



MD 4296 C1 2015.03.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4296** (13) **C1**
(51) Int.Cl: **A61K 35/64** (2006.01)
A01K 67/033 (2006.01)
A61K 9/02 (2006.01)
A61P 17/18 (2006.01)
A61P 13/08 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2012 0131 (22) Data depozit: 2012.12.28	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2014.08.31, BOPI nr. 8/2014
(71) Solicitant: CIUHRII Veaceslav, MD (72) Inventator: CIUHRII Veaceslav, MD (73) Titular: CIUHRII Veaceslav, MD	

(54) Preparat din larve de *Tenebrio molitor* cu acțiune antioxidantă, procedeu de obținere a acestuia și produs farmaceutic pe baza lui

(57) Rezumat:

1

Invenția se referă la domeniul farmaceutic, și anume la un preparat din larve de *Tenebrio molitor* cu acțiune antioxidantă, la un procedeu de obținere a acestuia și la un produs farmaceutic pe baza lui.

Preparatul obținut din biomasa larvelor de *Tenebrio molitor*, conform invenției, conține: extract hidroalcoolic liofilizat – 45...80% și ulei de vaselină – restul, și manifestă activitate de inhibiție a peroxidării lipoproteinelor $CI_{50\%}$ de 16 mg/ml și a radicalului oxidului nitric $CI_{50\%}$ de 20 mg/ml.

Procedeu de obținere a preparatului, conform invenției, constă în aceea că se cresc larvele de *Tenebrio molitor* pe un mediu nutritiv artificial, apoi se colectează larvele de

2

ultima vârstă, se spală, se dezinfectează cu raze UV, se congelează-decongelează și se omogenizează. Biomasa omogenizată se extrage hidric timp de 60...90 min, apoi cu etanol de 70%, extractele se concentrează prin evaporare în vid, se combină, se liofilizează și se amestecă cu ulei de vaselină.

Produsul farmaceutic cu acțiune antioxidantă sub formă de supozitoare rectale conține, pentru un supozitor cu masa de 2 g: preparat din larve de *Tenebrio molitor* în ulei de vaselină – 0,25 g și gliceride semisintetice – 1,75 g.

Revendicări: 3

MD 4296 C1 2015.03.31

(54) Preparation from *Tenebrio molitor* larvae with antioxidant activity, process for its preparation and pharmaceutical product on its base

(57) Abstract:

1

The invention relates to the pharmaceutical field, namely to a preparation from *Tenebrio molitor* larvae with antioxidant activity, a process for its preparation and a pharmaceutical product on its base.

The preparation derived from the biomass of *Tenebrio molitor* larvae, according to the invention, comprises: lyophilized hydroalcoholic extract – 45...80% and vaseline oil – the rest, and manifests activity of inhibiting the peroxidation of lipoproteins $IC_{50\%}$ of 16 mg/ml and the nitroxide radical $IC_{50\%}$ of 20 mg/ml.

The process for producing the preparation, according to the invention, consists in that *Tenebrio molitor* larvae are grown on an artificial nutrient medium, then are collected

2

the last age larvae, are washed, disinfected with ultraviolet rays, frozen-thawed and homogenized. From the homogenized biomass is carried out the aqueous extraction for 60...90 min, followed by 70% ethanol extraction, the extracts are concentrated by vacuum evaporation, are combined, lyophilized and mixed with vaseline oil.

The pharmaceutical product with antioxidant activity in the form of rectal suppositories comprises, per one suppository with the mass of 2 g: preparation derived from *Tenebrio molitor* larvae in vaseline oil – 0.25 g and semisynthetic glycerides – 1.75 g

Claims: 3

(54) Препарат из личинок *Tenebrio molitor* с антиоксидантной активностью, способ его получения и фармацевтический продукт на его основе

(57) Реферат:

1

Изобретение относится к фармацевтической области, а именно к препарату из личинок *Tenebrio molitor* с антиоксидантной активностью, к способу его получения и к фармацевтическому продукту на его основе.

Препарат полученный из биомассы личинок *Tenebrio molitor*, согласно изобретению, содержит: лиофилизированный гидроспиртовой экстракт – 45...80% и вазелиновое масло – остальное, и обладает активностью ингибирования перекисного окисления липопротеидов $KI_{50\%}$ в 16 мг/мл и радикала нитроксида $KI_{50\%}$ в 20 мг/мл.

Способ получения препарата, согласно изобретению, состоит в том что личинки *Tenebrio molitor* выращивают на искусственной питательной среде, затем собирают личинки последнего возраста,

2

промывают, дезинфицируют ультрафиолетовыми лучами, замораживают-размораживают и гомогенизируют. Из гомогенизированной биомассы проводят водную экстракцию в течение 60...90 мин, с последующей экстракцией 70%-ным этиловым спиртом, экстракты концентрируют путем вакуумного испарения, комбинируют, лиофилизируют и смешивают с вазелиновым маслом.

Фармацевтический продукт с антиоксидантной активностью в виде ректальных суппозиторий содержит, на один суппозиторий с массой 2 г: препарат полученный из личинок *Tenebrio molitor* в вазелиновом масле – 0,25 г и полусинтетические глицериды – 1,75 г.

П. формулы: 3

Descriere:

Invenția se referă la domeniul farmaceutic, și anume la un preparat din larve de *Tenebrio molitor* cu acțiune antioxidantă, la un procedeu de obținere a acestuia și la un produs farmaceutic pe baza lui.

Procedeele de obținere a preparatelor entomologice care manifestă efect benefic în tratamentul hiperplaziei benigne de prostată includ mai multe etape, principalele fiind: selectarea materiei prime în corespundere cu scopul și destinația preparatului; colectarea materiei prime destinate extragerii substanțelor bioactive; extragerea principiilor de valoare terapeutică din materia primă în condiții care asigură păstrarea structurilor native și a activității înalte a principiilor bioactive componente; fabricarea formelor farmaceutice corespunzătoare destinației preparatului medicamentos.

Este cunoscut un preparat entomologic obținut din pupe și larve de ultima vârstă de *Lymantria dispar* și procedeul de obținere a compoziției farmaceutice sub formă de supozitoare sau ovule, pentru tratarea hemoroizilor, adenomului de prostată, fibromului uterin [1]. Conform sursei indicate, fabricarea compoziției farmaceutice include următoarele etape de lucru: colectarea pupelor și larvelor de ultima vârstă ale omizii păroase a stejarului (*Lymantria dispar*) de pe tulpinile stejarilor și ale plopilor afectați; spălarea materialului biologic și resuspendarea lui în soluție fiziologică; filtrarea și esorarea materialului biologic; opțional – congelarea materialului până la utilizarea ulterioară; măcinarea materialului până la particule de 9...12 μm; filtrarea prin filtrul Bucker cu placă având 200 orificii pe cm²; atomizarea în vid a extractului obținut la temperatura de 130...140°C la intrare și 85...90°C la ieșire sau liofilizarea lui timp de 24...30 ore cu obținerea substanței active pentru producerea formei farmaceutice; fabricarea compoziției farmaceutice ce constă din 1% de substanță biologic activă sub formă de extract de *Lymantria dispar*, 82% de unt de cacao, 10% de apă distilată, 2,68% de helix, 2% de laur, 1,3% de 2-bromo-2-nitropropan, 1% de poligliceril-4 izostearat cetil PEG/PPG dimeticane 10/1 și 0,02% de dial; condiționarea acestei formule prin topirea și omogenizarea amestecului obținut cu temperatura de 60°C și turnarea ei în forme de supozitoare sau ovule și ambalarea lor.

Dezavantajul acestui procedeu constă în aceea că materialul biologic este obținut prin colectare din natură, în așa mod fiind imposibil controlul asupra componenței substanței active. Afară de aceasta, colectarea materialului biologic din natură nu permite de a planifica un anumit volum de producere, fiind dependent de condițiile de mediu și de fluctuațiile numerice ale speciei *Lymantria dispar*.

Mai este cunoscut un preparat entomologic antiinflamator și antioxidant, destinat tratamentului hiperplaziei benigne de prostată, și procedeul de obținere a lui [2]. Conform celor indicate, preparatul entomologic antiinflamator și antioxidant obținut din larve de insecte din ordinul *Lepidoptera*, genul *Lymantria* prin mărunțirea lor în soluție fiziologică până la formarea unei mase omogene, filtrarea acesteia și eliminarea apei prin liofilizare, conține următoarele componente: proteine – 265,0...292,0 mg/g, lipide – 140,0 mg/g, colesterol – 0,1 mg/g, trigliceride – 90,0 mg/g, amilază – 5,1 UI/g, lipază – 100,0 mUI/g, antioxidanți – 16,86 mg/g, aminoacizi esențiali și semiesențiali – 379,7 mg/g. Acțiunea antioxidantă a preparatului este determinată de compușii antioxidanți hidrosolubili și se manifestă prin inhibarea peroxidării lipidelor [2].

Dezavantajul acestui procedeu constă în faptul că nu este indicată procedura de cultivare a insectelor în scopul obținerii biomasei de larve, substanța activă este extrasă cu apă, de aceea preparatul conține doar componente antioxidante hidrosolubile. De asemenea, nu este descrisă tehnologia de fabricare a formei medicamentoase finale, menționându-se doar că forma finală farmaceutică este cea de supozitoare rectale.

Soluția cea mai apropiată o constituie un preparat entomologic obținut din biomasa larvelor de prima vârstă de *Lymantria dispar* prin extracție hidroetanolică. Larvele de *Lymantria* sunt crescute în condiții de laborator pe un mediu din făină de grâu, mălai, masă vegetală uscată, lapte praf, drojdii uscate, glicerol și miere. Biomasa colectată de larve de *Lymantria dispar* de prima vârstă se spală cu 4 volume de apă distilată, repetând procedura de 4 ori. După aceasta biomasa se dispersează timp de 15 min într-o soluție de NaCl, 0,9%. Larvele se congelează. Biomasa congelată se supune decongelării prin aducerea treptată la temperatura camerei. Utilizând un mojar cu cuțite de inox biomasa se amestecă cu viteza de 5000 rot/min și se fărâmițează până la particule cu dimensiuni de 9...12 μm. Masa obținută

este în continuare supusă extragerii principiilor bioactive cu soluție hidroetanolică de 20%. Extragerea durează 60 min în condiții de temperatură constantă (18...20°C) la agitație permanentă pe un agitator orbital cu viteza de rotație de 280 rot/min (alternativ 240...320 rot/min), extractul se separă de biomasă prin filtrare în vid, după care urmează liofilizarea lui. Produsul farmaceutic obținut sub formă de supozitoare rectale conține 60% extract liofilizat [3].

Dezavantajul complexului activ obținut prin extragere hidroetanolică din larve de *Lymantria* constă în faptul că acesta are forma finală de extract liofilizat, procesarea ulterioară a căruia duce la modificarea esențială a activității antioxidante a produsului final.

Dezavantajul procedurii constă în faptul că în calitate de materie primă pentru extragere se utilizează biomasa larvelor de prima vârstă de dimensiuni mici, ceea ce implică scumpirea tehnologiei finale; se efectuează o singură extracție hidroetanolică cu o durată de 60 min, din care cauză rămân nevalorificate unele dintre componentele active ale biomasei; mediul utilizat pentru creșterea larvelor diferă de la o partidă la alta, în special din contul masei vegetale utilizate, iar substanța activă este stocată sub formă de liofilizat.

Dezavantajul produsului farmaceutic constă în aceea că în componența lui intră o cantitate nejustificat de mare de extract liofilizat din larve de *Lymantria*, ceea ce ridică esențial costul produsului final.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui complex entomologic nou care să asigure o activitate antioxidantă specifică înaltă, a unui procedeu de obținere a acestuia, care include realizarea succesivă a tuturor etapelor tehnologice: creșterea insectelor, obținerea extractului total (hidric și etanolic), obținerea complexului entomologic activ, controlul cantității și al calității biomasei obținute prin utilizarea unui mediu nutritiv artificial standardizat și obținerea unui preparat farmaceutic în baza acestui extract cu proprietăți antioxidante performante și eficiente în tratamentul hiperplaziei benigne de prostată.

Esența invenției constă în aceea că se propune un preparat din larve de *Tenebrio molitor* cu acțiune antioxidantă, care conține în % mas: extract hidroalcoolic liofilizat din larve de *Tenebrio molitor* – 45...80% și ulei de vaselină – restul și manifestă activitate de inhibiție a peroxidării lipoproteinelor $CI_{50\%}$ de 16 mg/ml și a radicalului oxidului nitric $CI_{50\%}$ de 20 mg/ml.

De asemenea, se mai revendică un procedeu de obținere a preparatului din larve de *Tenebrio molitor* cu acțiune antioxidantă, care constă în aceea că se cresc larvele de *Tenebrio molitor* pe un mediu nutritiv standardizat cu următoarea componență, în g/kg:

35	extract din porumb galben	86,0...98,0
	extract din porumb roșu	72,0...84,0
	amidon	500,0...540,0
	zaharoză	10,2...12,5
	maltoză	8,0...8,5
40	gleadină	20,0...22,0
	tocoferol acetat (vitamina E)	0,010...0,015
	vitamina C	0,080...0,085
	riboflavină (vitamina B2)	0,0010...0,0015
	pantotenat de calciu (vitamina B5)	0,004...0,008
45	tiamină (vitamina B1)	0,001...0,003
	piridoxină (vitamina B6)	0,005...0,008
	biotină (vitamina B7)	0,001...0,003
	niacină (vitamina B3)	0,0015...0,0020
	$NaNO_3$	0,6...0,8
50	KH_2PO_4	1,2...1,5
	$NaCl$	1,3...1,7
	$CaCl_2$	0,01...0,02
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,005...0,010
	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0,005...0,01
55	$MnSO_4 \cdot 5H_2O$	0,007...0,010
	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0,0007...0,0010
	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	0,010...0,015
	EDTA	0,006...0,007
	apă purificată	300,0...230,0,

ulterior larvele de ultima vârstă se spală, se dezinfectează cu raze UV, se congelează la temperatura de -18°C , se decongelează până la nivelul temperaturii camerei, se omogenizează la viteza de 5000 rot/min până la obținerea particulelor cu dimensiuni de 9...12 μm , se extrage biomasa cu apă distilată în raport masic de 100 g de biomasa uscată la 2,0...2,1 l de apă distilată timp de 60...90 min la temperatura de 18...20°C la agitare pe un agitator orbital cu viteza de rotație de 240...320 rot/min, se separă extractul prin filtrare în vid și se concentrează prin evaporare în vid, biomasa se extrage repetat cu alcool etilic de 70% în raport de 1:5 respectiv în aceleași condiții, se separă extractul prin filtrare în vid, se concentrează prin evaporare în vid la temperatura de 40°C, se combină ambele extracte, se liofilizează și se amestecă cu ulei de vaselină.

Se mai revendică un produs farmaceutic din larve de *Tenebrio molitor* cu acțiune antioxidantă sub formă de supozitoare rectale, care conține pentru un supozitor cu masa de 2 g:

preparat din larve de <i>Tenebrio molitor</i> cu acțiune antioxidantă	0,25 g
gliceride semisintetice	1,75 g

Produsul farmaceutic în baza acestei invenții va conține de la 45 la 80% extract entomologic total, iar în calitate de bază pentru supozitoare poate fi utilizat orice alt tip de material acceptat pentru asemenea produse.

Produsul farmaceutic poate include, de asemenea, extracte vegetale cu proprietăți farmaceutice: *Serenoa repens*, *Cucurbita pepo*, *Pygeum africanum*, *Urtica dioica*, *Xanthium strumarium* etc. și/sau alte substanțe cu efect antioxidant și antiinflamator ori cu acțiuni similare sau complementare, care nu modifică acțiunea componentelor active ale extractului entomologic.

Rezultatul tehnic al invenției, în comparație cu cea mai apropiată soluție, constă în faptul că procedeul de obținere a preparatului medicamentos permite controlul calității și cantității biomasei entomologice obținute, valorifică componența biochimică unică a larvelor de *Tenebrio molitor*, iar aplicarea extracției hidrice și etanolice și combinarea extractelor asigură obținerea substanței active - extract entomologic total liofilizat transferat în ulei de vaselină, cu activitate antioxidantă înaltă (pentru a obține inhibiția oxidării lipoproteinelor cu densitatea joasă la nivel de 50% este suficient de a aplica produsul cu concentrația de 16 mg/ml, iar pentru inhibarea a 50% din radicalii oxidului nitric este nevoie de 20 mg/ml).

Rezultatul tehnic obținut se datorează faptului că procedeul include utilizarea biomasei larvelor de *Tenebrio molitor*, precum și toate etapele tehnologice: creșterea insectelor, obținerea extractului activ, prepararea substanței active și fabricarea preparatului medicamentos, ceea ce permite planificarea atât a cantității, cât și a calității produsului farmaceutic finit. Datorită creșterii insectelor în condiții controlate, partidele de materie primă se caracterizează prin omogenitate și activitate antioxidantă stabilă și reproductibilă. De asemenea rezultatul tehnic se mai datorează faptului că procedeul de extragere a substanțelor active din biomasa entomologică are loc în două etape, ceea ce asigură extragerea atât a compușilor antioxidanți hidrosolubili, cât și a celor liposolubili, ceea ce sporește acțiunea antioxidantă a acestui produs.

Exemplu de realizare a invenției

Creșterea insectelor din specia *Tenebrio molitor* include următoarele etape:

1. Pregătirea condițiilor pentru realizarea ciclului vital în crescătorie. Crescătorie de insecte prezintă camere cu suprafața de 15...20 m^2 . Pereții sunt vopsiți cu o rășină specială care oferă posibilitatea dezinfectării cu soluții dezinfectante. Pe perimetrul camerei sunt amplasate rafturi cu cutii Rubbermaid obscure cu dimensiuni de 35 x 23 x 10 cm, care constau din două compartimente imbricate. Peretele inferior al compartimentului superior reprezintă un ecran de nailon standard nr. 20 (850 μm). Temperatura în crescătorie se menține la 27°C, iar umiditatea la 75%. Se asigură condiții de întuneric.

2. Creșterea insectelor. Insectele mature, în număr de 300...500 indivizi, sunt plasate în compartimentul superior al cutiilor Rubbermaid și hrănite exclusiv cu tărațe de grâu de calitate superioară. Apa este introdusă prin pulverizare de două ori pe săptămână (aproximativ câte 50 ml la o cutie). Odată cu începutul ecloziunii, larvele de prima vârstă trec prin orificiile ecranului și nimeresc în compartimentul inferior al cutiei. Larvele tinere sunt colectate și plasate în cutii Rubbermaid care se deosebesc de primele prin faptul că ecranul de nailon de separare a compartimentelor boxelor are nr. 35 (500 μm). Prin aceste orificii trec excrementele larvelor, acestea fiind păstrate în condiții igienice bune. Larvele sunt crescute timp de 28 zile din momentul ecloziunii, perioadă în care sunt hrănite cu mediu nutritiv standardizat, cu următoarea componență, în g/kg:

	extract din porumb galben	86,0
	extract din porumb roșu	72,0
	amidon	500,0
	zaharoză	10,2
5	maltoză	8,0
	gleadină	20,0
	tocoferol acetat (vitamina E)	0,010
	vitamina C	0,080
	riboflavina (vitamina B2)	0,0010
10	pantotenat de calciu (vitamina B5)	0,004
	tiamină (vitamina B1)	0,001
	piridoxină (vitamina B6)	0,005
	biotină (vitamina B7)	0,001
	niacină (vitamina B3)	0,0015
15	NaNO ₃	0,6
	KH ₂ PO ₄	1,2
	NaCl	1,3
	CaCl ₂	0,01
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,005
20	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,005
	MnSO ₄ ·5H ₂ O	0,007
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,0007
	FeCl ₃ ·6H ₂ O	0,010
	EDTA	0,006
25	apă purificată	300,0.

3. Obținerea extractului pentru produsul farmaceutic din biomasa de larve de ultima vârstă de *Tenebrio molitor*. Biomasa colectată de larve de *Tenebrio molitor* de ultima vârstă se spală cu 4 volume de apă distilată, repetând procedura de 4 ori, apoi biomasa se dezinfectează cu raze UV. După aceasta biomasa se congelează la temperatura de -18°C. În această formă materia primă poate fi păstrată timp de 6 luni și utilizată la necesitate. Decongelarea larvelor se face prin creșterea treptată a temperaturii până la cea a camerei. În continuare biomasa este supusă omogenizării într-un agitator cu cuțite de inox la o viteză de 5000 rot/min, astfel ca particulele obținute să nu depășească dimensiunile de 9...12 μm. Masa obținută este supusă extragerii principiilor bioactive hidrosolubile cu apă distilată.
- 35 Pentru aceasta la 100 g biomasă (recalcul la biomasa absolut uscată) se adaugă 2000 ml de apă distilată. Extragerea durează 60 min. Extractul se obține în condiții de temperatură constantă de 20°C la agitație permanentă pe un agitator orbital cu viteza de rotație de 280 rot/min, se separă de biomasă prin filtrare în vid, după care se produce concentrarea lui prin evaporare în vid până la volumul de 250 ml, apoi urmează extracția cu alcool etilic de 70%
- 40 a componentelor alcool-solubile. Pentru extragere se utilizează biomasa rezultată din prima extracție la care se adaugă 500 ml de alcool etilic de 70%. Extracția se face timp de 60 min în condiții de temperatură constantă de 20°C la agitație permanentă în vase închise pe un agitator orbital cu viteza de rotație de 250 rot/min. Extractul este separat de reziduul de biomasă prin filtrare în vid și este concentrat până la obținerea unui volum de 100 ml prin evaporare în vid. Extractul al doilea este adăugat la primul, iar pentru extractul comun sunt efectuate testele de determinare a activității antioxidante specifice. În cazul dat se aplică
- 45 testul de inhibiție a oxidării lipoproteinelor cu densitatea joasă și cel de inhibiție a radicalului oxidului nitric. Pentru inhibiția oxidării lipoproteinelor la nivel de 50% este suficient de a aplica produsul în concentrația de 16 mg/ml, iar pentru inhibarea a 50% din radicalii oxidului nitric este nevoie de 20 mg/ml. Apoi extractul comun este supus liofilizării cu obținerea rezultatelor următoare: pentru testul de inhibiție a oxidării LDL CI_{50%}=0,15 mg/ml, iar pentru testul de inhibiție a radicalului oxidului nitric CI_{50%}=0,18 mg/m. Extractul total în continuare este liofilizat și condiționat sub formă de complex entomologic activ în ulei de vaselină cu următoarea componență: extract entomologic total
- 50 – 60% și ulei de vaselină – 40%.

4. Prepararea produsului farmaceutic sub formă de supozitoare rectale. Forma preferabilă a preparatului medicamentos în bază de extract entomologic, destinat tratamentului hiperplaziei benigne de prostată, este cea de supozitoare rectale. În calitate de bază pentru supozitoare s-au utilizat gliceridele semisintetice Suppocire. Raportul cantitativ
- 60 în componența supozitoarelor al gliceridelor și al substanței active este de 0,25 g de complex entomologic activ în ulei de vaselină și 1,75 g de Suppocire. Baza pentru

supozitoare este topită pe baie de apă la temperatura de 32...34°C, după care în ea este încorporat complexul entomologic activ în ulei de vaselină prin adăugare treptată și amestecare continuă. Masa de supozitoare obținută este ambalată.

- 5 În calitate de ambalaj primar pentru supozitoare se utilizează blistere din folie de polivinilclorură termoformată alveolar pentru supozitoare de marca PVC 100 alb/PE 30. În urma studiului de stabilitate desfășurat s-a constatat că materialele și modul de ambalare alese asigură stabilitatea produsului medicamentos pe parcursul a 24 luni.

Exemplu de aplicare *in vivo* a produsului farmaceutic sub formă de supozitoare

- 10 Pacientul C.B., 62 ani, diagnosticul stabilit în baza investigațiilor complexe în conformitate cu algoritmul standard recomandat de Convenția Internațională pentru Hiperplazia Benignă de Prostată (HBP) (Paris, 1997) – hiperplazie benignă de prostată, gradul II. Tratament: monoterapie cu supozitoare rectale cu complex activ entomologic (250 mg), un supozitor pe zi timp de 3 luni. Rezultatele investigațiilor efectuate inițial, după o lună și după 3 luni de tratament sunt prezentate în tabel. Pentru comparație sunt aduse
- 15 rezultatele unui studiu analogic pe un grup constituit din 20 pacienți cu vârsta între 54 și 78 ani, diagnosticați cu HBP în lipsa prostatitei cronice, care au fost supuși tratamentului cu supozitoare cu extract din *Lymantria* dispar în regim de monoterapie cu doza de 250 mg/zi, rectal [3].

Tabel

- 20 Dinamica simptomelor HBP la monoterapia cu complex entomologic activ timp de 3 luni

	Parametrul monitorizat, unități de măsură	Inițial	După prima lună de tratament	După 3 luni de tratament	% ameliorare
Invenția propusă	IPSS (<i>International Prostate Symptom Score</i>), puncte	18	16	11	38,8
	Volumul prostatei, cm ³	56	41	35	37,5
	Viteza maximală a jetului de urină, ml/s	8,4	12,0	14,5	72,6
Conform celei mai apropiate soluții	IPSS (<i>International Prostate Symptom Score</i>), puncte	17,8	14,7	12	32,5
	Volumul prostatei, cm ³	42,4	42,9	38,6	8,9
	Viteza maximală a jetului de urină, ml/s	10,3	12,3	13,5	31,1

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. RO 122332 B1 2003.08.25
2. MD 2788 G2 2005.06.30
3. Ciuhrii V. Biotehnologia obținerii formei medicamentoase pentru tratarea hiperplaziei benigne de prostată. Teza de doctor în biologie, Chișinău, 2010, 129 p.

(57) Revendicări:

1. Preparat din larve de *Tenebrio molitor* cu acțiune antioxidantă, care conține în % mas: extract hidroalcoolic liofilizat din larve de *Tenebrio molitor* – 45...80% și ulei de vaselină – restul și manifestă activitate de inhibiție a peroxidării lipoproteinelor $CI_{50\%}$ de 16 mg/ml și a radicalului oxidului nitric $CI_{50\%}$ de 20 mg/ml.

2. Procedeu de obținere a preparatului din larve de *Tenebrio molitor* cu acțiune antioxidantă, definit în revendicarea 1, care constă în aceea că se cresc larvele de *Tenebrio molitor* pe un mediu nutritiv standardizat cu următoarea componență, în g/kg:

extract din porumb galben	86,0...98,0
extract din porumb roșu	72,0...84,0
amidon	500,0...540,0
zaharoză	10,2...12,5
maltoză	8,0...8,5
gleadină	20,0...22,0
tocoferol acetat (vitamina E)	0,010...0,015
vitamina C	0,080...0,085
riboflavină (vitamina B2)	0,0010...0,0015
pantotenat de calciu (vitamina B5)	0,004...0,008
tiamină (vitamina B1)	0,001...0,003
piridoxină (vitamina B6)	0,005...0,008
biotină (vitamina B7)	0,001...0,003
niacină (vitamina B3)	0,0015...0,0020
NaNO ₃	0,6...0,8
KH ₂ PO ₄	1,2...1,5
NaCl	1,3...1,7
CaCl ₂	0,01...0,02
MgSO ₄ *7H ₂ O	0,005...0,010
ZnSO ₄ *7H ₂ O	0,005...0,01
MnSO ₄ *5H ₂ O	0,007...0,010
CuSO ₄ *5H ₂ O	0,0007...0,0010
FeCl ₃ *6H ₂ O	0,010...0,015
EDTA	0,006...0,007
apă purificată	300,0...230,0,

ulterior larvele de ultima vârstă se spală, se dezinfectează cu raze UV, se congelează la temperatura de -18°C, se decongelează până la nivelul temperaturii camerei, se omogenizează în omogenizator la viteza de 5000 rot/min până la obținerea particulelor cu dimensiuni de 9...12 μm, se extrage biomasa cu apă distilată în raport masic de 100 g de biomasă uscată la 2,0...2,1 l de apă distilată timp de 60...90 min la temperatura de 18...20°C la agitare pe un agitator orbital cu viteza de rotație de 240...320 rot/min, se separă extractul prin filtrare în vid și se concentrează prin evaporare în vid, biomasa se extrage repetat cu alcool etilic de 70% în raport de 1:5 respectiv în aceleași condiții, se separă extractul prin filtrare în vid, se concentrează prin evaporare în vid la temperatura de 40°C, se combină ambele extracte, se liofilizează și se amestecă cu ulei de vaselină.

3. Produs farmaceutic din larve de *Tenebrio molitor* cu acțiune antioxidantă sub formă de supozitoare rectale, care conține pentru un supozitor cu masa de 2 g:

preparat din larve de <i>Tenebrio molitor</i> cu acțiune antioxidantă definit în revendicarea 1	0,25 g
gliceride semisintetice	1,75 g

Director Departament:

GUȘAN Ala

Șef Secție:

IUSTIN Viorel

Examinator:

LUPAȘCU Lucian

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2012 0131

(22) Data depozit: 2012.12.28

(71) Solicitant: **CIUHRII Veaceslav, MD**

(54) **Titlul:** Complex activ din larvele de *Tenebrio molitor* în ulei de vaselină, procedeu de obținere a acestuia și produs farmaceutic pe baza lui

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl:** **A61K 35/64** (2006.01) **A61P 17/18** (2006.01)
A01K 67/033 (2006.01) **A61P 13/08** (2006.01)
A61K 9/02 (2006.01)

III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)

MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta): “*tenebrio molitor*”, “*tenebrio molitor* antioxidant”, “*tenebrio molitor* extract”
Int. Cl: **A61K 35/64, A61K 9/02, A01K 67/033, A61P 17/18, A61J 3/08, A61P 13/08**

"Worldwide" (Espacenet, Patentscope): “*tenebrio molitor*”, “*tenebrio molitor* antioxidant”, “*tenebrio molitor* extract and prostate adenoma”
Int. Cl: **A61K 35/64, A61K 9/02, A01K 67/033, A61P 17/18, A61J 3/08, A61P 13/08**

EA, CIS (Eapatis): “*tenebrio molitor*”, “*tenebrio molitor* антиоксидант”, “*tenebrio molitor* экстракт”, “*tenebrio molitor* и аденома простаты”
Int. Cl: **A61K 35/64, A61K 9/02, A01K 67/033, A61P 17/18, A61J 3/08, A61P 13/08**

SU (nonpublic): “*tenebrio molitor*”, “*tenebrio molitor* антиоксидант”, “*tenebrio molitor* экстракт и аденома простаты”
Int. Cl: **A61K 35/64, A61K 9/02, A01K 67/033, A61P 17/18, A61J 3/08, A61P 13/08**

RO-Patent: “*tenebrio molitor*”, “*tenebrio molitor* antioxidant”, “*tenebrio molitor* extract”
Int. Cl: **A61K 35/64, A61K 9/02, A01K 67/033, A61P 17/18, A61J 3/08, A61P 13/08**

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

<http://mt.china-papers.com/?p=115823>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC97521/>

Eigenheera R., Ursula M. Wiehart B., Susan W. Nicolson B., Schoofsc L., Kathleen M. Schegga J., Hull Joe, Schooleya D. Isolation, identification and localization of a second beetle antidiuretic peptide. *Peptides*, 2003, 24, p. 27–34

Gulevskii A.K., Grishchenkova E.A., Relina L.I. Antioxidant system in the darkling beetle *Tenebrio molitor* in ontogenesis. *Ukr. Biokhim. Zh.*, 2006, 78(2), p. 86-90

Gulevsky A.K., Relina L.I., Grishchenkova Y.A. Variations of the antioxidant system during development of the cold-tolerant beetle *Tenebrio molitor*. Cryo Letters, 2006, 27(5), p. 283-290.

He Gui Mei. Extraction, Hydrolysis and Purification of *Tenebrio Molitor* L. Protein and Studies on Antioxidative Activity. Master's thesis, 2011

Zhang Li Jia. Study on Extraction of *Tenebrio Molitor*. Linneus Oil with Aqueous Enzymatic Method and Its Function Properties, Master's thesis, 2010

Chen Xiaoxia, He Bing, Li Hongyu et al. Effects of EP Oil on Blood Lipid Metabolism in Experimental Hyperlipidemia Rats. Academic Journal of Guangdong College of Pharmacy, 1996-02

Li Han-Chen, Ji Zhi Xin, Gao Su-Hong, Liu Shao-Jun. The Nutrition and Health Functions of *Tenebrio molitor* Linneus. Journal of Hebei Normal University of Science & Technology, 2007-03

Huang Qiong, Zhou Zu Ji, Zhou Ding-Gang, Hu Jie, Yang Wei, Yang Chun-Ping. Animal Science and Technology College, Sichuan Agricultural University. Institute of Vocational Pedagogue, Analysis of Nutritional Component of *Tenebrio molitor* (L.) Pupa. Sichuan Journal of Zoology, 2006-04

Zhang Lijia, Zhang Jianxin, Wang Linbin. Optimizing Technique of Extracting *Tenebrio molitor*. Linneus Oil by Aqueous Enzymatic Method. Food and Fermentation Industries, 2010-01

Li Bin et al. The Effect of Fenoxycarb on the Growth and Development of *Tenebrio molitor*. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2009-14

Wu Xiao Nan. Nutritional component of the larvae of *Tenebrio molitor* L. and its control. Entomological Knowledge, 1999-02

Wei Zhao-Jun et al. Compositions, nutritional value and extracting procedure of Silkworm pupae oil. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2007-30

V. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	MD 2764 F1 2005.05.31	1
A	MD 2787 F1 2005.06.30	1
A	MD 2788 F1 2005.06.30	1
A	MD 2789 F1 2005.06.30	1
A	KR 20100032553 A 2010.03.26	1
A	RU 2038086 C1 1995.06.27	1
A	JP 2004155679 A 2004.06.03	1
A	FR 2672605 A1 1992.08.14	1
A	CN 103262940 A 2013.08.28	1
A	CN 102697013 A 2012.10.03	1
A	CN 102422974 A 2012.04.25	1
A	CN 102321147 A 2012.01.18	1
A	CN 102697020 A 2012.10.03	1
A	CN 102726702 A 2012.10.17	1
A	CN 102210407 B 2011.10.12	1
A	CN 101204230 A 2008.06.25	1
A	CN 101199315 B 2008.06.18	1

A	CN 101120701 A 2008.02.13	1
A	KR 1020080103509 A 2008.11.27	1
A	CA 2636194 C 2007.07.19	1
A, D	RO 122332 B1 2003.08.25	3
A, D	MD 2788 G2 2005.06.30	1,2,3
A, D, C	Ciuhrii V. Biotehnologia obtinerii formeii medicamentoase pentru tratarea hiperplaziei benigne de prostata. Teza de doctor in biologie, Chisinau, 2010, 129 p.	1,2,3

* categoriile speciale ale documentelor citate:		
A – document care definește stadiul anterior general	T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidența principiul sau teoria pe care se bazează invenția	
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată	
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet	
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție	
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete	
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri	
Data finalizării documentării		16.05.2014
Examinator		LUPAȘCU Lucian