



(12) **BREVET DE INVENȚIE**

Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată  
în termen de 6 luni de la data publicării

(21) Nr. cerere: **a 2000 00580**

(61) Perfecționare la brevet:  
Nr.

(22) Data de depozit: **06.06.2000**

(62) Divizată din cererea:  
Nr.

(30) Prioritate:

(86) Cerere internațională PCT:  
Nr.

(41) Data publicării cererii:  
**30.04.2002** BOPI nr. **4/2002**

(87) Publicare internațională:  
Nr.

(42) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:  
**28.02.2003** BOPI nr. **2/2003**

(56) Documente din stadiul tehnicii:  
**EP 0574487; 0585549; 0810877**

(45) Data eliberării și publicării brevetului:  
BOPI nr.

(71) Solicitant: **CIUHRII MIRCEA, BUCUREȘTI, RO**

(73) Titular: **CIUHRII MIRCEA, BUCUREȘTI, RO**

(72) Inventatori: **CIUHRII MIRCEA, BUCUREȘTI, RO**

(74) Mandatar:

(54) **SUBSTANȚĂ BIOLOGIC ACTIVĂ, PROCEDURE DE OBTINERE  
A ACESTEIA, UTILIZAREA SUBSTANȚEI BIOLOGIC ACTIVE**

(57) **Rezumat:** Invenția se referă la o substanță biologic activă, la procedeul de obținere a acesteia și la utilizarea substanței biologice active. Substanța biologic activă, conform invenției, conține o proteină cu un conținut de 4,84...7,97% Glu, 4,10...8,45% Fen, 3,76...5,23% Asp, 2,04...4,44% Liz, 1,50...2,79% Tre, 2,72...3,10% Pro, 1,65...3,11% Ala, 1,80...2,54% Val, 1,37...2,59% Izo, 1,41...3,04% Pir, 1,91...3,61% Arg, 0,83...1,17% His, procente fiind exprimate în greutate. Procedeul conform invenției constă în aceea că se colectează ouă și pupe de *Lymantria dispar*, larve de *Leptinotarsa decembriata* și adulți de *Malolonta*

*melolonta*, care se sterilizează, se mărunțesc într-un mojar electric la viteza de 2500...5000 rot/min până se obține o masă omogenă de culoare gri deschis care se filtrează printr-o pânză cu orificii de 200...250 μ, se izolează resturile de țesuturi, se filtrează prin filtrul cu vid până la obținerea unei suspensii gri deschis, care se liofilizează sau se atomizează și se obține o pulbere. Substanța biologic activă se utilizează pentru obținerea unui medicament împotriva infecțiilor hepatice.

Revendicări: 3

RO 118115 B



## RO 118115 B

Invenția se referă la substanță biologic activă, procedeu de obținere a acesteia, utilizarea substanței biologice, destinată tratamentului infecțiilor hepatice.

Până în prezent, hepatitele se tratează numai cu preparatul Intron A - kit (Interferon 2b), care include următorii ingrediente: glicina, fosfat de sodiu dibazic, fosfat de sodiu monobazic și albumina umană. Se mai recomandă preparate naturiste, de tipul LIV-52, silimarina, polivitamine și altele.

Preparatul Intron A - kit (Interferon) care are multe efecte adverse foarte grave: provocarea vomiei, diareei, apariția senzației de slăbiciune, somnolență, amețeală, transpirație, alterarea gustului și a sensibilității generale, insomnia, confuzia, căderea părului, scăderea tensiunii arteriale, scăderea capacității de concentrație, apar dureri abdominale, stări de nervozitate, mâncărimi, dureri de gât, dureri oculare, sângerări nazale, bucale, pierderi în greutate, umflarea feței, dificultăți în respirație, indigestie, scăderea activității sexuale.

LIV - 52, silimarina și polivitaminele sunt preparate de întreținere a organismului, ele nu acționează asupra multiplicării virusurilor.

Problema pe care o rezolvă acest preparat este de a stopa multiplicarea virusurilor hepatitelor de toate tipurile. Substanța biologic activă propusă de către noi include proteine specifice, care blochează asamblarea moleculelor acizilor nucleici, în anvelopele de proteine și astfel acizii nucleici se deteriorează, eliminându-se din organism.

Invenția se referă la o substanță biologic activă care conține o proteină cu un conținut de 4,84...7,97% Glu, 4,10...8,45% Fen, 3,76...5,23% Asp, 2,04...4,44% Liz, 1,50...2,79% Tre, 2,72...3,10% Pro, 1,65...3,11% Ala, 1,80...2,54% Val, 1,37...2,59% Izo, 1,41...3,04% Pir, 1,92...3,61% Arg, 0,83...1,17% His, procentele fiind exprimate în greutate.

Procedeu de obținere a substanței biologice activă constă în aceea că se colectează ouă și pupe de *Lymantria* dispar, larve de *Leptinotarsa decembriata* și adulți de *Malolonta melolonta*, care se sterilizează, se mărunțesc într-un mojar electric, la viteza de 2500-5000 rot/min, până se obține o masă omogenă de culoare gri deschis, care se filtrează printr-o pânză cu orificii de 200 - 250 μ, se izolează resturile de țesuturi, se filtrează prin filtrul cu vid, până la obținerea unei suspensii gri deschis, care se liofilizează sau se atomizează și se obține o pulbere.

Substanța biologic activă se utilizează pentru obținerea unui medicament împotriva infecțiilor hepatice.

Substanța biologic activă are următoarele avantaje:

- nu produce afecțiuni secundare;
- se aplică "per os", ceea ce simplifică cu mult aplicarea lor;
- reglează procesele funcției ficatului;
- lizează nodulii din ficat până la eliminarea lor.

Compoziția chimică a larvelor de *Leptinotarsa decembriata* de ultimă vârstă include următoarele elemente: 14,63% proteine, 4,44% glucide, 1,96% lipide, 8,74% acizi nucleici.

În timpul electroforezei, s-au depistat 14 benzi cu greutatea moleculară de: 79; 76; 71; 60; 57; 55; 48; 40; 38; 32; 25; 24; 22; 20.

Proteine totale (PT) = 43,4 mg/we.

Compoziția chimică a extractelor din pupe include următoarele componente: 15,29% proteine, 1,08% glucide, 13,89% lipide.

În timpul electroforezei se depistează 9 benzi cu greutatea moleculară de 79; 76; 60; 55; 48; 45; 40; 38; 22.

# RO 118115 B

Proteine totale (PT) = 52,4 mg/we

Compoziția chimică a extractelor din ouă include următoarele elemente: 16,08% proteine, 1,52 glucide, 12,00% lipide.

În timpul electroforezei, s-au depistat 12 benzi cu greutatea moleculară de: 79; 76; 73; 60; 57; 55; 48; 45; 40; 38; 22; 20.

Proteine totale (după metoda Lowery) = 54,8 mg/we.

Standardul pentru analizele chimice au fost: 67 kB albumină serică de bovină, 60 kB catalază, 45 kB albumină, 25 kB chimiotripsogen, 12,4 kB citocrom.

Analiza acizilor nucleici din ouă de *Lymantria dispar* a demonstrat prezența următorilor componenți:

Denumirea acizilor nuc.	Conținutul lor în %
Glu	5,12
Fen	4,10
Asp	3,76
Liz	2,93
Tre	1,50
Cer	1,47
Pro	1,72
Cis	1,40
Gli	1,68
Ala	1,65
Val	1,34
Izo	1,37
Leu	1,99
Pir	1,59
Arg	1,92
Tri	1,74
Met	0,49
His	0,75
Amm	0,85

Compoziția extractelor din pupe de *Lymantria dispar* include următorii componenți în procente:

## RO 118115 B

	Denumirea acizilor nuc.	Cantitatea lor în %
	Fen	8,45
	Glu	6,84
85	Asp	5,23
	Leu	3,28
	Pir	3,04
	Liz	3,94
	Tre	2,74
90	Pro	2,95
	Gli	2,26
	Ala	2,87
	Val	2,54
	Izo	2,24
95	Arg	2,60
	Cis	1,43
	Met	0,19
	His	1,42
	Amm	0,93

100

Compoziția extractelor din larve de *Lymantria dispar* include următorii componenți, în procente:

	Denumirea acizilor nucleici	Cantitatea lor în %
105	Glu	4,84
	Fen	4,10
	Asp	3,88
	Pro	2,69
	Gli	2,43
110	Ala	2,59
	Ley	2,45
	Liz	2,04
	Arg	2,25
	Tre	1,35

115

Tabel (continuare)

Denumirea acizilor nucleici	Cantitatea lor în %
Cis	0,67
Val	1,80
Met	0,08
Izo	1,56
Pir	1,41
His	0,83
Amm	0,80
Tri	0,26

120

125

Compoziția extractelor din adulți de *Malolonta melolonta*:

Denumirea acizilor nucleici	Cantitatea lor în %
Asp	5,2078
Fen	6,8912
Liz	4,4479
Glu	7,9745
Arg	3,6127
Pro	3,1073
Tre	2,7976
Ser	2,2374
Val	2,3404
Izo	2,5971
Pir	1,5934
His	1,1779
Ala	3,1169
Amm	1,0119

130

135

140

145

Se dă, mai jos, un exemplu de realizare a invenției.

**Etapa I.** Ouăle de *Lymantria dispar* (omida păroasă a stejarului), se colectează în luna august - septembrie, în vase de plastic, care se transportă în laborator, unde ouăle se spală bine în apă caldă de 35 - 40°C, timp de 15 - 20 min. Se clătesc cu apă bidistilată de 2 - 3 ori până când din apă nu se mai elimină spuma de detergent. Apoi se prelucrează cu alcool etilic 70%, timp de 3 - 5 min., se strivesc cu o instalație special construită, pentru acest scop, care seamănă cu o râșniță sau moară de măcinat. După strivirea ouălor, suspensia se diluează cu apă bidistilată de 2 - 3 ori și se filtrează prin pânze de iavelină și

150

# RO 118115 B

155 filtre speciale. Substanța filtrată se liofilizează sau se atomizează la temperatura de -170...-175°C sau la 160...165°C, la intrare și 65...70°C, la ieșire în cazul doi, obținându-se o pulbere de culoare maronie, care se încapsulează în capsule de gelatină de 0,25 și 0,50 mg și se păstrează la frigider la temperaturi de 0...4°C, până la utilizare.

160 **Etapa II.** În luna iulie, se colectează pupe de *Lymantria dispar* de pe arbori de stejar, plop sau salcie. Colectarea se face în vase de plastic a câte 2 l fiecare.

Pupele se transportă în laborator, unde se păstrează la frigider, la temperaturi de -15...-20°C, până la prelucrare.

165 La început, pupele se spală cu detergent care se adaugă câte 20-25 ml la 2 - 2,5 l de apă caldă la t - 35-40°C, timp de 10 - 15 min, apoi se clătesc de 3 - 4 ori în apa de la robinet de 10...15°C, până se spală detergentul. După aceasta, se spală de 2 - 3 ori cu apă bidistilată până când pupele devin curate și au culoare maronie strălucitoare.

170 Pupele se spală apoi cu alcool de 65...70%, timp de 5 - 10 min și se supun mărunțirii în mojar, timp de 15 - 20 min, până la obținerea unei paste de culoare gri deschis. Masa obținută se diluează de 2 - 3 ori cu apă bidistilată, apoi se filtrează printr-o evelină cu 200 orificii pe 0,8...1,0 cm<sup>2</sup>, apoi prin filtre speciale. Suspensia obținută se liofolozează sau atomizează la temperatura de -170...-175°C, timp de 20...24 h, în primul caz, și la temperaturi de 160...165°C la intrare și 90...95°C la ieșire, în cazul al doilea. Se obține o pulbere de culoare gri deschis, care se conservă în vase speciale, care se păstrează la temperaturi joase de -15...-20°C până la încapsulare.

175 **Etapa III.** În luna mai - iunie se colectează larve de *Leptinotarsa decembriata* (gândacul de Colorado) de pe plantațiile cu cartofi, unde nu se utilizează pesticidele chimice. Colectarea se efectuează în găleți de plastic, prin scuturarea tufelor de cartofi, direct în găleți, apoi se transportă în laborator unde se selectează numai larvele de ultimă vârstă, care nu se mai hrănesc. Larvele se spală bine în apa caldă de 30...35°C, timp de 15 - 20 min, apoi se clătesc de 2 - 3 ori până când nu se mai elimină spuma de detergent din larve. Se spală de 2 - 3 ori în apa bidistilată, până când larvele apar curate și strălucitoare. Se spală încă o dată cu alcool etilic de 70 - 75%, apoi se supun unei mărunțiri în mojar special, până la obținerea unei mase galben deschis. Masa obținută se diluează de 2 - 3 ori cu apă bidistilată, apoi se filtrează printr-o evelină (pânză) și filtru special. Filtratul obținut se liofilizează la temperatura de -170...-175°C sau se atomizează, la temperaturi de 160...165°C la intrare și 90...95°C la ieșire. Pulberea obținută se colectează în vase speciale și apoi se încapsulează în capsule de gelatină, care se păstrează la temperatura -15...-20°C până la utilizare.

180 **Etapa IV.** În luna aprilie - mai se colectează adulții de *Melolonta melolonta* (carabușul de mai) în focare concentrate, de obicei, în ziua când adulții se concentrează pe ramurile arborilor. Sub arbori, se aștern pelicule de plastic, apoi ramurile arborilor se scutură și cărăbușii cad pe peliculă, se strâng în vase de plastic și se transportă în laborator, unde se dezinfectează cu o soluție de detergent de tip pur. La 2 l de apă caldă se pune 15 - 220 ml detergent și se spală timp de 10 - 15 min. Se clătesc în apă curată de 2 - 3 ori până când nu mai apare spuma.

195 Adulții se spală apoi cu alcool de 70...72%, timp de 10 - 15 min. Se spală cu apă bidistilată de 2 - 3 ori și se includ într-un vas special, unde se mărunțesc în mojar, la viteza de 3000...5000 rotații pe min., timp de 10 - 15 min, până la obținerea unei mase omogene de culoare gri deschis. Masa obținută se filtrează printr-o pânză de evelină cu 180...200 orificii pe 1 cm<sup>2</sup>. Masa se trece printr-un filtru special după ce se liofilizează la temperaturi de -170... -173°C sau se atomizează la temperaturi de 160 - 165°C la intrare și 90 - 95°C la ieșire. Pulberea obținută se colectează în vase de sticlă de culoare maronie și se păstrează la temperaturi de -10...-12°C până la încapsulare, care se efectuează în capsule de gelatină de 0,5 mg.

200

După obținerea a patru componente se administrează în felul următor: dimineața, se administrează câte o capsulă din substanța ouă cu 1 h până la micul dejun. După dizolvarea capsulei, pacientul simte o stare de greață. În stomac, se elimină o cantitate mai mare de suc biliar. Uneori apare stare de vomă, dar pentru a evita voma se aplică o bucată de pesmet (pâine prăjită), care absoarbe sucul gastric și senzația de vomă dispare. 205

Seara, se administrează o capsulă cu pulbere obținută din pupe, după care pacientul se culcă pe partea dreaptă și așa doarme. Apare o somnolență și pacientul adoarme până dimineața. A doua zi dimineața, se utilizează o capsulă cu proteină obținută din adulți de *Melolonta melolonta* cu 1-1, 5 h până la micul dejun, după ce stă culcat o oră, pe partea dreaptă. Seara, se aplică o capsulă cu proteine obținute din *Leptinotarsa decembriata*, după ce pacientul adoarme. 210

Tratamentul continuă în cicluri a câte 28 de zile, după care se repetă analizele: prezenta antigenului, transaminazele, electroforeza și ecografia. O dată la 3 luni se face și viremia. 215

De obicei, după tratamentul de o lună, transaminazele se micșorează, globulinele se aduc în limitele normale, ficatul se micșorează. 220

După câteva cicluri de tratament, a câte 28 de zile, dispare și antigenul, iar starea pacientului revine la normal.

### Revendicări

1. Substanță biologic activă, **caracterizată prin aceea că** aceasta conține o proteină cu un conținut de 4,84...7,97% Glu, 4,10...8,45% Fen, 3,76...5,23% Asp, 2,04...4,44% Liz, 1,50...2,79% Tre, 2,72...3,10% Pro, 1,65...3,11% Ala, 1,80...2,54% Val, 1,37...2,59% Izo, 1,41...3,04% Pir, 1,92...3,61% Arg, 0,83...1,17% His, procentele fiind exprimate în greutate. 225

2. Procedeu de obținere a substanței definite în revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că** se colectează ouă și pupe de *Lymantria dispar*, larve de *Leptinotarsa decembriata* și adulți de *Malolonta melolonta* care se sterilizează, se mărunțesc într-un mojar electric la viteza de 2500-5000 rot/min, până se obține o masă omogenă de culoare gri deschis, care se filtrează printr-o pânză cu orificii de 200 - 250 μ, se izolează resturile de țesuturi, se filtrează prin filtrul cu vid până la obținerea unei subspensii gri deschis care se liofilizează sau se atomizează și se obține o pulbere. 230

3. Utilizarea substanței biologic active, definite în revendicarea 1, pentru obținerea unui medicament împotriva infecțiilor hepatice. 235

Președintele comisiei de examinare: **biochim. Crețu Adina**

Examinator: **farm. Anghel Doina**

