



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2020 00651

(22) Data de depozit: 19/10/2020

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

(71) Solicitant:
• PUSTA DANA-LIANA, STR.ȘESULUI
NR. 4 AP. 23, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• PUSTA ALEXANDRA, STR. ȘESULUI,
NR.4, AP.23, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• MORAR ROMAN, STR.PUTNA, NR.5,
AP.57, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(72) Inventatori:
• PUSTA DANA-LIANA, STR.ȘESULUI
NR. 4 AP. 23, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• PUSTA ALEXANDRA, STR. ȘESULUI,
NR.4, AP.23, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• MORAR ROMAN, STR.PUTNA, NR.5,
AP.57, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(54) COMPOZIȚIE FITOTERAPEUTICĂ PENTRU PREVENIREA
ȘI TRATAREA DIABETULUI ZAHARAT ȘI PROCEDEU DE
OBTINERE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o compoziție fitofarmaceutică pentru prevenirea și tratarea diabetului zaharat și la un procedeu de obținere a acesteia. Compoziția, conform invenției, este constituită în procente masice din 44% concentrat natural din fructe de afin (*Vaccinium myrtillus L*), sub formă de pulbere, 3% concentrat natural din fructe de cătină (*Hippophae rhamnoides L*), 50% agenți de încărcare de tip dextroză, amidon, lactoză și gelatină și 3% agenți antiaglomeranți de tip talc și stearat de magneziu. Procedeu, conform invenției, constă în etapele de prelucrare a fructelor de afin prin presare și filtrare, conservarea părții lichide cu dextroză în părți egale, respectiv, uscarea părții solide timp de 48...60 h până la o umiditate de 10...12%,

conservarea fructelor de cătină mărunțite prin amestecare cu dextroză în părți egale, amestecarea proporțională a părții lichide din fructele de afin cu partea solidă formată din fructe de afin și cătină conservate, mărunțirea și granulara concentratului cu agenți de încărcare, urmat de uscare și granulare în prezența agenților antiaglomeranți, rezultând un concentrat natural sub formă de comprimate de 1,00 g cu acțiune hipoglicemiantă, de regenerare a celulelor β pancreatice și cu efecte în modificările oculare și renale induse de diabet.

Revendicări: 2
Figuri: 16



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr.	a 22 00 657
Data depozit	19-10-2020

5A

Compoziție fitoterapeutică pentru prevenirea și tratarea diabetului zaharat și procedeu de obținere

Invenția se referă la o compoziție fitoterapeutică pentru prevenirea și tratarea diabetului zaharat, precum și la un procedeu de obținere a acesteia.

Diabetul zaharat este o boală complexă. Statisticile publicate de Organizația Mondială a Sănătății vorbesc de la sine și arată că numărul persoanelor afectate de diabet și prevalența acestuia cresc în fiecare an în toate regiunile globului. În anul 2014, 422 milioane de adulți erau afectați de diabet, ceea ce reprezenta 8,5% din populație. În comparație cu aceste date, în anul 1980, populația afectată de diabet era de 108 milioane, ceea ce reprezenta 4,7% din populație. Populația afectată de diabet este în creștere rapidă în țările cu venituri scăzute și mijlocii. În anul 2012, diabetul în sine a produs 1,5 milioane de decese. Nivelurile ridicate ale glicemiei, peste limitele admise, au determinat încă 2,2 milioane de decese, datorită creșterii riscului co-morbidităților, cum sunt bolile cardiovasculare și alte boli asociate.

În țara noastră se înregistrează tendințe în creștere privind numărul persoanelor bolnave de diabet, diagnosticat prin nivelele crescute ale glicemiei. De asemenea, se înregistrează o creștere a co-morbidităților, mai ales în ceea ce privește obezitatea, înregistrându-se în special o tendință de creștere a obezității infantile. În prezent, la adulți se constată că o persoană din 3 este supraponderală și o persoană din 10 este obeză.

La ora actuală, se pot diagnostica două tipuri de diabet: DZ tip 1 și DZ tip 2. DZ tip 1, este de regulă diagnosticat la copii și adolescenți, însă poate apărea la orice vârstă și se produce prin distrugerea autoimună a celulelor β pancreatice. DZ tip 2, care este mai frecvent, reprezentând aproximativ 90% din cazuri, poate avea o etiologie diversă, și anume: afectarea secreției de insulină, efect incretinic redus, fie prin reducerea concentrațiilor hormonilor incretinici la nivel intestinal, fie prin dezvoltarea rezistenței la efectele hormonilor incretinici; rezistența la insulină; secreția excesivă de glucagon; reglarea de tip "up-regulation" a co-transportorului 2 de sodiu-glucoză (SGLT – 2) la nivel renal, care determină reabsorbția glucozei la nivelul tubului contort proximal, ceea ce poate agrava hiperglicemia; sindromul metabolic, care implică multiple tulburări metabolice ce determină boli cardiovasculare, obezitatea centrală, hipertensiunea arterială; diabetul gestațional (sub 3%), diabetul de maturitate, tulburările endocrine, infecții și unele tratamente medicamentoase. Complicațiile microvasculare includ retinopatia, neuropatia și nefropatia, iar complicațiile microvasculare includ boala coronariană, accident vascular cerebral și boala vasculară periferică.

Multe dintre aceste complicații și decese premature pot fi prevenite cu un regim de viață echilibrat și cu tratament adecvat. Obiectivele principale ale tratamentului diabetului sunt reprezentate de ameliorarea simptomelor, reducerea riscului de complicații microvasculare și macrovasculare, reducerea mortalității și îmbunătățirea calității vieții.

Terapia actuală este reprezentată de terapia nefarmacologică și de terapia farmacologică. Terapia nefarmacologică include terapia nutrițională și gestionarea exercițiului aerobic. Terapia farmacologică include tratamentul cu insulină și, în unele cazuri cu amilinomimetice în cazul pacienților cu DZ tip 1.

Terapia pacienților cu DZ tip 2 este variată și constă în cazul pacienților simptomatici în monoterapie orală (metformină), terapie orală dublă și combinată în unele cazuri și cu tratament insulinic inițial. În cazul în care nu se obțin rezultate după o perioadă de trei luni de tratament oral se poate trece la terapia parenterală.

[Signature]
1
[Signature]

Principalele clase de medicamente cu administrare orală utilizate pentru tratamentul DZ tip 2 sunt: sulfonilureice, glinide, biguanide, tiazolidinodione, inhibitori de α -glucozidază, inhibitori ai co-transportorului-2 de sodiu-glucoză, inhibitori ai dipeptidil peptidazei-4, secheștranti ai acizilor biliari și agoniști dopaminergici. În general, toate aceste clase de compuși au variate reacții adverse. În cazul biguanidelor (metforminul fiind adesea medicamentul de elecție pentru pacienții cu DZ tip 2) se înregistrează reacții adverse gastro-intestinale (disconfort gastric, disconfort abdominal, diaree) care apar la peste 30% din pacienți. În cazul agoniștilor ai receptorilor glucagon-like peptid 1 (GLP-1) reacțiile adverse mai frecvente sunt greța, vărsăturile și diareea. În cazul sulfonilureicelor apare hipoglicemia și o creștere în greutate. La administrarea inhibitorilor ai dipeptidil peptidazei-4 se poate produce cefalee, nazofaringită, infecții respiratorii și urticarie însoțită uneori de edem facial (aprox. 1% din pacienți). Administrarea inhibitorilor ai co-transportorului 2 sodiu-glucoză (SGLT - 2) poate determina infecții ale tractului urinar, în special infecții fungice. În cazul tiazolidinodionelor (glitazonelor) poate să apară retenția de lichide, determinând o creștere a retenției de sodiu și apă, ceea ce poate determina apariția edemelor periferice. În cazul inhibitorilor de α -glucozidază cele mai frecvente reacții adverse sunt flatulența, balonarea, disconfortul abdominal și diareea.


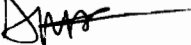

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui produs fitoterapeutic sub formă de comprimate, destinat prevenirii și tratării diabetului zaharat (DZ) la om.

Problema pe care o rezolvă invenția este asigurarea condițiilor prin care compoziția și procedeuul conform invenției păstrează intacte și concentrează principalele componente active naturale cu remarcabil efect terapeutic și care nu au efecte secundare, comparativ cu medicația clasică în care sunt utilizați produși sintetizați chimic, care au efecte secundare.

Compoziția fitoterapeutică pentru prevenirea și tratarea diabetului zaharat înlătură dezavantajele menționate anterior prin aceea că este constituită din următoarele substanțe biologice active:

39% - 45% concentrat natural din fructe de *Vaccinium myrtillus L* (Afin) din flora spontană, obținut prin procedeuul conform invenției care-i păstrează principalele componente active, respectiv pulbere din concentrat din fructe de afin *Vaccinium myrtillus L* (Afin), parte lichidă și parte solidă, obținută în conformitate cu primele patru faze ale procedeuului conform invenției, ce conține antociani 0,05 – 0,13 %; taninuri catechice 0,1-0,2%; polifenoli 0,3 – 0,49%; acid glutamic 1,98 – 2,65 %; acid poligalacturonic 2,31 – 3,21 %; acid malic – 0,5-0,7%, vitamina C - 24% din RDA – doza zilnică recomandată; vitamina K - 36% din RDA; vitamina A 50-54 UI; săruri minerale: potasiu, calciu, magneziu, fier și altele între 2,10 – 2,12 %; micronutrienți minerali: mangan (25% din RDA), zinc (0,67 – 0,86 ppm); cupru (0,03 – 0,2 ppm);

2% - 3% concentrat natural din fructe de cătină (*Hippophae rhamnoides L*) din flora spontană, obținut prin procedeuul conform invenției care-i păstrează principalele componente active, obținut în conformitate cu primele cinci faze ale procedeuului conform invenției, ce conține vitamina C (aproximativ 400 mg la 100 g) și vitamina E (α -tocoferolul fiind principalul component); flavonoide; carotenoide (1,5 – 18,5 mg / 100 g fructe uscate), reprezentate, în principal de β -caroten, zeaxantină și licopen; aminoacizi; fitosteroli (340–520 mg/kg) și elemente minerale, reprezentate de potasiu (300-380 mg/100 g), mangan (0,28-0,32 mg/100g) și cupru (0,1 mg/100g)


 2


50% - 55% agenți de încărcare: dextroză, amidon, lactoză și gelatină

2%- 4% agenți antiaglomeranți talc și stearat de magneziu

Procedeul de obținere a compoziției fitoterapeutice pentru prevenirea și tratarea diabetului zaharat înlătură dezavantajele menționate anterior prin aceea că este constituit din următoarele faze în ordine succesivă:

- fructele de afin (*Vaccinium myrtillus L.*) culese din flora spontană, după o inițială sortare și spălare, sunt presate și filtrate într-o hidropresă la 3 bari;

- partea lichidă rezultată după presare se conservă cu părți egale de dextroză iar partea solidă se usucă 48-60 ore până la umiditatea de 10 – 12%;

-fructele de cătină (*Hippophæ rhamnoides L*) culese din flora spontană, după o inițială sortare și spălare se mărunțesc și se amestecă proporțional cu dextroză pentru conservare;

- se amestecă proporțional partea lichidă, obținută din fructele de afin cu cea solidă (fructe de afin și cătină) ;

- părțile se reunesc și se mărunțesc prin robot și se cern prin sita nr. 3, pentru îmbogățirea concentratului cu substanțe biologice active;

- concentratul rezultat se amestecă și se granulează în prezența gelatinei, lactozei și amidonului, apoi se usucă din nou;

- granulele care rezultă sunt comprimate în prezența stearatului de magneziu și a talcului după procedee clasice de comprimare a granulării umede pentru obținerea comprimatelor de 1,00 g.

Prin aplicarea invenției se obțin următoarele avantaje:

- posibilitatea obținerii unui produs fitoterapeutic destinat prevenirii și tratării diabetului zaharat prin aceea că prin procedeul conform invenției produsul rezultat este un concentrat natural, care beneficiază de acțiunea sinergică a principiilor active conținute în fructele a două plante, culese din flora spontană, afinul (*Vaccinium myrtillus L.*) și cătina (*Hippophæ rhamnoides L*);

- glucozidele delfinolului, care sunt concentrate în produs, susțin funcționarea normală a pancreasului prin protejarea celulelor Langerhans și menținerea în limite normale a glicemiei;

- compoziția fitoterapeutică conform invenției mărește rezistența și permeabilitatea capilară, intervine în tonifierea sistemului venos, iar prin conținutul în flavonoide produsul intervine în funcționarea normală a sistemului cardiovascular;

- prin compoziția fitoterapeutică obținută conform invenției produsul are efect antioxidant, hepatoprotector și imunomodulator;

- compoziția fitoterapeutică conform invenției prin efectul activant sensibilizează fotoreceptorii și ajută la păstrarea acuității vizuale;

D. Scyb
Apud
Waly

- prin compoziția complexă, produsul fitoterapeutic conform invenției reechilibrează presiunea osmotică de la nivelul celulelor epitelului mucoasei intestinale, normalizează peristaltismul și tranzitul intestinal, având rol protector al mucoasei;
- produsul este bogat în vitamine, săruri minerale, antocianozide, taninuri, pectine, polifenoli de origine naturală, care sunt ușor absorbabili și foarte bine tolerați de organism;
- produsul se poate administra oral, în doze repetate, deoarece nu crează obișnuință, fiind foarte bine tolerat de organism și se poate administra la sugar, copii și tineret, precum și la adulți, atât în DZ tip 1 cât și în DZ tip 2.
- produsul fitoterapeutic obținut conform invenției este un produs sustenabil, deoarece nu distruge, ci din contră, valorifică în mod superior fructele recoltate din flora spontană, fără să epuizeze resursele disponibile și fără să distrugă mediul;
- procedeul de obținere al compoziției fitoterapeutice conform invenției este total nepoluant („eco-friendly”).

În continuare se dă un exemplu de realizare al invenției, în legătură cu figurile 1-16, și tabelele 1-4 care reprezintă:

Figura 1. Conținutul în antocianozide totale conținut în comprimatele de produs conform invenției

Figura 2. Reprezentarea grafică a dinamicii glicemiei și deviației standard, la loturile tratate cu compoziția conform invenției, comparativ cu loturile luate în studiu

Figura 3. Pancreas de șobolan (insulă Langerhans) martor sănătos. Celule beta normofuncționale, cu arhitectură pseudolobulară. Col. Tricrom Goldner x40.

Figura 4. Pancreas de șobolan (insulă Langerhans). lot experimental cu diabet subclinic indus cu Streptozotocină 5 mg / 100 g masă corporală. Colorat tricromic. Citonecroză, atrofie cu hipofuncție și dereglare a raportului dintre celulele secretoare α și β . Col. Tricrom Goldner x40.

Figura 5. Lot tratat cu compoziția conform invenției după 3 luni, se observă refacerea integrală a cito-arhitectonicii specifice insulelor Langerhans normofuncționale. Col. Tricrom Goldner x40.

Figura 6. Retina lot sănătos, Col. Tricrom Goldner x 40

Figura 7. Retina lot bolnav, Col. Tricrom Goldner x 40

Figura 8. Retina lot tratat, Col. Tricrom Goldner x 40

Figura 9. Cristalin lot sănătos, Col. HE x 40

Figura 10. Cristalin lot bolnav, Col. HE x 40

Figura 11. Cristalin lot tratat, Col. HE x 40

Figura 12. Glomerul renal lot sănătos, Col. HE x 40

Figura 13. Glomerul renal lot bolnav, Col. HE x 40

Figura 14. Glomerul renal lot tratat, Col. HE x 40

Figura 15. Scăderea valorilor de hemoglobină glicozilată sub tratament cu compoziția conform invenției

Figura 16. Modificarea dozelor de insulină în urma tratamentului cu compoziția conform invenției

Tabel 1. *Dinamica medie a glicemiei, colesterolului și trigliceridelor*

Tabel 2. *Dinamica transaminazelor, ureei și acidului uric*

Tabel 3. *Dinamica principalilor indici hematologici*

Tabel 4. *Evoluția calciemiei, magneziemiei și a masei corporale*

48
4

Se realizează o compoziție fitoterapeutică pentru prevenirea și tratarea diabetului zaharat conform invenției constituită din următoarele substanțe biologice active:

44% concentrat natural din fructe de *Vaccinium myrtillus L* (Afin) din flora spontană, obținut prin procedeul conform invenției care-i păstrează principalele componente active, respectiv pulbere din concentrat din fructe de afin *Vaccinium myrtillus L* (Afin), parte lichidă și parte solidă, obținută în conformitate cu primele patru faze ale procedurii conform invenției, ce conține antociani 0,05 – 0,13 %; taninuri catechice 0,1-0,2%; polifenoli 0,3 – 0,49%; acid glutamic 1,98 – 2,65 %; acid poligalacturonic 2,31 – 3,21 %; acid malic – 0,5-0,7%, vitamina C - 24% din RDA – doza zilnică recomandată; vitamina K - 36% din RDA; vitamina A 50-54 UI; săruri minerale: potasiu, calciu, magneziu, fier și altele între 2,10 – 2,12 %; micronutrienți minerali: mangan (25% din RDA), zinc (0,67 – 0,86 ppm); cupru (0,03 – 0,2 ppm);

3% concentrat natural din fructe de cătină (*Hippophäe rhamnoides L*) din flora spontană, obținut prin procedeul conform invenției care-i păstrează principalele componente active, obținut în conformitate cu primele cinci faze ale procedurii conform invenției, ce conține vitamina C (aproximativ 400 mg la 100 g) și vitamina E (α -tocoferolul fiind principalul component); flavonoide; carotenoide (1,5 – 18,5 mg / 100 g fructe uscate), reprezentate, în principal de β -caroten, zeaxantină și licopen; aminoacizi; fitosteroli (340–520 mg/kg) și elemente minerale, reprezentate de potasiu (300-380 mg/100 g), mangan (0,28-0,32 mg/100g) și cupru (0,1 mg/100g)

50% agenți de încărcare: dextroză, amidon, lactoză și gelatină

3% agenți antiaglomeranți talc și stearat de magneziu

Procedeul de obținere a compoziției fitoterapeutice pentru prevenirea și tratarea diabetului zaharat conform invenției este constituit din următoarele faze în ordine succesivă:

-fructele de afin (*Vaccinum myrtillus L.*) culese din flora spontană, după o inițială sortare și spălare, sunt presate și filtrate într-o hidropresă la 3 bari;

-partea lichidă rezultată după presare se conservă cu părți egale de dextroză iar partea solidă se usucă 48-60 ore până la umiditatea de 10 – 12%;

-fructele de cătină (*Hippophäe rhamnoides L*) culese din flora spontană, după o inițială sortare și spălare se mărunțesc și se amestecă proporțional cu dextroză pentru conservare;

-se amestecă proporțional partea lichidă, obținută din fructele de afin cu cea solidă (fructe de afin și cătină) ;

-părțile se reunesc și se mărunțesc prin robot și se cern prin sita nr. 3, pentru îmbogățirea concentratului cu substanțe biologice active;

-concentratul rezultat se amestecă și se granulează în prezența gelatinei, lactozei și amidonului, apoi se usucă din nou;

Alcest 5
Amund
Cros

-granulele care rezultă sunt comprimate în prezența stearatului de magneziu și a talcului după procedee clasice de comprimare a granulării umede pentru obținerea comprimatelor de 1,00 g, obținându-se compoziția conform invenției Diavit (DV).

Efectele terapeutice ale compoziției conform invenției sunt prezentate în continuare:


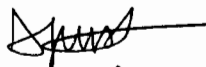

Determinarea conținutului în antocianozide totale (mg/comprimat) ale compoziției conform invenției comprimate se realizează pe fiecare sașă de produs, valoarea obținută reprezentând media a trei determinări. Rezultatele obținute sunt prezentate în Fig. 1.

1. Efecte ale compoziției conform invenției au fost demonstrate în diabetul subclinic experimental la șobolan, diabet zaharat tip 2 (efectul hipoglicemiant, efectul asupra unor parametri biochimici și hematologici, efectul de regenerare a celulelor β pancreatice, efectele în modificările oculare și renale induse în diabet):

Efectele compoziției conform invenției au fost demonstrate prin experiențe realizate prin studii experimentale comparative efectuate pe loturi de șobolani sănătoși (lot martor sănătos); loturi de șobolani masculi Wistar (greutatea medie $150g \pm 10g$) la care a fost indus diabetul experimental prin administrarea a $4mg/100g$ masa corporală de streptozotocină i.p. (lot martor bolnav); loturi de animale care au fost îmbolnavite și la care s-au administrat Siofor și Meguan (medicație orală specifică pentru tratamentul diabetului tip 2) și lot la care s-au administrat comprimate din compoziția conform invenției. Experimentele au durat o perioadă de 3 luni. În fiecare lună s-au recoltat probe sanguine pentru determinarea principalilor indici biochimici și hematologici, iar la finalul experimentului s-au prelevat probe de organe (pancreas, rinichi, ochi, ficat, cord) pentru examenul histologic.

Efectul hipoglicemiant al compoziției conform invenției a fost determinat pe loturile de animale prezentate anterior. Rezultatele obținute privind determinarea principalilor parametri biochimici sunt prezentate în tabelul 1, iar variațiile glicemiei sunt prezentate în figura 2. Inducerea diabetului streptozotocinic determină o creștere semnificativă a glicemiei (p.a. 0,001) față de lotul martor. Tratamentul cu compoziția conform invenției diminuează această hiperglicemiei de la $164,5 \pm 4,1 mg\%$ (lotul diabetizat) până la $124,0 \pm 2,4 mg\%$ și respectiv $131,6 \pm 3,0 mg\%$. De observat că nici Meguanul și nici Sioforul – în aceleași condiții experimentale – nu prezintă o acțiune hipoglicemiantă similară, valorile medii ale glicemiei de la aceste loturi nu diferă semnificativ de valoarea medie a lotului de animale diabetizate.

Efectul asupra unor parametri biochimici și hematologici ai compoziției conform invenției au fost studiate pe aceleași loturi, la care, pe lângă valorile glicemiei au mai fost determinate următorii parametri: colesterol și trigliceride (tabel 1), transaminaze, uree și acid uric (tabel 2); indici hematologici – hematii, leucocite, trombocite, hemoglobină și hematocrit (tabel 3) și calcemia, magnezemia și masa corporală (tabel 4). În ipoteza noastră, compoziția fitoterapeutică, conform invenției, acționează direct asupra celulelor β pancreatice, în sensul accelerării procesului de refacere a acestora și a creșterii secreției de inulină. Asupra parametrilor metabolismului lipidic efectele compoziției conform invenției sunt superioare, după 2 luni de tratament, se ajunge la valori ale colesterolemiei și trigliceridemieii apropiate de cele fiziologice. În diabet, hipertrigliceridemia este determinată printr-un mecanism patogenetic reprezentat de o exagerare a mobilizării de acizi grași liberi din țesutul adipos și de un deficit important în procesul de îndepărtare a trigliceridelor din plasmă prin pătrunderea acestora în celule. Compoziția conform invenției, prin componentele sale active, poate să intervină în aceste mecanisme. Rezultatele obținute confirmă posibilitatea unei acțiuni prin mecanisme enzimatice.


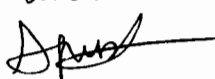
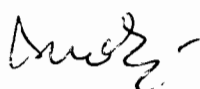
 6



Valoarea transaminazelor serice revine la valori normale după tratamentul cu comprimatele din compoziția conform invenției, fapt ce nu se întâmplă în cazul biguanidelor, ceea ce demonstrează un efect protector hepatic al compoziției conform invenției. Determinările pe care le-am efectuat asupra ureei și acidului uric demonstrează un efect benefic pe care îl poate avea compoziția conform invenției în tratamentul unor disfuncții ale metabolismului proteic și purinic. Datele indicilor hematologici analizați au evidențiat o ușoară anemie în cazul biguanidelor, mai ales în cazul Sioforului. În schimb, tratamentul cu comprimatele din compoziția conform invenției nu prezintă acest fel de efecte semnificate, mai mult după o perioadă de 2 luni de administrare se restabilesc valorile principalilor indicilor hematologici la nivelul celor de la lotul de animale sănătoase.

Efectele compoziției conform invenției de regenerare a celulelor β pancreatice. Efectele au fost studiate pe aceleași modele experimentale prezentate anterior. La animalele sănătoase se observă celulele alfa și beta pancreatice normofuncționale, cu arhitectură pseudolobulară, pe toată perioada experimentului (Fig. 3). După provocarea diabetului, la examenul insulelor Langerhans se observă citonecroză, atrofie și hipofuncții cu o dereglare drastică a raportului celular. (Fig. 4). La lotul tratat timp de 3 luni cu compoziția conform invenției se observă o refacere integrală a cito- arhitectoniei specifice insulelor Langerhans cu aspect de normofuncționalitate (Fig. 5).

Efectele compoziției conform invenției în modificările oculare induse în diabet. Efectele au fost studiate pe modelele experimentale prezentate anterior. La nivelul retinei senzoriale la animalele sănătoase se observă structura clasică cu toate straturile evidente (conurile și bastonașele sau stratul granular extern, celulele bipolare și cele multipolare sau ganglionare) precum și stratul plexiform extern și intern și membrana limitantă internă (care separă retina de corpul vitros) – Fig. 6. La animalele la care diabetul a fost indus și care nu au fost tratate se observă că retina prezintă edem difuz generalizat, materializat prin acumulări de plasmă în stratul conurilor și bastonașelor ceea ce determină deformarea acestui strat, dilacerarea membranei limitante externe, acumulării de lichide (plasmă) în stratul granular extern și intern, edeme și dilacerări evidente în stratul plexiform intern și extern care în ansamblu determină un edem generalizat al retinei, ceea ce determină reducerea acuității vizuale (Fig. 7). Capilarele retiniene prezintă perivascularită monocitară la nivelul limitantei internă, chiar tromboze. La animalele la care s-a administrat compoziția conform invenției, se observă că structura histologică a retinei revine la normal, adică dispăre edemul și dilacerarea din structura generală a retinei (Fig. 8). Procesele ciliare sunt formațiuni conjunctive elastice, așezate radial cu un epiteliu în care se găsesc foarte multe vase de sânge (chiar ghemuri). La animalele bolnave și netratate se observă edem și hiperplazia stratului bazal epitelial. La animalele îmbolnăvite și apoi tratate cu comprimate din compoziția conform invenției se observă dispariția edemului și refacerea stratului bazal epitelial. La nivelul cristalinului se observă comparativ cu cristalinul provenit de la animale sănătoase (Fig. 9) infiltrație polimorfo - nucleară neutrofilică în focar (la lotul îmbolnăvit și netratat – cataractă), focare care în unele locuri sunt mari producând liza și dilacerarea organului (Fig. 10). Examinând cristalinul animalelor îmbolnăvite și tratate cu compoziția conform invenției infiltrațiile neutrofilice se resorb, iar cristalinul își recapătă transparența (Fig.11).

Efectul compoziției conform invenției asupra modificărilor renale induse în diabet. În aceleași modele experimentale prezentate anterior au fost prelevate probe renale pentru examenul histopatologic. La animalele sănătoase au fost observați rinichii funcțional normal, iar glomerulii renali sunt funcționali, fiind formați dintr-un ghem de capilare cu mai multe anse (Fig. 12). La nivelul glomerulilor renali la animalele bolnave se constată o tendință de atrofie a ghemului vascular cu hipoplazie a celulelor mezangiului, situație care duce la dilatarea exagerată a spațiului Bowman și edematierea cu început de sclerozare a membranei capsulare Bowman (Fig. 13). În cazul animalelor care

 7



au fost tratate cu compoziția conform invenției s-a observat că glomerulul renal este bine identificat cu capsula Bowman fără procese de fibroscleroză, spațiul Bowman discontinuu, iar ghemul vascular cu celulele mezangiale funcționale delimitând capilarul glomerular permeabil și funcțional (Fig. 14), deci modificările din diabetul experimental subclinic induse prin administrarea de streptozotocină la sobolani, se ameliorează. Studii de ultimă oră (2020), efectuate în colaborare cu colective de cercetare internaționale au demonstrat că prin administrarea compoziției conform invenției aceasta exercită un efect protectiv în modelul experimental de nefropatie diabetică în DZ și previne albuminuria și creșterile permeabilității glomerulare pentru apă, de asemenea previne dezvoltarea fibrozei renale și a lezării endoteliale care se produc în diabetul indus. Studii efectuate pe culturi de podocite au demonstrat că în ceea ce privește microcirculația/permeabilitatea și fibriza, compoziția conform invenției a determinat switch-ul splicingului VEGF-A și determină creșterea expresiei VEGF-A_{165b} și reduce activarea markerilor pro-inflamatori și pro-fibrotici. În plus, componentul antocianic, care este cel mai abundent în compoziția conform invenției, delfinidina, s-a demonstrat că modulează expresia VEGF-A și splicingul prin activarea SRSF6, iar de aici rezultă un efect anti-angiogenic. Recent s-a demonstrat că splicingul alternativ al izoformei VEGF-A_{165b} are un efect terapeutic benefic în ambele modele de nefropatie diabetică (de tip 1 și 2). În concluzie, s-a demonstrat că prin administrarea compoziției conform invenției se produce creșterea permeabilității glomerulare și reducerea fibrozării renale în modelul experimental al nefropatiei diabetice de tip II la șoarece. Unul dintre mecanismele de acțiune, reprezentat de delfinidină, acționează prin switch-ul splicingului VEGF-A în podocitele din cortexul renal. Acest studiu subliniază potentialul efectului terapeutic al compoziției conform invenției în nefropatia diabetică prin manipularea splicing-ului și a expresiei genice.

2. Efecte ale compoziției conform invenției au fost demonstrate în diabetul zaharat tip 1 la copii



Efectul compoziției conform invenției asupra echilibrului metabolic la copii cu diabet zaharat de tip 1. Într-o clinică universitară din țară au fost realizate studii privind influența compoziției fitoterapeutice conform invenției asupra echilibrului metabolic la copii cu diabet zaharat de tip 1. Scopul studiului a fost evaluarea eficienței comprimatelor din compoziția conform invenției asupra echilibrului metabolic la copii diabetici. S-a efectuat un studiu simplu orb controlat placebo pe un lot de copii diabetici cu vârste între 8-18 ani. S-au urmărit, printre altele, hemoglobina glicozilată, dozele de insulină, profilurile glicemice, examenul sumar de urină. Rezultatele obținute arată că media valorilor de hemoglobină glicozilată prezintă o scădere semnificativă (Fig. 15) sub tratament cu compoziția conform invenției ($p < 0,05$), profilul glicemic arată o îmbunătățire semnificativă ($p < 0,005$), majoritatea pacienților (63%) micșorând dozele de insulină datorită episoadelor frecvente de hipoglicemie (Fig. 16). De asemenea, glucozuria s-a diminuat în urma tratamentului cu comprimatele din compoziția conform invenției, diferența fiind la limita semnificației ($p = 0,0609$), iar scăderea cetonuriei este numai moderată, fără semnificație statistică ($p = 0,2629$). Nici un pacient nu a prezentat efecte adverse în urma studiului. Tratamentul cu placebo nu a modificat semnificativ parametrii urmăriți. Concluzia studiului a fost că tratamentul cu comprimatele din compoziția fitoterapeutică, conform invenției, asociat insulinei, are beneficii semnificative asupra echilibrului metabolic la pacienții studiați, fără a prezenta efecte adverse nocive, așadar acest preparat își merită un loc în arsenalul fitoterapeutic al diabetului.

Efectul compoziției conform invenției asupra capacității antioxidante în diabetul zaharat tip 1, la copii. Cercetările au fost efectuate într-o clinică universitară pediatrică pe grupuri de copii la care, pe lângă insulină s-au administrat comprimate din compoziția conform invenției timp de două luni.


8

Muz -

Rezultatele au demonstrat că activitatea superoxid dismutazei (SOD) crește semnificativ ($1260,86 \pm 66,94$ U/g Hb) ($p < 0,05$) la pacienții diabetici, comparativ cu valorile obținute înainte de administrarea tratamentului ($1201,61 \pm 105,63$ U/g Hb). Activitatea glutatation peroxidazei (GPx) crește moderat după administrarea compoziției conform invenției ($43,93 \pm 13,85$ U/g Hb versus $40,80 \pm 9,24$ U/g Hb; $p > 0,05$), iar nivelul hemoglobinei glicate HbA_{1c} a devenit semnificativ mai redus după tratament ($9,22 \pm 1,6$ % versus $10,24 \pm 2,34$ %; $p < 0,05$). De asemenea, s-a determinat concentrația peptidului-C, care arată nivelul de producere a insulinei endogene. Înainte de tratament valorile medii ale peptidului-C au fost $0,044 \pm 0,02$ ng/mL, iar acestea au crescut până la valori semnificative statistic ($p < 0,05$) și anume $0,198 \pm 0,14$ după două luni de tratament. Nivelele reduse ale HbA_{1c} se pot datora efectului regenerativ pe care produsul îl are asupra celulelor β pancreatice, ipoteză susținută și de creșterile semnificative ale valorilor peptidului-C după două luni de administrare a compoziției conform invenției. Hiperglicemia în diabetul zaharat determină stres oxidativ datorită auto-oxidării glucozei și a glicării neenzimatice. Acestea determină scăderea apărării anti-oxidative, respectiv inactivarea SOD prin glicare. După două luni de administrare a compoziției conform invenției s-a înregistrat o creștere semnificativă a nivelelor SOD, ca rezultat al efectelor antioxidante și hipoglicemizante ale produsului. În concluzie, compoziția conform invenției determină creșterea activității antioxidante la copiii cu diabet zaharat tip 1. Compoziția conform invenției este bine tolerată, netoxică și poate fi administrată pe termen lung. Se poate produce hipoglicemie, dar aceasta poate fi controlată prin ajustarea dozelor de insulină.


9


Revendicări:

1. Compoziția fitoterapeutică pentru prevenirea și tratarea diabetului zaharat este caracterizată prin aceea că este constituită din următoarele substanțe biologice active:

39% - 45% concentrat natural din fructe de *Vaccinium myrtillus L* (Afin) din flora spontană, obținut prin procedeul conform invenției care-i păstrează principalele componente active, respectiv pulbere din concentrat din fructe de afin *Vaccinium myrtillus L* (Afin), parte lichidă și parte solidă, obținută în conformitate cu primele patru faze ale procedurii conform invenției, ce conține antociani 0,05 – 0,13 %; taninuri catechice 0,1-0,2%; polifenoli 0,3 – 0,49%; acid glutamic 1,98 – 2,65 %; acid poligalacturonic 2,31 – 3,21 %; acid malic – 0,5-0,7%, vitamina C - 24% din RDA – doza zilnică recomandată; vitamina K - 36% din RDA; vitamina A 50-54 UI; săruri minerale: potasiu, calciu, magneziu, fier și altele între 2,10 – 2,12 %; micronutrienți minerali: mangan (25% din RDA), zinc (0,67 – 0,86 ppm); cupru (0,03 – 0,2 ppm);

2% - 3% concentrat natural din fructe de cătină (*Hippophæ rhamnoides L*) din flora spontană, obținut prin procedeul conform invenției care-i păstrează principalele componente active, obținută în conformitate cu primele cinci faze ale procedurii conform invenției, ce conține vitamina C (aproximativ 400 mg la 100 g) și vitamina E (α -tocoferolul fiind principalul component); flavonoide; carotenoide (1,5 – 18,5 mg / 100 g fructe uscate), reprezentate, în principal de β -caroten, zeaxantină și licopen; aminoacizi; fitosteroli (340–520 mg/kg) și elemente minerale, reprezentate de potasiu (300-380 mg/100 g), mangan (0,28-0,32 mg/100g) și cupru (0,1 mg/100g)

50% - 55% agenți de încărcare: dextroză, amidon, lactoză și gelatină

2%- 4% agenți antiaglomeranți talc și stearat de magneziu

2. Procedeul de obținere a compoziției fitoterapeutice pentru prevenirea și tratarea diabetului zaharat caracterizat prin aceea că este constituit din următoarele faze, în ordine succesivă:

- fructele de afin (*Vaccinium myrtillus L.*) culese din flora spontană, după o inițială sortare și spălare, sunt presate și filtrate într-o hidropresă la 3 bari;

- partea lichidă rezultată după presare se conservă cu părți egale de dextroză iar partea solidă se usucă 48-60 ore până la umiditatea de 10 – 12%;

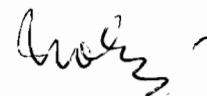

- fructele de cătină (*Hippophæ rhamnoides L*) culese din flora spontană, după o inițială sortare și spălare se mărunțesc și se amestecă proporțional cu dextroză pentru conservare;

- se amestecă proporțional partea lichidă, obținută din fructele de afin cu cea solidă (fructe de afin și cătină) ;

- părțile se reunesc și se mărunțesc prin robot și se cern prin sita nr. 3, pentru îmbogățirea concentratului cu substanțe biologice active;

- concentratul rezultat se amestecă și se granulează în prezența gelatinei, lactozei și amidonului, apoi se usucă din nou;

- granulele care rezultă sunt comprimate în prezența stearatului de magneziu și a talcului după procedee clasice de comprimare a granulării umede pentru obținerea comprimatelor.



ROMANIA - MINISTERUL EDUCATIEI, CERCETĂRII ȘI INOVĂRII
UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "IULIU HAȚIEGANU" CLUJ-NAPOCA

FACULTATEA DE FARMACIE

CATEDRA DE FARMACOGNOZIE

400010 Cluj-Napoca, România
Str. Ion Creangă nr. 12, et. III
tel.: +40 264 595754

www.umfcluj.ro



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

BULETIN DE ANALIZĂ NR. 3 / 30.01.2019

Produsul de analizat: DIAVIT – comprimate

Furnizor: Plantarom Microproducție S.R.L. Cluj-Napoca

Șarja: 04.2018

Parametri

Conținut în antocianozide totale mg/comprimat*: 0.5565

* valoarea reprezintă media a trei determinări

Cluj-Napoca

30.01.2019

Analist,

Conf. dr. DANIELA BENEDEC

Șef de Disciplină

Prof. dr. ILIOARA ONIGA

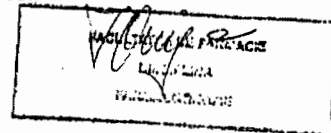


Fig. 1. Conținutul în antocianozide totale conținut în comprimatele de produs conform invenției

[Handwritten signatures]
11
[Handwritten signature]

Tabel 1. Dinamica medie a glicemiei, colesterolului și trigliceridelor

	Martor (M)	Diabet streptozotonic (MBN)	Compoziția conform invenției (DV)	Meguan (M)	Siofor (S)
Glicemia (mg/100 ml)	99,6 ± 1,9	164,5 ± 4,1 $p^x < 0,001$	130,6 ± 3,0 $p < 0,001$	153,5 ± 4,0 n.s.	150,1 ± 4,6 n.s.
Colesterolul (mg/100 ml)	104,3 ± 1,6	119,8 ± 1,2 $p^x < 0,01$	112,0 ± 1,5 $p < 0,01$	117,5 ± 2,0 n.s.	117,8 ± 1,7 n.s.
Trigliceride (mg/100 ml)	44 ± 3,2	85,8 ± 3,5 $p^x < 0,01$	50,2 ± 2,8 $p < 0,001$	63,0 ± 5,1 $p < 0,05$	65,2 ± 2,7 $p < 0,05$

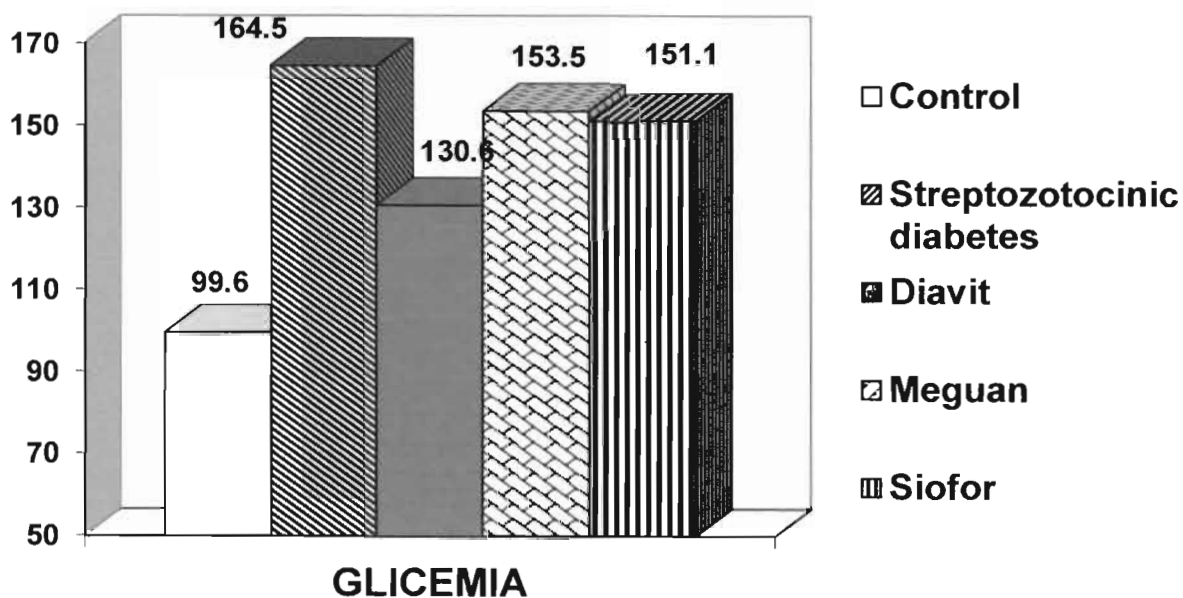


Fig. 2. Reprezentarea grafică a dinamicii glicemiei și deviației standard, la loturile tratate cu compoziția conform invenției Diavit, comparativ cu loturile luate în studiu


 12

Tabel 2. Dinamica transaminazelor, ureei și acidului uric

Lot	GOT U/L	GPT U/L	UREEA mg/100 ml	ACID URIC mg/100 ml
Martor (M)	168±7,5	37,6±3,6	42,0±0,6	1,08±0,1
DIABET STREPTOZOTO CINIC (MBN)	208,0±16 p ^x < 0,01	46,4±3,0 p ^x < 0,05	48,9±0,7 p ^x < 0,01	1,44±0,1 p ^x < 0,01
Compoz. cf inv .(DV)	169,6±5,0 p<0,01	34,6±5,0 p<0,05	45,9±0,5 ns	1,14±0,1 ns
MEGUAN (M)	209,4±8,3 n.s.	43,0±5,2 ns	42,8±0,6	1,26±0,1 ns
SIOFOR (S)	189,4±19 n.s.	46,2±3,2 ns	50,1±0,5 p ^x < 0,01	1,48±0,1 ns

Tabel 3. Dinamica principalilor indici hematologici

Lot	HEMATII x 10 ⁶ /mm ³	LEUCOCITE x 10 ³ /mm ³	TROMBOCITE x 10 ³ /mm ³	HEMOGLOBINA x g/100 ml	HEMATOCRIT %
Martor (MS)	8,3±0,1	7,0±0,3	642±34	14,5±0,2	46,4±0,8
DIABET STREPTOZOTOCINIC (MBN)	7,70±0,1 p ^x < 0,01	9,7±0,2	486±6	13,5±0,2	42,6±0,4 p ^x < 0,01
Compoz. cf inv .(DV)	8,12±0,1	6,82±0,2	522±10	14,7±0,2	45,6±0,4
MEGUAN (M)	8,1±0,2	7,58±0,2	484±12	14,6±0,2	42,6±0,5
SIOFOR (S)	7,14±0,2	9,0±0,4	502±8	14,9±0,1	42,2±0,3



 13

Tabel 4. Evoluția calciemiei, magneziemiei și a masei corporale

Lot	Ca total mEg/L	Mg mEg/L	Greutate corporală
Martor (MS)	4,42±0,2	2,34±0,1	208±7
DIABET STREPTOZOTOCINIC (MBN.)	4,88±0,3 ns	2,30±0,1 ns	159±6
Compoz. cf inv .(DV)	4,76±0,2 ns	2,38±0,2 ns	228±6 p<0,01
MEGUAN (M)	5,18±0,2 ns	2,50±0,1 ns	184±6 p<0,05
SIOFOR (S)	5,18±0,2 ns	2,36±0,1 ns	199±7 p<0,05

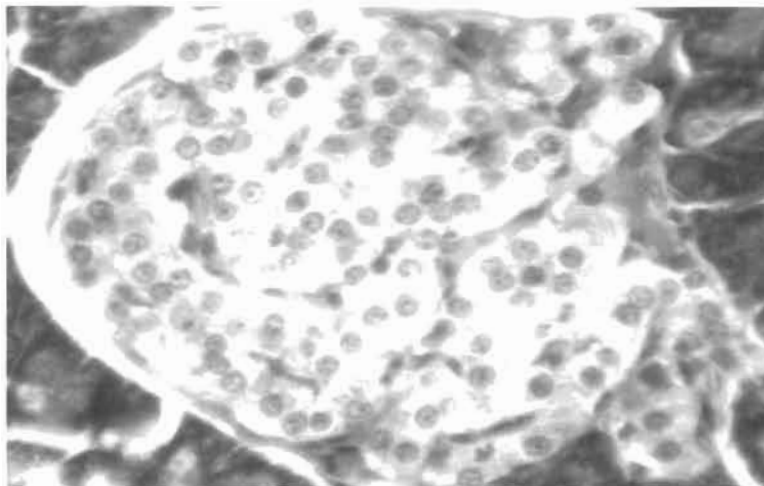




Fig. 3. Pancreas de șobolan (insulă Langerhans) martor sănătos. Celule beta normofuncționale, cu arhitectură pseudolobulară. Col. Tricrom Goldner x40.


 14


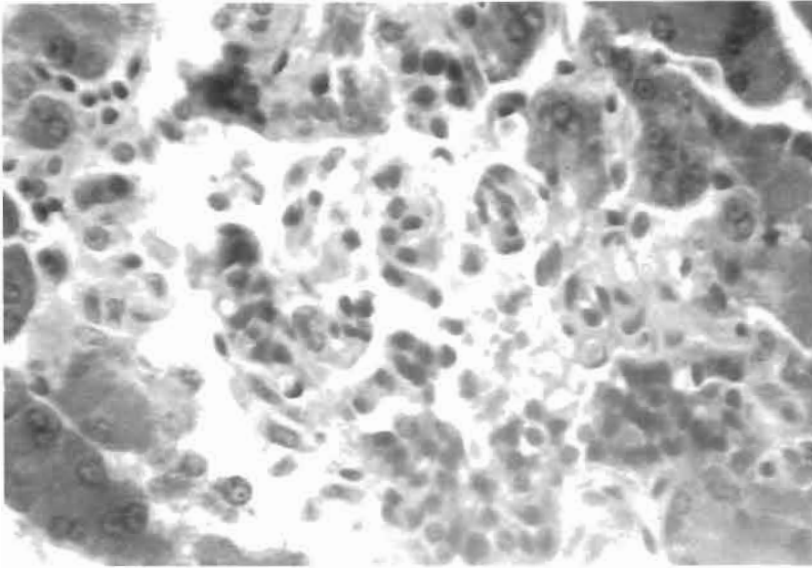


Fig. 4. Pancreas de șobolan (insulă Langerhans). lot experimental cu diabet subclinic indus cu Streptozotocină 5 mg / 100 g masă corporală. Colorat tricromic. Citonecroză, atrofie cu hipofuncție și dereglare a raportului dintre celulele secretoare α și β . Col. Tricrom Goldner x40.

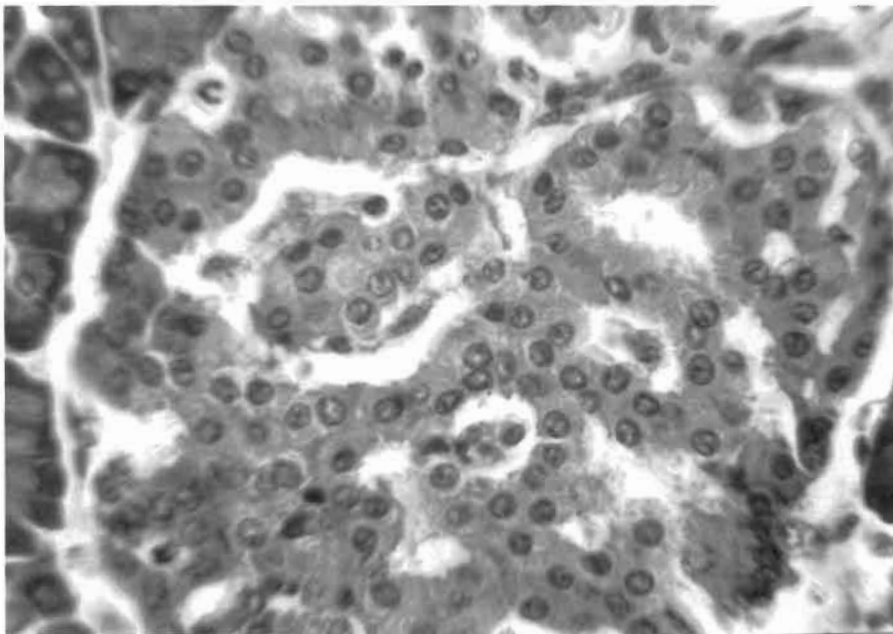


Fig. 5. Lot tratat cu compoziția conform invenției după 3 luni, se observă refacerea integrală a cito-architectonicii specifice insulelor Langerhans normofuncționale. Col. Tricrom Goldner x40.

36



Fig. 6. Retina lot sănătos
Col. Tricrom Goldner x 40

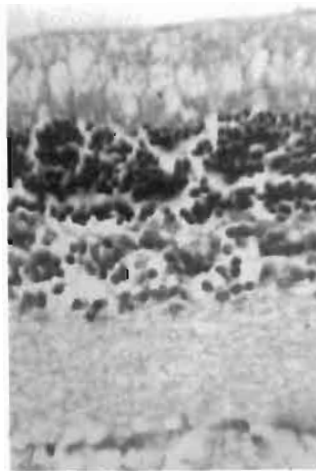


Fig. 7. Retina lot bolnav
Col. Tricrom Goldner x 40

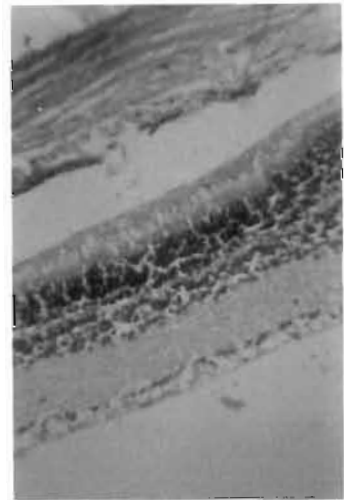


Fig. 8. Retina lot tratat
Col. Tricrom Goldner x 40



Fig. 9. Cristalin lot sănătos
Col. HE x 40

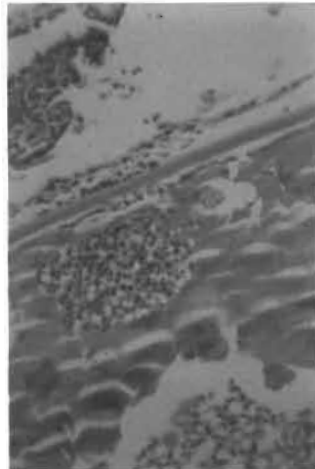


Fig. 10. Cristalin lot bolnav
Col. HE x 40



Fig. 11. Cristalin lot tratat
Col. HE x 40

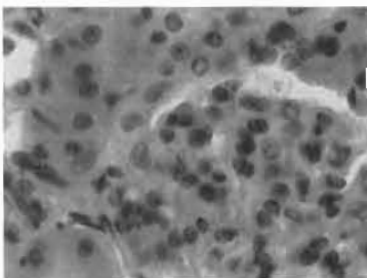


Fig. 12. Glomerul renal lot
sănătos Col. HE x 40

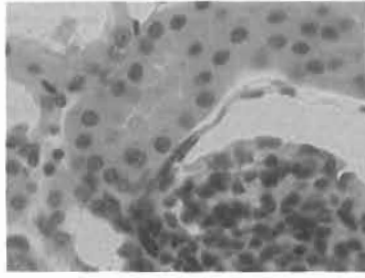


Fig. 13. Glomerul renal lot
bolnav Col. HE x 40

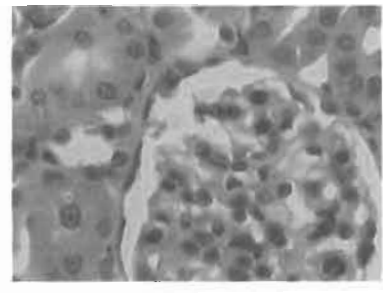


Fig. 14. Glomerul renal lot
tratat Col. HE x 40

Sub
Spus
16
Cristalin

35

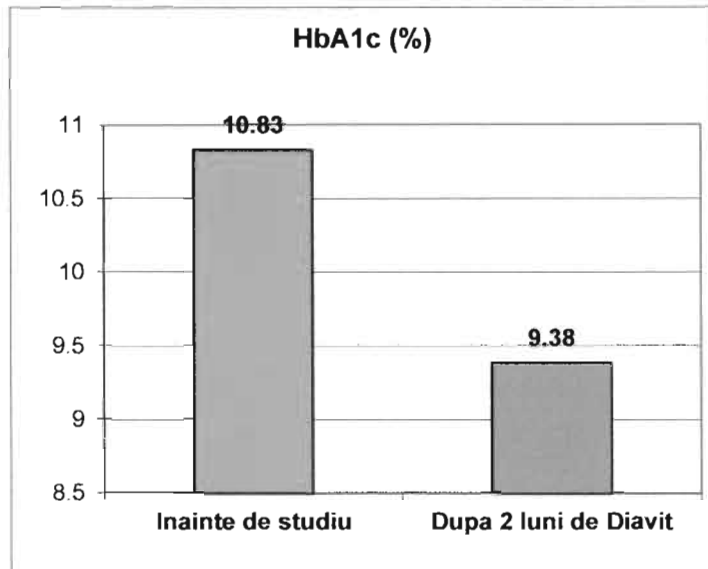


Fig.15. Scăderea valorilor de hemoglobină glicozilată sub tratament cu compoziția conform invenției Diavit

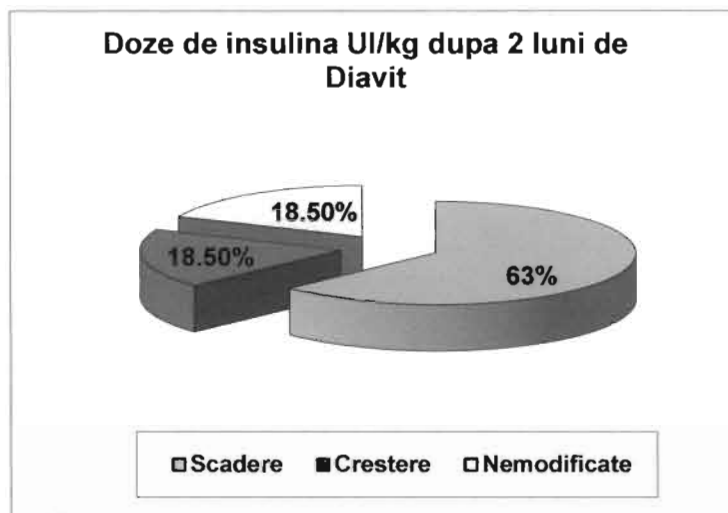


Fig. 16. Modificarea dozelor de insulină în urma tratamentului cu compoziția conform invenției Diavit

[Handwritten signatures]