele de convalescență pentru refacerea organismului, este eficient în scăderea febrei având un efect revigorant asupra corpului, stimulează circulația sangvină. Studiile clinice au evidențiat și un efect antibacterian de intensitate medie, precum și un efect antifungic de intensitate slabă.

Uleiul volatil de eucalipt se obține prin distilare cu vapori de apă din frunze și ramuri tinere ale plantei *Eucalyptus globulus*. Principalele componente chimice regăsite în ulei sunt: flavonide, cineol și eucaliptol, tanin, terpene, cumarine.

La prepararea unguentului antireumatic s-a folosit uleiul esențial de eucalipt bio de la firma MAYAM, produs cosmetic natural și organic certificat de Ecocert, sub formă de lichid gălbui, miros puternic, ușor camforat.

Veninul de albine este un produs de secreție al albinelor lucrătoare, ce este stocat în pungă de venin și eliminat la exterior în momentul înțepării, care de fapt reprezintă un act reflex de apărare. Efectele terapeutice ale veninului de albine sunt cunoscute încă din antichitate. Ele au fost semnalate de crescătorii de albine, care au observat că articulațiile dureroase reumatismale deveneau indolore ca urmare a înțepăturilor de albine, susținându-se un efect antireumatic. Datorită compoziției chimice complexe veninul de albine are o acțiune biologică bine determinată, constituind o importantă sursă de substanțe active pentru produsele apiterapeutice.

Veninul are în componența sa acidul formic, clorhidric, ortofosforic, săruri minerale, acizi organici volatili, un important ferment (fosfataza), substanțe cu acțiune antimicrobiană,



Handwritten signature

histamina, hialuronidaza și aminoacizi bogati în sulf ca de exemplu metionina și cistina. Aceștia din urmă stimulează secreția de cortizon a glandelor suprarenale.

Principalele componente proteice ale veninului de albine sunt împărțite în trei fracțiuni. Cea mai importantă fracție proteică este melitina, aceasta fiind considerată și componenta cea mai activă a veninului. În melitină s-au identificat glicocol, alanină, valină, leucină, izoleucină, serină, tirozină, lizină, arginină, asparagină, glutamină, triptofan, prolină. Această fracție a veninului este hemolitică, eliberează histamină și serotonină, contractă fibrele musculare netede și striate, scade presiunea sanguină și ritmul respirator, blochează sinapsele nervoase periferice și centrale. Melitina este unul dintre cei mai puternici agenți antiinflamatori cunoscuți (estimat a fi de 100 de ori mai puternică decât hidrocortizonul). Adolapinul, o polipeptidă bazică, este un alt antiinflamator puternic care inhibă ciclooxigenazele, având și un rol analgezic. Datorită acestor componente proteice, veninul de albine poate fi utilizat în tratarea bolilor cu caracter inflamator, precum artrita reumatoidă.

Veninul de albine este rezistent la variațiile de termice, temperatura scăzută sau cea ridicată nu afectează proprietățile acestuia. Sub formă uscată poate fi păstrat timp îndelungat fără a-și pierde proprietățile. Prezintă de asemenea rezistență la acțiunea acizilor și a bazelor.

Veninul de albine este extras din specia de albine *Apis mellifera* folosind o stimulare electrică de joasă tensiune. Apicultorii folosesc un așa numit "cadru de colectare" (colector de venin) cu electrozi de sârmă prin care trece curent electric de joasă tensiune, pe o bază de sticlă. Aceste cadre sunt instalate în stupi, iar albinele care ajung în contact cu ele primesc un mic stimul electric. Acest lucru face ca albina să înțepe sticla, eliberând veninul, dar fără a pierde acul, pierderea acului cauzând moartea albinei. Odată ce procesul de colectare a luat sfârșit, veninul de albine se usucă pe sticlă, iar întreg cadrul este dus într-un laborator unde este colectat veninul.

Veninul de albine recoltat se prezintă sub forma unei pulberi alb gălbuie ușor solubilă în apă. La Anexa I se prezintă buletinul de analiză al veninului de albine utilizat la prepararea unguentului antireumatic.

Asocierea extractelor naturale duce la obținerea unui efect sinergic antimicrobian, antiinflamator, analgezic, relaxant și revulsiv.

Avantajul formulei de obținere a unguentului antireumatic constă în aceea că acoperă toată gama de probleme legată de procesele inflamatorii: efect calmant, analgezic, relaxant, revulsiv, imunomodulator.

La stabilirea formulei s-au ales ingrediente active naturale cu acțiune antiinflamatoare cunoscute și apreciate, dar datorită acțiunii potențial iritative a veninului de albine, s-a



Isai

adăugat untul de shea, ulei de ricin și ulei volatil de eucalipt pentru a crește toleranța preparatului, precum și pentru a obține efecte terapeutice în profunzime.

Studiile clinice au arătat o formulă eficientă cu acțiune antiinflamatoare foarte bună conform rezultatelor prezentate în ANEXA II.

Soluția conservantă folosită la formulare este un amestec de nipaesteri, nipagin : nipasol 3 : 1 și are rolul de a asigura o stabilitate îndelungată preparatului. Se prepară conform FR IX. La 1000 mL apă distilată încălzită aproape de fierbere se dizolvă 0,75 g nipagin și 0,25 g nipasol.

Se prezintă în continuare mai multe exemple de realizare a invenției.

Exemplul 1. Compoziția pentru 100 g unguent este următoarea:

Ceară de albine	15g
Lanolina	12g
Unt de shea	15g
Ulei de ficat de rechin	10g
Ulei de ricin	15g
Balsam de copaiba	3g
Ulei volatil de eucalypt	2g
Venin de albine	0,1g
Soluție conservantă	27,9g

Pentru prepararea unguentului s-a folosit procedeul amestecării celor două faze (lipofilă și hidrofilă) încălzite la aceeași temperatură. Astfel, componentele lipofile se topesc pe baie de apă, adăugându-se în ordinea descrescătoare a punctelor de topire (ceara, lanolina, untul de shea, uleiul de ficat de rechin) iar faza hidrofilă (soluția conservantă în care s-a dizolvat veninul de albine) se încălzește la aproximativ 60°C și se adaugă în fir subțire sub agitare continuă peste faza lipofilă. După emulsionare și răcire aproape completă se încorporează ingredientele volatile (balsamul de copaiba și uleiul volatil de eucalipt).

Exemplul 2. Compoziția pentru 100 g unguent este următoarea:

Ceară de albine	13g
Lanolina	14g



Asai

Unt de shea	15g
Ulei de ficat de rechin	10g
Ulei de ricin	15g
Balsam de copaiba	2g
Ulei volatil de eucalipt	3g
Venin de albine	0,1g
Soluție conservantă	27,9g

Procedeul de obținere este cel descris la exemplul 1.

Exemplul 3. Compoziția pentru 100 g unguent este următoarea:

Ceară de albine	15g
Lanolina	12g
Unt de shea	15g
Ulei de ficat de rechin	10g
Ulei de ricin	15g
Balsam de copaiba	2g
Ulei volatil de eucalipt	3g
Venin de albine	0,1g
Soluție conservantă	27,9g

Procedeul de obținere este cel descris la exemplul 1.

Caracteristicile unguentului antireumatic preparat:

- aspect omogen;
- culoare alb-gălbuie;
- miros aromat-caracteristic;
- pH 5.5 – 6.

Înainte de utilizarea unguentului antireumatic, pacienții trebuie să-și facă testul de toleranță pentru a fi siguri că nu apare vreo reacție alergică. Testele întreprinse pe animale de laborator (șobolani rasa Wistar) precum și pe voluntari au evidențiat o bună toleranță



cutanată, însă pentru o mai bună siguranță se recomandă testarea toleranței individuale la prima utilizare a preparatului.

În Anexa I este prezentat buletinul de analiză al veninului recoltat de la albine, iar în Anexa II sunt prezentate studiile clinice întreprinse pentru testarea acțiunii antiinflamatoare a preparatului.



Alina

ANEXA I

BULETINUL DE ANALIZA AL VENINULUI DE ALBINE



AUTORITATEA NAȚIONALĂ PENTRU CERCETARE ȘTIINȚIFICĂ
INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE-DEZVOLTARE
CHIMICO-FARMACEUTICĂ

Calea Vitan 112, COD 031299 București Sector 3 ROMÂNIA

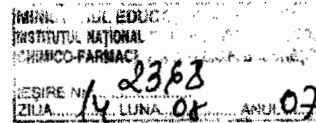
Înregistrat la Of.Com. J40/963/1997

Cod unic de înregistrare 3008580 atribut fiscal R

TEL: +40-21-321.21.17; +40-21-321.62.10; +40-21-322.29.10

Fax: +40-21-322.29.17 email: iccf@ncpri.ro

Buletin de analiza
Nr. V 0003/13.08.2007



Denumirea probei: Venin de albine/07.08.2007

Beneficiar: Dostetan Cornelia Carmen

Rezultate:

Denumire parametru	Cerinta	Rezultat analiza	Concluzia
Aspect	Pulbere microcristalina	Pulbere microcristalina	Corespunde
Culoare	Alb pana la bej	Alb galbui	Corespunde
Solubilitate	Usor solubil in apa	Usor solubil in apa	Corespunde
Aspect solutie	Solutie usor opalescenta	Solutie usor opalescenta	Corespunde
Continut proteine (Lowry)	75-88%	79,23% (08.08.07)	Corespunde
Electroforeza (Analiza pe chip "Protein 230")	Aspect specific, prezenta markerilor, benzi bine definite	Aspect specific, prezenta markerilor, benzi bine definite - Anexa A	Corespunde

Concluzii: Proba Venin de albine este corespunzatoare din punct de vedere calitativ

DIRECTOR GENERAL

Dr. ing. Misu Moscovici

Analiza venin de albine 08.08.07

Beneficiar:

Dostetan Cornelia Carmen



SEF DEPARTAMENT

Dr. biochim. Radu Albulescu

Analiza venin de albine 08.08.07

Analiza efectuate de: Dr. biochim. Radu Albulescu

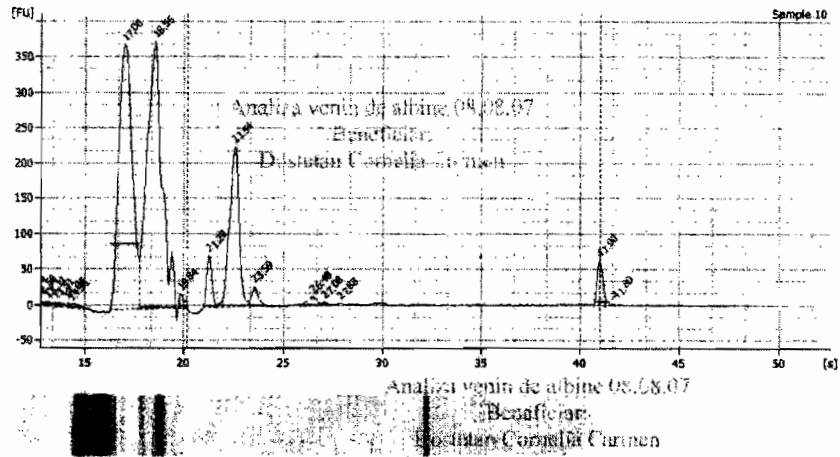
Dostetan Cornelia Carmen



Handwritten signature

47

Anexa 1 – Prezentare date studiu electroforetic



Size [kDa]	Observations	Aligned Migration Time [s]	Area	Rel. Conc. [ng/ul]	% Total
0,1		13,11	1,7	3,85	0,33
0,6		13,51	2,6	5,89	0,51
1,2		14,06	1,3	2,94	0,25
1,5		14,31	2,9	6,57	0,57
4,5	Lower Marker	17	296	0,00	0,00
8,9	Mel	18,55	333	754,15	65,22
12,6		19,84	4,9	11,10	0,96
18,1	PLA2	21,29	21,5	48,69	4,21
24,5	Lizofosfolipaza	22,54	122,5	277,43	23,99
30,7		23,59	10,9	24,69	2,13
52,2		26,48	6,9	15,63	1,35
57	Fosfomonoesteraza	27,08	1,8	4,08	0,35
63,7		27,88	0,6	1,36	0,12
240	Upper Marker	41	20,1	120,00	0,00



Alai

ANEXA II
STUDIUL ACȚIUNII ANTIINFLAMATOARE
A UNGUENTULUI ANTIREUMATIC CU ULEI DE FICAT DE RECHIN, BALSAM
DE COPAIBA ȘI VENIN DE ALBINE

Acțiunea antiinflamatoare a unguentului antireumatic cu ulei de ficat de rechin, balsam de copaiba și venin de albine a fost determinată prin două metode experimentale care au vizat modul în care acestea influențează exudatul inflamator din modelul experimental al edemului indus în laba de șobolan cu diferite substanțe edemogene [28,29].

Material și metode

Testările au fost efectuate prin două metode experimentale de inflamație acută: edemul indus în laba de șobolan cu suspensie de caolin 10% și cu soluție de dextran 6% .

Prin injectarea de caolin în laba de șobolan este stimulată formarea de prostaglandine, cu provocarea inflamației și edemului local. Edemul indus de dextran se datorează în principal eliberării de histamină și serotonină și poartă denumirea de edem anafilactoid.

Edemul a fost indus prin injectarea intraplantară a 0,1 mL suspensie de caolin 10% și 0,2 mL soluție de dextran.

S-a utilizat pentru fiecare agent edemogen câte trei loturi de 10 șobolani masculi, rasa Wistar, în greutate de 170 ± 15 g. Un lot a constituit lotul martor, un lot a fost tratat cu unguentul antireumatic și un lot a fost tratat cu Fenilbutazona cremă 40mg/g produsă de firma Fiterman.

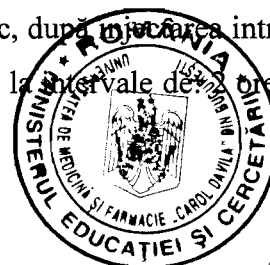
Animalele aduse din crescătorie, au fost ținute în condițiile laboratorului timp de 2 zile, pentru a se obișnui cu noul habitat și cu regimul de hrană.

La toate animalele a fost administrat agentul edemogen. Pe laba în care a fost indus edemul a fost aplicat preparatul de testat (aplicare uniformă, în strat subțire ~ 0,25g cremă).

Evaluarea efectului antiinflamator al unguentului luat în studiu s-a făcut față de preparatul cu fenilbutazonă existent pe piața farmaceutică românească (Fenilbutazona cremă 40mg/g produsă de firma Fiterman), aplicat pe laba cu edem, în aceleași condiții expuse anterior.

Determinările s-au făcut față de loturi martor (indivizi netratați).

Volumul labei de șobolan a fost măsurat pletismometric, după efectuarea intraplantară a agentului edemogen, fiind efectuate în continuare măsurători la intervale de 2 ore, 4 ore, 6



ore, 24 ore (pentru agentul edemogen suspensie de caolin 10%) și la intervale: 30 minute, 60 minute, 90 minute, 120 minute de la inducerea edemului (pentru agentul edemogen soluție de dextran 6%).

Valoarea medie a edemului antiinflamator (exprimat în mL) și procentul de inhibare a edemului pentru fiecare lot a fost calculată conform formulei:

$$\text{Inhibare edem, \%} = (1 - X_{\text{substanță}} / X_{\text{martor}}) \times 100$$

unde

X substanță - reprezintă valoarea medie a edemului produs de substanță testată;

X martor - reprezintă valoarea medie a edemului produs la martor în același interval de timp de la administrarea agentului edemogen.

Evaluarea statistică a rezultatelor s-a făcut prin testul t- student.

Rezultate și discuții

Unguentul antireumatic a prezentat efectul antiinflamator cel mai intens după 6 ore de la inducerea edemului, inflamația produsă cu suspensie de caolin 10% fiind scăzută cu **65,29%**.

Crema cu fenilbutazonă a prezentat efectul antiinflamator cel mai intens după 4 ore de la inducerea edemului, inflamația produsă cu suspensie de caolin 10% fiind scăzută cu **70,65%** (Tabelul nr. 1).

Tabelul nr. 1. Efectul antiinflamator al unguentului antireumatic preparat asupra edemului inflamator produs cu suspensie de caolin 10%

Produs testat	Edem 2 h (mL) ($\bar{x} \pm SD.$)	Edem 4 h (mL) ($\bar{x} \pm SD.$)	Edem 6 h (mL) ($\bar{x} \pm SD.$)	Edem 24 h (mL) ($\bar{x} \pm SD.$)
Martori	0,238 ± 0,01	0,276 ± 0,03	0,340 ± 0,02	0,293 ± 0,01
Unguent antireumatic	0,114 ± 0,04*	0,096 ± 0,01*	0,118 ± 0,03*	0,122 ± 0,02*
Efect %	-52,10	-65,21	-65,29	-58,36
Crema cu fenilbutazonă	0,098 ± 0,01*	0,081 ± 0,03*	0,103 ± 0,02*	0,104 ± 0,04*
Efect %	-58,82	-70,65	-69,70	-64,50

$\bar{x} \pm SD$ = media ± deviație standard; *p<0,05.

În modelul experimental al edemului produs cu soluție de dextran 6%, unguentul antireumatic a prezentat efectul antiinflamator cel mai intens după 30 min de la inducerea edemului (**65,02%**).



Asai

Crema cu fenilbutazonă a prezentat efectul antiinflamator cel mai intens după 30 min de la inducerea edemului, inflamația produsă cu soluție de dextran 6% fiind scăzută cu 72,41% (Tabelul nr. 2).

Tabelul nr. 2. Efectul antiinflamator al unguentului antireumatic preparat asupra edemului inflamator produs cu soluție de dextran 6%

Produs testat	Edem 30 min (mL) ($\bar{x} \pm SD.$)	Edem 60 min (mL) ($\bar{x} \pm SD.$)	Edem 90 min (mL) ($\bar{x} \pm SD.$)	Edem 120 min (mL) ($\bar{x} \pm SD.$)
Martori	0,203 ± 0,02	0,227 ± 0,02	0,252 ± 0,03	0,265 ± 0,03
Unguent antireumatic	0,071 ± 0,01*	0,083 ± 0,01*	0,092 ± 0,01*	0,101 ± 0,01*
Efect %	- 65,02	-63,43	-63,49	- 61,88
Cremă cu fenilbutazonă	0,056±0,04*	0,065 ± 0,01*	0,076±0,02*	0,074 ± 0,01*
Efect %/inițial	- 72,41	-71,36	-69,84	-72,07

$\bar{x} \pm SD$ = media ± deviație standard; *p<0,05

Prin testarea acțiunii antiinflamatoare a unguentului antireumatic preparat s-a constatat că acesta prezintă acțiune antiinflamatoare semnificativă atât asupra edemului produs de suspensie de caolin 10%, precum și asupra edemului produs de soluția de dextran 6%. Aceasta se datorează compoziției complexe a unguentului. În ambele modele experimentale, inflamațiile induse au fost reduse cu peste 65%, activitate semnificativă dacă o comparăm cu cea a cremei cu fenilbutazonă (de aproximativ 72%).



Alscu

**UNGUENT ANTIREUMATIC CU ULEI DE FICAT DE RECHIN, BALSAM DE
COPAIBA ȘI VENIN DE ALBINE**

Revendicare

Unguent antireumatic destinat tratamentului afecțiunilor reumatismale și inflamatorii de altă origine, caracterizat prin aceea că este constituit din asocierea cerii de albine cu lanolina, untul de shea, ulei de ficat de rechin, ulei de ricin, balsam de copaiba, ulei volatil de eucalipt, venin de albine, soluție conservantă, într-un raport de asociere, părți în greutate de: 13...15 : 12...14 : 15 : 10 : 15 : 2...3 : 2...3 : 0,1 : 27,9.



Asai