

ARTICOL SPECIAL

Preparatele de origine entomologică: ipoteze, mecanisme, perspective

Nicolae Bacinschi

Catedra de farmacologie și farmacologie clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Autor corespondent:

*Nicolae Bacinschi, dr. hab. șt. med., prof. univ.
Catedra de farmacologie și farmacologie clinică
str. Nicolae Testemițanu, 27, blocul didactic nr. 1 „Leonid Cobâleanchi”
Chișinău, Republica Moldova, MD-2025
e-mail: nicolae.bacinschi@usmf.md*

Introducere

Diversitatea biologică pe Pământ a fost estimată între 10 și 30 milioane de specii de vietăți, dintre care insectelor le revine circa 61%, care prin varietatea speciilor constituie o parte intrinsecă a ecosistemelor și asigură funcționalitatea acestora. Numărul speciilor de insecte depășește de două ori biodiversitatea plantelor și microorganismelor împreună, iar circa jumătate din medicamentele existente în prezent pe piață provin din plante sau microorganisme. Astfel, din 939 de medicamente, aprobate între 1961 și 2010, au fost dezvoltate din natură, dar niciunul nu a fost din insecte și doar câteva proveneau din nevertebrate, cum ar fi lipitori, bureți și melci. Dificultățile în identificarea speciilor, toxicitatea medicamentelor, costurile de dezvoltare și producere pe scară largă explică parțial motivul progresului lent în dezvoltarea produselor din insecte ca potențiale medicamente moderne. Din moment ce genomica modernă și tehnicile biochimice de screening au permis progrese notabile în dezvoltarea cercetărilor la nivel molecular s-au inițiat noi direcții de studiu al insectelor. Din aceste considerente s-a estimat că insectele reprezintă o sursă semnificativă neexploată de noi ținte terapeutice cu proprietăți farmacologice foarte variate. Majoritatea insectelor sunt considerate în primul rând, drept dăunători din cauza distrugerii florei și faunei, resurselor umane, transmisiei bolilor, dar există multe specii care oferă omenirii materiale utile (miere, mătase, ceară etc.) sau contribuie la polenizarea culturilor. Insectele, pe parcursul evoluției, au dezvoltat un arsenal imens de compuși activi, pe care îi folosesc pentru a se apăra de dușmani și de boli sau pentru a explora surse alimentare noi. Sarcina principală a constat de a pune aceste substanțe naturale la dispoziția omenirii prin dezvoltarea biotehnologiei insectelor cu un potențial economic considerabil [10, 13, 14, 16, 20, 26].

SPECIAL ARTICLE

Drugs of entomological origin: hypotheses, mechanisms, perspectives

Nicolae Bacinschi

Chair of pharmacology and clinical pharmacology, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Corresponding author:

*Nicolae Bacinschi, PhD, univ. prof.
Chair of pharmacology and clinical pharmacology
Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy
27, Nicolae Testemitanu str., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2025
e-mail: nicolae.bacinschi@usmf.md*

Introduction

The biological diversity of living things on Earth has been estimated between 10 and 30 million creatures, of which about 61% belong to insects, which through the variety of species is an intrinsic part of ecosystems and that make them work. The number of insect species exceeds twice the biodiversity of plants and microorganisms together, and about half of the drugs currently on the market come from plants or microorganisms. Thus, out of 939 drugs, approved during the years – 1961 and 2010, were developed from nature, but none of them were from insects and only a few came from invertebrates, such as leeches, sponges and snails. Difficulties in species identification, drug toxicity, development costs and large-scale production partly explain the reason for the slow progress in the development of insect products as potential modern medicines. Since modern genomics and biochemical screening techniques have allowed remarkable progress in the development of molecular research, new directions of insect study have been initiated. For these reasons, it has been estimated that insects are a significant unexploited source of new therapeutic targets with very varied pharmacological properties. Most insects are considered primarily pests because of destroying flora and fauna, human resources, disease transmission, but there are many species that provide humanity with useful materials (honey, silk, wax etc.) or contribute to crop pollination. Insects, over the course of evolution, have developed a huge arsenal of active compounds, which they use to defend themselves from enemies and diseases or to explore new food sources. The main task was to make these natural substances available to mankind by developing insect biotechnology with considerable economic potential [10, 13, 14, 16, 20, 26].

Descoperiri notorii internaționale

Insectele au fost utilizate pe scară largă în medicina populară, pentru a trata numeroase maladii, inclusiv infecții și cancer. S-a constatat că multe insecte supraviețuiesc în medii cu microorganismele, datorită prezenței unor sisteme de apărare imune înnăscute precum componente celulare și umorale, inclusiv peptidele antimicrobiene (PAM). Peptidele antimicrobiene din insecte au fost cercetate activ de mai bine de 5 decenii, iar în 2011 lucrările care implică aceste molecule au dus la decernarea lui Jules Hoffmann și Bruce A. Beutler Premiului Nobel pentru Fiziologie și Medicină, pentru descoperirea receptorilor Toll și a mecanismelor de activare a imunității înnăscute. Acest lucru a determinat creșterea interesului pentru PAM, care au devenit recent subiectul unor review-uri extinse, dictate de necesitatea de a combate numărul tot mai mare de agenți patogeni rezistenți la antibiotice. [26].

Interesul față de insecte a fost determinat de posibilitatea obținerii din extractele și/sau liofilizatele acestora a unui șir de compuși bioactivi și de produse naturale și/sau derivați sintetici, prin aplicarea tehnologiei moleculare și bioinginerice. În acest context, un interes deosebit prezintă implicarea diferitor substraturi biologice active ale insectelor (lipide, proteine, glucide, enzime, vitamine, antioxidanți, ioni etc.) și produse ce se formează în procesele de morfogeneză și adaptare pentru menținerea homeostaziei și supraviețuirii lor. Cercetările din ultimele decenii au relevat că în insecte se formează o varietate de proteine și peptide cu activitate antibacteriană, antifungică, antivirală, imunomodulatoare, antiinflamatoare, antioxidantă, antitumorală, hepatoprotectoare, antitrombotică, antihipertensivă și detoxicantă, în caz de contact cu agentul microbial sau factorul nefavorabil. Actualmente, sunt cunoscute un șir de peptide din insecte și derivații lor sintetici cu activitate antivirală (cecropina A, melitina, melectina, ponicina, spinigerina și analogi sintetici – alloferonii, omiganan, iseganan, cecropina + magingina), antifungică (heliomicina, tanatina, cecropina A și B, melitina, mecincovine, ponicine, spinigerina, tanucina, holothricina, stomoxina, pilosulina, drosomicina, criptonina, izoxine, galerimicina, defensine, moricina, decarolina etc. și analogii sintetici – Hel-LL, S-tanatina, PAF-26, pexiganan, omiganan, ovispirin, novispirin, novicidin, SK-84, CM-3, MB-21, aloferonii) și antibacteriană (abacina, bactericidina, bombolitina, moricina, defensine, roialisina, sapecine, andropina, apidaecina, hifacina, enbocina, tenecina, acaloleptina, protonectina, himenoptacina, locustina etc.) [7, 8, 12, 13, 14, 18, 26, 31, 32, 34].

Contribuții autohtone

În anii 2002-2003, sub egida D-lui Victor Ghicavii, membru correspondent al AȘM, s-au inițiat colaborările cu D-nul Mircea și Veaceslav Ciuhrii în cercetarea produselor de origine entomologică (entoheptin, imuheptin, imupurin, adenoprosin), obținute din țesuturile de *Lymantria dispar* la diferite etape de dezvoltare. Cercetările experimentale și clinice au fost direcționate în studiul proprietăților antibacteriene, antifungice, antivirale, hepatoprotectoare, imunomodulatoare și antiinflamatoare. Investigațiile pe parcursul a circa 2 decenii s-au soldat cu obținerea a 4 brevete de invenție, înregistrarea în țară a prepa-

Notorious international discoveries

Insects have been widely used in folk medicine to treat many diseases, including infections and cancers. Many insects have been found to survive in environments with microorganisms due to the presence of innate immune defense systems such as cellular and humoral components, including humoral antimicrobial peptides (AMPs). Antimicrobial peptides in insects have been actively researched for more than 5 decades, and in 2011 the work that involved these molecules led to the award of the Nobel Prize in Physiology or Medicine to Jules Hoffmann and Bruce A. Beutler for discovering Toll receptors and activation mechanisms of innate immunity. This work has increased interest in AMPs, which has recently been the subject of in-depth reviews on the need to combat the growing number of antibiotic-resistant pathogens [26].

The interest in insects was determined by the possibility of obtaining from their extracts and / or lyophilisates a series of bioactive compounds and natural products and / or synthetic derivatives by applying molecular and bioengineering technology. In this context, the involvement of various biologically active substrates of insects (lipids, proteins, carbohydrates, enzymes, vitamins, antioxidants, ions etc.) and products that are formed in the processes of morphogenesis and adaptation to maintain homeostasis and their survival is of particular interest. Research in recent decades has shown that inside the insects on contact with the microbial agent or adverse factor is formed a variety of proteins and peptides with antibacterial, antifungal, antiviral, immunomodulatory, anti-inflammatory, antioxidant, antitumor, hepatoprotective, antithrombotic, anti-hypertensive and detoxifying activity. A number of insect peptides and their synthetic derivatives are currently known with antiviral activity (cecropin A, melitin, melectin, ponicin, spinigerin and synthetic analogues – alloferon, omiganan, iseganan, cecropin + magingin), antifungal (heliomycin, tanatin, cecropin A and B, melitin, mecincovine, ponicin, spinigerin, tannin, holothricin, stomoxin, pilosulin, drosomycin, kryptonine, isoxins, galerimycin, defensin, moricin, decaroline etc., and their synthetic analogues – Hel-LL, S-tanatin, PAF-26, pexiganan, omiganan, ovispirin, novispirin, novicidin, SK-84, CM-3, MB-21, allophenones) and antibacterial (abacin, bactericidin, bombolitin, moricin, defensin, roialisine, sapecine, andropine, apidaecine, hyphacine, enbocin, acaloleptin, protonectin, hymenoptacine, locustin etc.) [7, 8, 12, 13, 14, 18, 26, 31, 32, 34].

Local contributions

In the 2002-2003 years, under the aegis of Mr. Victor Ghicavii, corresponding member of the ASM, collaborations were initiated with Mr. Mircea and Veaceslav Ciuhrii in the research of products of entomological origin (entoheptin, imuheptin, imupurin, adenoprosine), obtained from *Lymantria dispar* at different stages of development. Experimental and clinical research has been directed at the study of anti-bacterial, antifungal, antiviral, hepatoprotective, immunomodulatory and anti-inflammatory properties. The investigations over almost 2 decades resulted in obtaining 4 patents, registration in the country of the preparations imupurin, imuheptin and adenoprosine, defending 2 PhD theses (Ina Pogonea, Ludmila David)

ratelor imupurin, imuheptin și adenoprosin, susținerea a 2 teze de doctor în științe medicale (Ina Pogonea, Ludmila David) și unei teze de doctor habilitat în științe medicale (Nicolae Bacinschi), participarea la congrese și conferințe, saloane și expoziții naționale și internaționale, unde au fost obținute 26 medalii. Rezultatele cercetărilor au fost publicate în 1 monografie, 1 recomandare metodică, au fost incluse în calitate de compartimente în 4 manuale, 48 articole și 44 teze și au fost raportate la congrese și conferințe naționale și internaționale (publicațiile).

Studiul proprietăților antimicrobiene *in vitro* a demonstrat că substanțele cercetate (entoheptin, imuheptin și imupurin) nu au manifestat activitate antibacteriană față de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* și *Proteus vulgaris* și antivirală pe tulpinile de virusuri ARN-dependente (poliomielitic vaccinal tip 1, tip 2, tip 3, virusul stomatitei veziculare) și ADN-dependente (virusul herpes simplex tip 1). Testarea activității antifungice *in vitro* a demonstrat o activitate slabă la o concentrație de peste 600 μg/ml față de tulpinile de *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* și *Penicillium* [8].

Screening-ul proprietăților antiinflamatoare ne-a permis să constatăm că preparatele de origine entomologică (entoheptin, imuheptin, imupurin) nu preîntâmpină inflamația, dar posedă o activitate antiinflamatoare comparabilă cu cea a diclofenacului. Involuția edemului a avut loc timp de 24-48 ore de la inducerea inflamației. Substanțele cercetate au manifestat efect antiinflamator la administrarea cu 3-5 zile înaintea inducerii inflamației, în timp ce utilizarea cu 1 oră înainte a determinat o involuție mai lentă și mai puțin manifestată, dar mai importantă decât în lotul de control. Analiza comparativă între potențialul antiinflamator al entoheptinului, imupurinului, imuheptinului și diclofenacului ne-a relevat că entoheptinul posedă cea mai puternică activitate antiinflamatoare, realizând practic vindecarea completă în 48 de ore, după care urmează diclofenacul și imuheptinul. Imupurinul a manifestat cea mai slabă acțiune antiinflamatoare, care era mai intensă decât în lotul animalelor netratate [8, 9].

Studiul influenței preparatelor de origine entomologică asupra proceselor exudative și proliferative ale inflamației subacute, a demonstrat că imuheptinul a intensificat procesele exudative și proliferative, iar imupurinul le-a redus neesențiativ. Imuheptinul și imupurinul au redus procentul neutrofilelor, monocitelor și granulocitelor imature, cu o creștere neesențială a procentului limfocitelor, bazofilelor și eozinofilelor. Imuheptinul a determinat o micșorare a nivelului citokinelor proinflamatorii TNF-alfa, IL-1-beta, IL-6 și antiinflamatorii IL-10. Imupurinul a micșorat nivelul IL-6 și l-a majorat pe cel al IL-10 [19].

Acțiunea hepatoprotectoare a preparatelor de origine entomologică a fost cercetată experimental, pe modele de afecțiuni hepatice toxice (paracetamol, tetraclorura de carbon) și ischemice (fenilefrină), și în investigațiile clinice la pacienții cu hepatite de origine toxică și virală. Pretratamentul cu preparatele entomologice a diminuat eficient hepatotoxicitatea paracetamolului și tetraclorurii de carbon, prin preîntâmpinarea dezvoltării dereglărilor morfologice în ficat, micșorarea sindromului de citoliză, coleastă și de intoxicație endogenă, reducerea stresului oxidativ, menținerea adecvată a proceselor energetice și sintetice. Tratamentul cu preparatele de origine entomolo-

and doctor habilitat in medical sciences (Nicolae Bacinschi), participation in national and international congresses and conferences, salons and exhibitions where 26 medals were obtained. The research results were published in 1 monograph, 1 methodological recommendation, as compartments in 4 textbooks, 48 articles and 44 theses, reported at national and international congresses and conferences (publications).

The *in vitro* study of antimicrobial properties showed that the investigated substances (entoheptin, imuheptin and imupurin) did not show antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Proteus vulgaris* and antiviral on RNA-dependent virus (poliomyelitis vaccine type 1, type 2, type 3, vesicular stomatitis virus) and DNA-dependent (herpes simplex virus type 1). *In vitro* antifungal activity testing showed poor activity at a concentration of over 600 g/ml compared to *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* and *Penicillium* [8].

The screening of the anti-inflammatory properties allowed us to find that the drugs of entomological origin (entoheptin, imuheptin, imupurin) do not prevent inflammation, but had an anti-inflammatory activity comparable to that of diclofenac. The involution of edema occurred for 24-48 hours after the induction of inflammation. The investigated substances showed anti-inflammatory effect when they were administered 3-5 days before induction of inflammation, while use 1 hour before, caused a slower and less obvious involution, but more important than in the control group. The comparative analysis between the anti-inflammatory potential of entoheptin, imuheptin, imupurin and diclofenac revealed that entoheptin possesses the strongest anti-inflammatory activity, achieving complete healing in 48 hours, followed by diclofenac and imuheptin. Imupurin showed the weakest anti-inflammatory action, but it was more intense than in the group of untreated animals [8, 9].

The study of the influence of entomological drugs on the exudative and proliferative processes of subacute inflammation showed that imuheptin intensified the exudative and proliferative processes, and imupurin reduced them insignificantly. Imuheptin and imupurin reduced the percentage of immature neutrophils, monocytes and granulocytes, with a non-essential increase in the percentage of lymphocytes, basophils and eosinophils. Imuheptin decreased the levels of the proinflammatory cytokines TNF-alpha, IL-1-beta, IL-6 and the anti-inflammatory IL-10. Imupurin decreased IL-6 levels and increased IL-10 levels [19].

The hepatoprotective action of drugs of entomological origin has been investigated experimentally, on models of toxic liver diseases (paracetamol, carbon tetrachloride) and ischemic (phenylephrine), and in clinical investigations in patients with hepatitis of toxic and viral origin. Pretreatment with entomological drugs effectively reduced the hepatotoxicity of paracetamol and carbon tetrachloride by preventing the development of morphological disorders in the liver, reducing cytolysis syndrome, cholestasis and endogenous intoxication, correction of oxidative stress, adequate maintenance of energetic and synthetic processes. Treatment with entomological agents in paracetamol-induced toxic liver disease has contributed to the relief of cytolysis and cholestasis syndrome. Imuheptin more effectively influenced cytolysis syndrome and moderate cholesta-

gică, în hepatită toxică indusă de paracetamol, a contribuit la ameliorarea sindromului de citoliză și coleastăz. Imuheptinul a influențat mai eficient sindromul de citoliză și moderat cel de coleastăz, entoheptinul a diminuat mai marcat sindromul de coleastăz și moderat cel de citoliză, iar imupurinul a manifestat eficacitate moderată față de sindromul de citoliză și coleastăz, care devenea mai importantă odată cu creșterea duratei tratamentului. Preparatele entomologice au exercitat acțiuni modulatorie asupra proceselor metabolice (corectarea hiper- sau hipoglicemiei, hipercolesterolemiei și hiperproteinemiei relative) în ficat, în funcție de evoluția și duratăa afecțiunii toxice induse de paracetamol. Tratamentul cu preparatele de origine entomologică a determinat o anihilare a afecțiunii ischemice a ficatului, relevată prin reducerea activității în ser și restabilirea nivelului hepatic a enzimelor citolitice, micșorarea moderată a sindromului de coleastăz și de insuficiență hepatocelulară [5, 8, 33].

Studiile clinice au demonstrat că includerea preparatelor de origine entomologică în tratamentul complex al hepatitelor virale cronice, a contribuit la o ameliorare mai rapidă și mai marcată a tabloului clinic, o anihilare semnificativă a activității transaminazelor, fosfatazei alcaline, gama-glutamyltranspeptidazei, o normalizare a sindromului de coleastăz, o micșorare a proceselor de peroxidare a lipidelor, o amplificare a funcției sintetice a ficatului, o modulare a parametrilor sistemului imun. Tratamentul complex cu preparatele entomologice al pacienților cu hepatite cronice de diferită geneză a contribuit la o ameliorare mai rapidă a sindromului asteno-vegetativ, algic și dispeptic, o diminuare semnificativă a sindromului moderat de citoliză și de coleastăz, a proceselor de peroxidare lipidică, modularea parametrilor sistemului imun, cu restabilirea imunității celulare [3, 4, 6, 8, 23].

Analiza rezultatelor obținute referitoare la proprietățile imunotrope ne relevă că preparatele de origine entomologică studiate au majorat rezistența nespecifică a organismului și au intensificat fagocitoza neutrofilelor și macrofagelor într-o manieră independentă de doză, fapt ce ne vorbește că efectul imunotrop este determinat nu atât de cantitatea substanțelor active, cât de calitatea lor, prezența peptidelor, complexelor lipoproteice, polizaharidelor și altor lizate proteice, care sunt responsabile de stimularea sistemului imun cu inactivarea agenților microbieni. Studiile *in vitro* cu anticorpi monoclonali au demonstrat că imupurinul și imuheptinul cresc nesemnificativ nivelul limfocitelor T (CD3+) și îl micșorează neesențial pe cel al limfocitelor B (CD20+) cu majorarea procentului T-helperilor (CD4+). Analiza indicelui de imunomodulare a demonstrat că imuheptinul și imupurinul posedă acțiuni imunomodulatoare în cazul activității funcționale majorate a neutrofilelor și de stimulare în cazul celei cu grad redus. Entoheptinul a determinat proprietăți stimulatorie asupra activității funcționale a neutrofilelor indiferent de gradul inițial al acestuia. Imupurinul și imuheptinul exercită o acțiune imunomodulatoare asupra imunității celulare relevată prin majorarea limfocitelor T-helperi (CD4), o creștere nesemnificativă a limfocitelor citotoxice (CD8) și a indicelui de imunomodulare [2, 8, 17, 23, 24, 25].

Includerea imupurinului în tratamentul complex al pacienților cu virusul imunodeficienței umane a contribuit la o dinamică pozitivă a numărului limfocitelor T-helperi și a încărcăturii virale, precum și la normalizarea activității ALAT și

sis syndrome, entoheptin decreased more markedly cholestasis syndrome and moderately cytolysis syndrome, and imupurine showed moderate efficacy against cytolysis syndrome and cholestasis, which became more important with increasing treatment duration. Entomological drugs exerted modulatory action on metabolic processes (correction of hyper- or hypoglycemia, hypercholesterolemia and relative hyperproteinemia) in the liver, depending on the evolution and terms of the toxic disease induced by paracetamol. Treatment with entomological agents resulted in the annihilation of ischemic liver disease, revealed by reduced serum activity and the rehabilitation of cytolytic enzymes in the liver, moderate reduction of cholestasis syndrome and hepatocellular insufficiency [5, 8, 33].

Clinical studies have shown that including drugs of entomological origin in the complex treatment of chronic viral hepatitis has contributed to a faster and more marked improvement of the clinical picture, a significant annihilation of transaminases, alkaline phosphatase, gamma-glutamyltranspeptidase, a normalization of cholestasis, a reduction of lipid peroxidation processes, an amplification of the synthetic function of the liver, a modulation of the parameters of the immune system. The complex treatment with entomological preparations of patients with chronic hepatitis of different genesis has contributed to a faster improvement of asteno-vegetative, algic and dyspeptic syndrome, a significant decrease of moderate cytolysis and cholestasis syndrome, lipid peroxidation processes, modulation immune system parameters with the restoration of cellular immunity [3, 4, 6, 8, 23].

The analysis of the obtained results regarding the immunotropic properties reveals that the drugs of entomological origin studied increased the nonspecific resistance of the organism and intensified the phagocytosis of neutrophils and macrophages in a dose-independent manner, which tells us that the immunotropic effect is determined by the active substance, as well as their quality, the presence of peptides, lipoprotein complexes, polysaccharides and other protein lysates are responsible for stimulating the immune system by inactivating microbial agents. *In vitro* studies with monoclonal antibodies have shown that imupurin and imuheptin increase the level of T lymphocytes (CD3+) insignificantly and decrease non-essential B lymphocytes (CD20+) by increasing the percentage of T-helpers (CD4+). Analysis of the immunomodulatory index showed that imuheptin and imupurin possess immunomodulatory action in the case of increased functional activity of neutrophils and stimulation in the case of low-grade neutrophils. Entoheptin determined stimulating properties on the functional activity of neutrophils regardless of its initial degree. Imupurine and imuheptin exert an immunomodulatory action on cellular immunity revealed by increased T-helper lymphocytes (CD4), an insignificant increase in cytotoxic lymphocytes (CD8) and the immunomodulation index [2, 8, 17, 23, 24, 25].

The inclusion of imupurin in the complex treatment of patients with human immunodeficiency virus infection contributed to a positive dynamics of T-helper lymphocyte count and viral load, as well as to normalization of ALAT activity and reduction of thymol sample parameter. The entomological preparation had a beneficial influence on cellular immunity, possibly by restoring the Th1/Th2 balance, with the manifestation of an

reducerea indicilor probei cu timol. Preparatul entomologic a influențat benefic asupra imunității celulare, posibil, prin restabilirea echilibrului Th1/Th2, cu manifestarea unui efect antiviral indirect prin normalizarea profilului citokinelor eliberate de limfocitele T [8, 17, 24].

Oportunități, provocări perspective

Direcțiile de utilizare a insectelor în medicină: (1) studiul substanțelor și principiilor active pentru elaborarea preparatelor medicamentoase; (2) modele pentru studii de farmacocinetică și toxicitate a medicamentelor elaborate; (3) metode de cercetări genetice și obținere a preparatelor recombinante; (4) modelarea patologiilor de diferită genезă cu studiul eficacității substanțelor biologice active.

Studiul substanțelor și principiilor active pentru elaborarea preparatelor medicamentoase

Una din direcțiile de perspectivă prezintă studiul mecanismelor acțiunii antibacteriene, antivirale, antifungice, antitumorale, antiinflamatoare, imunomodulatoare, antioxidante, hipoglicemizante, detoxifiante, hepatoprotectoare, neuroprotectoare, cu scopul elaborării preparatelor noi [15, 26, 27].

În acest context, cercetările s-au axat pe studiul aprofundat al capacității de supraviețuire a insectelor, în condițiile mediului ambiant. Peptidele antimicrobiene constituie o componentă esențială a imunității înnăscute a nevertebratelor, vertebratelor și plantelor. Aceste peptide sunt de obicei, molecule mici, cationice și amfipatice, capabile să interacționeze cu membranele lipidice. Caracterul cationic, format dintr-un număr mare de aminoacizi cationici (arginina, histidina, lizina) și reziduuri hidrofobe, se consideră un factor important responsabil pentru atracția electrostatică a peptidei de o suprafață celulară încărcată negativ, tipică pentru microorganisme. Peptidele antimicrobiene cationice se leagă de reziduurile anionice ale învelișului bacterian extern, care conține lipopolizaharide, caracteristic pentru bacteriile gram-negative și acidul lipoteichoic pentru bacteriile gram-pozitive. Legarea de membrana externă a celulelor bacteriene, spre deosebire de antibiotice, nu implică receptori specifici pentru PAM, astfel încât este mai dificil pentru bacterii să dezvolte mutații și rezistență. Această legare are ca rezultat dereglarea integrității și permeabilității membranei celulare bacteriene externe și moartea microbială. Partea amfipatică, cu regiuni hidrofile și hidrofobe care mediază solubilitatea lor în membranele celulare fosfolipidice este o caracteristică cheie, care determină legarea peptidelor de o membrană celulară țintă. Interacțiunea electrostatică între componentele de suprafață încărcate negativ și moleculele de peptide încărcate pozitiv este o etapă inițială esențială de legare peptidică. Sarcina negativă a celulelor bacteriene este determinată de prezența lipopolizaharidelor (LPS) și acizilor lipoteichoici (LTA), în timp ce suprafața celulelor fungice este adesea acoperită de fosfomanoproteine anionice. Pentru asigurarea toxicității selective a PAM asupra celulelor microbiene este importantă diferența dintre compoziția fosfolipidelor membranare celulare a eucariotelor (neionice, fără încărcătură) și procariotelor (anionice). Interacțiunea PAM cu membranele celulare țintă poate duce la o serie de efecte, precum depolarizarea membranei, creșterea permeabilității membranare, liza și pierderea componentelor intracelulare, provocând în cele din urmă, moartea celulelor. Unele PAM cationice pot traversa membrana celulară și inter-

indirect antiviral effect by normalizing the profile of cytokines released by T lymphocytes [8, 17, 24].

Opportunities, challenges, perspectives

Directions for the use of insects in medicine: (1) the study of active substances and principles for the development of drugs; (2) models for pharmacokinetic and toxicity studies of developed drugs; (3) methods of genetic research and obtaining recombinant drugs; (4) modeling pathologies of different genesis with the study of the efficacy of biologically active substances.

Study of active substances and principles for the elaboration of medicinal preparations

One of the perspective directions presents the study of the mechanisms of antibacterial, antiviral, antifungal, antitumor, anti-inflammatory, immunomodulatory, antioxidant, hypoglycemic, detoxifying, hepatoprotective, neuroprotective action in order to develop new drugs [15, 26, 27].

In this context, the research focused on the in-depth study of the survival capacity of insects in environmental conditions. Antimicrobial peptides are an essential component of innate immunity in invertebrates, vertebrates and plants. These peptides are usually small, cationic and amphipathic molecules capable of interacting with lipid membranes. The cationic character, consisting of a large number of cationic amino acids (arginine, histidine, lysine) and hydrophobic residues, is considered an important factor responsible for the electrostatic attraction of the peptide to a negatively charged cell surface, typical of microorganisms. Cationic antimicrobial peptides bind to anionic residues of the outer bacterial shell, which include lipopolysaccharides of gram-negative bacteria and lipoteichoic acids of gram-positive forms. Binding to the membrane of external bacterial cells, unlike antibiotics, does not involve specific receptors for AMP, so it is more difficult for bacteria to develop mutation and resistance. This binding results in impaired integrity and permeability of the outer bacterial cell membrane and microbial death. The amphipathic part, with hydrophilic and hydrophobic regions that mediate their solubility in phospholipid cell membranes, is a key feature that determines the binding of peptides to a target cell membrane. The electrostatic interaction between the negatively charged surface components and the positively charged peptide molecules is an essential initial step of peptide binding. The negative charge of bacterial cells is determined by the presence of lipopolysaccharides (LPS) and lipoteichoic acids (LTA), while the surface of fungal cells is often covered by anionic phosphomannoproteins. Moreover, differences in the composition of phospholipids between the prospect of prokaryotic and eukaryotic cell membranes resulting in anionic versus uncharged ones are important for the selective toxicity of AMP to microbial cells. AMP interactions with target cell membranes can lead to a number of effects, such as membrane depolarization, increased membrane permeability, lysis, and loss of intracellular components, eventually leading to cell death. Some cationic AMPs can cross the cell membrane and interact with intracellular anionic constituents, such as DNA and RNA [26, 27].

Particular attention is paid to the importance of the components of drugs of entomological origin in achieving beneficial effects. It has been estimated that active compounds such as the essential amino acids arginine, histidine, lysine, methio-

acționa cu constituenții anionici intracelulari, precum ADN și ARN [26, 27].

Atenție deosebită se acordă importanței componentelor preparatelor de origine entomologică, în realizarea efectelor benefice. S-a estimat, că compușii activi, precum aminoacizii esențiali arginina, histidina, lizina, metionina, cisteina și proteinele au și o capacitate antioxidantă, relevată prin capacitatea de reducere a fierului, de absorbție a radicalilor liberi de oxigen și radicalului hidroxil, precum și prin proprietățile de captare a peroxidului de hidrogen. S-a concluzionat că aminoacizii și proteinele inhibă oxidarea lipidelor prin mecanisme programate biologic (enzime antioxidante și proteine de legare a fierului) sau prin mecanisme nespecifice [11, 28].

Studiul acțiunii antiinflamatoare a polenului de albine a demonstrat că extractul etanolic, în comparație cu cel hidric, a manifestat o acțiune mai marcată, relevată prin diminuarea edemului, indus de carrageenan, inhibarea accentuată a COX-2, fără a influența COX-1, și prin diminuarea nivelului de NO prin inhibarea NOS inductibile în concentrații dozodependente. Analiza componentelor extractului etanolic a demonstrat un conținut de flavonoide și glicozide flavonoide quercetină-7-rannozidă, kaempferol-3-glucozidă, izorhamnetin, kaempferol și cvercetină sub formă de aglicone. S-a raportat că acțiunea antiinflamatoare poate fi determinată de flavonoizi, inclusiv cvercetina, care inhibă activitatea enzimelor implicate în metabolizarea acidului arahidonic (fosfolipaza A2, ciclooxigenaza și lipooxigenaza) și în modularea expresiei genice a COX-2, NOS inductibile și mai multor citokine [21].

Extractul etanolic din pupa de vierme de mătase (*Bombyx mori*) în studii experimentale a determinat o reducere a nivelului de glucoză din sânge și la o îmbunătățire a greutății corporale, prin inhibarea expresiei factorului de necroză tumorală TNF- α , proteinei chemoattractante monocitare-1 (MCP-1), fibronectinei (FN) și P38 kinaze activate de mitogeni (p38 MAPK), precum și a majorat nivelul superoxid dismutazei și glutatation peroxidazei. S-au izolat flavonoide, 3 glicozide de cvercetină, 2 glicozide de kaempferol și agliconele lor, precum și flavonoide considerate metaboliți ai viermilor de mătase. Flavonoidele și glicozidele flavonoide au manifestat activitate antioxidantă și hipoglicemiantă. Flavonoidul diosmina poate reduce nivelul glucozei plasmatică și stresul oxidativ, crește expresia enzimelor antioxidante. Flavonoidul rutina poate inhiba stresul oxidativ și preveni acumularea matricei extracelulare în rinichi. Cvercetina poate atenua neuropatia diabetică, datorită proprietăților antiinflamatoare și antioxidante. Extractul etanolic a redus nivelul TNF- α , FN și MCP-1 în rinichi, îngroșarea membranei glomerulare, a împiedicat creșterea matricei glomerulare mesangiale, glomerulului și scleroza locală în nefropatia diabetică experimentală. Concomitent, la nivelul rinichilor s-a restabilit nivelul enzimelor antioxidante și s-a diminuat conținutul dialdehidei malonice. S-a concluzionat, că extractul etanolic din pupa de vierme de mătase poate anihila stresul oxidativ și dezactiva fosforilarea p38 MAPK la șoarecii cu diabet zaharat tip 2 și, astfel, reduce secreția de citokine proinflamatoare și dezvoltarea fibrozei în nefropatia diabetică [29, 30].

Studiul extractelor din lăptișorul de matcă, la șobolanii expuși la cisplatină și tetraclorură de carbon a demonstrat creșterea rezistenței la stresul oxidativ a țesuturilor hepatice

și, cisteine și proteine au și o capacitate antioxidantă, relevată prin capacitatea de reducere a fierului, de absorbție a radicalilor liberi de oxigen și radicalului hidroxil, precum și prin proprietățile de captare a peroxidului de hidrogen. S-a concluzionat că aminoacizii și proteinele inhibă oxidarea lipidelor prin mecanisme programate biologic (enzime antioxidante și proteine de legare a fierului) sau prin mecanisme nespecifice [11, 28].

Studiul acțiunii antiinflamatoare a polenului de albine a demonstrat că extractul etanolic, în comparație cu cel hidric, a manifestat o acțiune mai marcată, relevată prin diminuarea edemului, indus de carrageenan, inhibarea accentuată a COX-2, fără a influența COX-1, și prin diminuarea nivelului de NO prin inhibarea NOS inductibile în concentrații dozodependente. Analiza componentelor extractului etanolic a demonstrat un conținut de flavonoide și flavonoid glicozide: quercetin-7-rannoside, kaempferol-3-glucozide, isorhamnetin, kaempferol și cvercetină în formă de aglicone. S-a raportat că acțiunea antiinflamatoare poate fi determinată de flavonoizi, inclusiv cvercetina, care inhibă activitatea enzimelor implicate în metabolizarea acidului arahidonic (fosfolipaza A2, ciclooxigenaza și lipooxigenaza) și în modularea expresiei genice a COX-2, NOS inductibile și mai multor citokine [21].

Studiul acțiunii antiinflamatoare a polenului de albine a demonstrat că extractul etanolic, în comparație cu cel hidric, a manifestat o acțiune mai marcată, relevată prin diminuarea edemului, indus de carrageenan, inhibarea accentuată a COX-2, fără a influența COX-1, și prin diminuarea nivelului de NO prin inhibarea NOS inductibile în concentrații dozodependente. Analiza componentelor extractului etanolic a demonstrat un conținut de flavonoide și flavonoid glicozide: quercetin-7-rannoside, kaempferol-3-glucozide, isorhamnetin, kaempferol și cvercetină în formă de aglicone. S-a raportat că acțiunea antiinflamatoare poate fi determinată de flavonoizi, inclusiv cvercetina, care inhibă activitatea enzimelor implicate în metabolizarea acidului arahidonic (fosfolipaza A2, ciclooxigenaza și lipooxigenaza) și în modularea expresiei genice a COX-2, NOS inductibile și mai multor citokine [21].

The ethanolic extract from the silkworm pupa (*Bombyx mori*) in experimental studies resulted in a reduction in blood glucose levels and an improvement in body weight by inhibiting the expression of renal tumor necrosis factor TNF- α , the monocyte chemoattractant protein-1, mitogen-activated fibronectin and protein kinase P38, as well as increased levels of superoxide dismutase and glutathione peroxidase. Flavonoids, 3 quercetin glycosides, 2 kaempferol glycosides and their aglycones, and flavonoids considered metabolites of silkworms were isolated. Flavonoids and flavonoid glycosides showed antioxidant and hypoglycemic activity. The flavonoid diosmin can reduce plasma glucose levels and oxidative stress, increase the expression of antioxidant enzymes. Routine flavonoid can inhibit oxidative stress and prevent the accumulation of extracellular matrix in the kidneys. Cvercetin can alleviate diabetic neuropathy due to its anti-inflammatory and antioxidant properties. Ethanolic extract reduced the levels of TNF- α , FN and MCP-1 in the kidneys, thickened glomerular membrane, prevented the growth of mesangial glomerular matrix, glomerular enlargement and local sclerosis in experimental diabetic nephropathy. At the same time, the level of antioxidant enzymes was restored in the kidneys and the content of malonic dialdehyde was decreased. It was concluded that ethanolic extract from silkworm pupa can annihilate oxidative stress and deactivate phosphorylation of mitogenic activated protein kinase P38 in mice with type 2 diabetes and thus reduce the secretion of inflammatory cytokines and the development of fibrosis in diabetic nephropathy [29, 30].

Studiul acțiunii antiinflamatoare a polenului de albine a demonstrat că extractul etanolic, în comparație cu cel hidric, a manifestat o acțiune mai marcată, relevată prin diminuarea edemului, indus de carrageenan, inhibarea accentuată a COX-2, fără a influența COX-1, și prin diminuarea nivelului de NO prin inhibarea NOS inductibile în concentrații dozodependente. Analiza componentelor extractului etanolic a demonstrat un conținut de flavonoide și flavonoid glicozide: quercetin-7-rannoside, kaempferol-3-glucozide, isorhamnetin, kaempferol și cvercetină în formă de aglicone. S-a raportat că acțiunea antiinflamatoare poate fi determinată de flavonoizi, inclusiv cvercetina, care inhibă activitatea enzimelor implicate în metabolizarea acidului arahidonic (fosfolipaza A2, ciclooxigenaza și lipooxigenaza) și în modularea expresiei genice a COX-2, NOS inductibile și mai multor citokine [21].

The study of royal jelly extracts in rats exposed to cisplatin and carbon tetrachloride showed an increase in resistance to oxidative stress in liver and kidney tissues, relevant by decreasing the production of malonic dialdehyde and increasing the concentration of the enzymes antioxidant glutase and redoxase catalase glutathione peroxidase. Similar effects have been reported in radiation-induced lung and liver damage. In the hydrolyzated royal jelly, 29 peptides with antioxidant and healing

și renale, prin scăderea producției de dialdehidă malonică și creșterea concentrației enzimelor antioxidante superoxid dismutazei, catalazei, glutatation reductazei și glutatation peroxidazei. Efecte similare au fost raportate în leziunile pulmonare și hepatice induse de radiații. În hidrolizatul de lăptișor s-au identificat 29 de peptide cu proprietăți antioxidante și cicatrizante, datorate donării atomului de hidrogen din grupa lor hidroxil fenolică [1].

Metode de cercetări genetice și obținere a preparatelor recombinante

Biotehnologia insectelor sau biotehnologia galbenă (datată culorii hemolimfei) a fost definită ca utilizarea insectelor întregi, organelor, celulelor, moleculelor și microbilor simbiotici în domeniile medicinei, agriculturii și industriei. Progresele în biotehnologia insectelor au fost determinate de evoluția biologiei moleculare moderne, în special de dezvoltarea tehnicilor, care au permis secvențierea genomului a numeroase specii de insecte. O etapă importantă în dezvoltarea instrumentelor moleculare noi a fost descoperirea interferenței ARN, care permite eliminarea genelor individuale și a permis entomologilor să studieze funcțiile genelor individuale la insectele vii. Cultivarea insectelor a devenit o strategie nouă și alternativă pentru producția de alimente bogate în proteine, lipide și substanțe bioactive (peptide antimicrobiene), fabricarea de materiale netoxice, biocompatibile și biodegradabile, utile în medicină și industrie. O altă strategie s-a soldat cu descifrarea și elaborarea enzimelor de fuziune a citocromului P450, cunoscute pentru catalizarea reacțiilor de detoxifiere a insecticidelor și sinteza hidrocarburilor, precum și enzime implicate în metabolismul acizilor grași, inclusiv a feromonilor, necesari pentru gestionarea dăunătorilor de insecte. O direcție importantă a constituit formarea de platforme de expresie bazate pe insecte, utilizate pe scară largă în producția de laborator și industrială a proteinelor recombinante [20].

Modele pentru studii de farmacocinetică și toxicitate

Studiile de farmacocinetică și toxicitate (absorbția, distribuția, metabolismul, excreția și toxicitatea) la etapele de cercetare preclinică și clinică sunt adesea dificile. Din cauza parametrilor farmacocinetici prezenți la animale, uneori la locul de acțiune nu ajunge o cantitate suficientă de medicament candidat sau toxicitatea medicamentului nu permite administrarea până la atingerea unei concentrații eficiente terapeutice. Pentru a rezolva aceste probleme accentul s-a concentrat pe insecte ca animale utile în stadiul inițial al studiului de bază pentru a căuta medicamente candidați, care prezintă efecte terapeutice. Deoarece, insectele au diverse avantaje ca animale experimentale, cum ar fi costul de reproducere mai mic, spații reduse pentru creștere și puține probleme etice, cercetătorii pot efectua screening-ul *in vivo* pe scară largă pentru elaborarea de medicamente. Un șir de insecte, precum *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster*, *Galleria mellonella* și *Bombyx mori* sunt frecvent utilizate pentru studiile privind, eficacitatea, farmacocinetica și toxicitatea medicamentelor [22].

Cercetări recente au relevat că viermii de mătase au organe funcțional similare mamiferelor, care afectează farmacocinetica și toxicitatea medicamentelor. Numeroase analize *in vitro* și *in vivo* au relevat că absorbția compușilor din tractul intestinal al viermilor de mătase este similară cu cea la mamifere. Există o

properties were identified due to the donation of the hydrogen atom from their phenolic hydroxyl group [1].

Methods of genetic research and obtaining recombinant drugs

Insect biotechnology or yellow biotechnology (due to the color of the hemolymph) has been defined as the use of whole insects, organs, cells, molecules and symbiotic microbes in the fields of medicine, agriculture and industry. Advances in insect biotechnology have been driven by developments in modern molecular biology, especially the development of techniques that have allowed the genome sequencing of many insect species. An important step in the development of new molecular tools was the discovery of RNA interference, which allows the elimination of individual genes and allowed entomologists to study the functions of individual genes in living insects. Insect cultivation has become a new and alternative strategy for the production of foods rich in protein, lipids and bioactive substances (antimicrobial peptides), the manufacture of non-toxic, biocompatible and biodegradable materials useful in medicine and industry. Another strategy resulted in the decipherment and development of cytochrome P450 fusion enzymes, known to catalyze the detoxification reactions of insecticides and hydrocarbon synthesis, as well as enzymes involved in the metabolism of fatty acids, including pheromones, needed to manage insect pests. An important direction has been the formation of insect-based expression platforms, widely used in the laboratory and industrial production of recombinant proteins [20].

Models for pharmacokinetic and toxicity studies

At the stages of preclinical and clinical research, studies of pharmacokinetics and toxicity (absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity) are often difficult. Problems occur when a sufficient amount of the candidate drug does not reach the site of action in animals due to poor pharmacokinetics or when it is too toxic and cannot be administered until a therapeutically effective concentration is reached. To solve these problems the focus was on insects as useful animals in the initial stage of the basic study to look for candidates for drugs that have therapeutic effects. Because insects have various advantages as experimental animals, such as lower reproduction costs, reduced growing space, and few ethical issues, researchers can perform large-scale *in vivo* screening for drug development. A number of insects, such as *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster*, *Galleria mellonella* and *Bombyx mori*, are commonly used for studies on the efficacy, pharmacokinetics and toxicity of drugs [22].

Recent research has shown that silkworms functionally have similar organs that affect the pharmacokinetics and toxicity of drugs. Many *in vitro* and *in vivo* analyzes have shown that the absorption of compounds from the intestinal tract of silkworms is similar to that in mammals. The availability, volume of distribution, and half-life of antimicrobial agents such as chloramphenicol, tetracycline, vancomycin, rifampicin, miconazole, and fluconazole are closely related to silkworms and mammals. Toxicity studies have shown that the LD50 values of most compounds for silkworms and mammals are similar. The study of detoxification processes of toxic substances showed that in silkworms the enzymes of the cytochrome P-450 system are involved by oxidation with the participation of CYP isoen-

diferență neînsemnată privind, disponibilitatea, volumul de distribuție și timpul de înjumătățire ale agenților antimicrobieni, cum ar fi cloramfenicol, tetraciclină, vancomicină, rifampicină, micafungină și fluconazol la viermii de mătase și mamifere. Studiile de toxicitate au demonstrat că valorile LD₅₀ ale majorității compușilor pentru viermi de mătase și mamifere sunt similare. Studiul proceselor de detoxicare a substanțelor toxice a demonstrat că la viermii de mătase sunt implicate reacțiile de oxidare și conjugare cu participarea CYP, enzimelor sistemului citocromului P-450. Conform acestor constatări, farmacocinetica și toxicitatea compușilor sunt similare la viermii de mătase și mamifere. Se presupune că alte insecte, precum *Drosophila melanogaster* pot avea, de asemenea, sisteme similare, date ce demonstrează că acestea pot fi utile pentru evaluarea eficacității medicamentelor privind farmacocinetica și toxicitatea [22].

Modelarea patologiilor de diferită geneză cu studiul eficacității substanțelor biologice active

Dezvoltarea tratamentelor pentru cancer, maladiile infecțioase și metabolice constituie un obiectiv important, iar modele de boli experimentale sunt necesare pentru dezvoltarea medicamentelor terapeutice. Au fost stabilite multe modele de boli infecțioase, care folosesc ca obiect de studiu insecte, precum nematode, muște, molii și viermi de mătase. Screening-ul *in vivo* pe scară largă a identificat genele de virulență ale agenților patogeni și genele de apărare ale gazdelor. Receptorii Toll, care joacă un rol important în răspunsul imun înăscut al mamiferelor, au fost descoperiți folosind un model de infecție fungică la *Drosophila* și astfel, s-a stabilit importanța cercetărilor pe bază de insecte. Au fost raportate modele de mutant, care prezintă simptome asemănătoare bolii Parkinson la viermii de mătase, iar la *Drosophila* modele de cancer tiroidian cu studiul vandetanibului (agent chimioterapic, utilizat în cancerul tiroidian). Insectele în studiile prin screeningul *in vivo* sunt utilizate în cercetarea agenților pentru tratamentul bolilor infecțioase. Administrarea medicamentelor antimicrobiene au arătat efecte terapeutice la viermii de mătase infectați cu agenți patogeni. Un șir de compuși (lisocina E, nosokomicina etc.) au fost identificați în modele de boli infecțioase la viermi de mătase ca noi agenți antimicrobieni, care urmează să fie aprobați după studiile clinice. Diabetul este cauzat de toxicitatea datorată hiperglicemiei postprandiale și agenții care suprimă hiperglicemia postprandială sunt eficiente în prevenirea și tratamentul diabetului. Screeningul *in vivo*, folosind un model de hiperglicemie postprandială la viermi de mătase, a identificat o bacterie producătoare de acid lactic *Enterococcus faecalis* YM0831, care suprimă hiperglicemia postprandială. În concluzie, modelele de maladii umane care folosesc insecte sunt utile pentru identificarea medicamentelor candidați în screeningul pe scară largă *in vivo*. Cercetări suplimentare privind farmacocinetica și toxicitatea compușilor vor ajuta să înțelegem avantajele utilizării insectelor pentru modele de boli umane, pentru descoperirea medicamentelor noi eficiente și inofensive [22].

Concluzii

Progresele în domeniul de cercetare a etiologiei și patogenezii maladiilor necesită elaborarea de medicamente noi țintite, inclusiv din surse neexplorate. Preparatele de origine entomologică se consideră a fi cea mai de perspectivă direcție și sursă

zymes and conjugation reactions. These findings imply that the pharmacokinetics and toxicity of compounds in silkworms are similar to those in mammals. It is assumed that other insects, such as *Drosophila melanogaster*, may also have similar systems, data demonstrating that they may be useful for assessing the efficacy of drugs in terms of pharmacokinetics and toxicity [22].

Modeling of pathologies of different genesis with the study of the efficacy of biologically active substances

The development of treatments for cancer, infectious and metabolic diseases is an important goal, and for the development of therapeutic drugs are needed models of experimental diseases. Many patterns of infections have been established that use insects as objects, such as nematodes, flies, moths and silkworms. Large-scale *in vivo* screening identified the virulence genes of the pathogens and the defense genes of the hosts. Toll receptors were discovered using a pattern of fungal infection in *Drosophila* that plays important roles in the innate immune response of mammals and thus established the importance of insect-based research. Models of mutants with Parkinson's disease-like symptoms have been reported in silkworms, and in *Drosophila* thyroid cancer pattern with the study of vandetanib. Insects in *in vivo* screening studies are used in research for agents for the treatment of infectious diseases. The administration of antimicrobial drugs has shown therapeutic effects in silkworms infected with pathogens. A number of compounds (lysocin E, nosokomicin etc.) have been identified in silkworm infection patterns as new antimicrobial agents, to be approved after clinical trials. Diabetes is caused by toxicity due to postprandial hyperglycemia and agents that suppress postprandial hyperglycemia are effective in the prevention and treatment of diabetes. *In vivo* screening, using a pattern of postprandial hyperglycemia in silkworms, identified *Enterococcus faecalis* YM0831 as a functional lactate bacterium that suppresses postprandial hyperglycemia. In conclusion, human disease models using insects are useful for identifying drug candidates in large-scale *in vivo* screening. Further research on the pharmacokinetics and toxicity of compounds will help us understand the benefits of using insect models of human disease to discover new effective and harmless drugs [22].

Conclusions

Advances in research into the etiology and pathogenesis of disease require the development of new targeted drugs, including from unexplored sources. Drugs of entomological origin are considered to be the most promising direction and source of biologically active substances with various properties. Research in this field will focus on the study of the composition of entomological products, the development of synthetic analogues, the elucidation of pharmacological properties and efficacy on models of diseases and pathological conditions modeled on the same insects. The analysis of insect metamorphosis at different stages of development, the elaboration of methods and techniques for the separation of active compounds, the studies of pharmacokinetics, pharmacogenetics and toxicology will ensure the development of entomotherapy, used in folk medicine, through valuable scientific arguments.

de substanțe biologice active cu proprietăți variate. Cercetările în acest domeniu se vor axa pe studiul componenței produselor entomologice, elaborarea analogilor sintetici, elucidarea proprietăților farmacologice și eficacității pe modele de maladii și stări patologice modelate pe aceleași insecte. Analiza metamorfozei insectelor la diferite etape de dezvoltare, elaborarea metodelor și tehnicilor de separare a compușilor activi, studiile de farmacocinetică, farmacogenetică și toxicologie vor asigura dezvoltarea entomoterapiei, utilizată în medicina populară, prin argumente științifice de valoare.

Referințe / references

- Ahmad S., Campos M., Fratini F., Altaye S., Li J. New insights into the biological and pharmaceutical properties of Royal Jelly. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020; 21 (2): 382.
- Bacinschi N. Preparate entomologice cu proprietăți imunotrope. *Curierul medical*, 2010; 6 (318): 3-8.
- Bacinschi N., Ghicavii V., Butorov V., Pogonea I. Eficacitatea preparatelor entomologice în tratamentul complex al hepatitelor de diferită etiologie. *Curierul medical*, 2010; 3 (315): 81-84.
- Bacinschi N., Ghicavii V., Dumbrava V-T., Pogonea I. Preparatele entomologice în tratamentul complex al hepatitei virale cronice. *Curierul medical*, 2011; Chișinău, 6 (324): 6-10.
- Bacinschi N. Hepatoprotectoare entomologice. Chișinău, 2012, 312 p.
- Bacinschi N. Eficacitatea preparatelor entomologice în hepatita virală cronică. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei*, Chișinău, 2012; 1 (33): 210-214.
- Bacinschi N., Ghicavii V., Pogonea I. Peptide din insecte – sursă de preparate cu acțiune antimicrobiană. *Academos*, 2013; 4 (31): 94-99.
- Bacinschi N. Farmacologia preparatelor entomologice și utilizarea lor rațională. Teza de doctor habilitat în științe medicale. Chișinău, 2013, 275 p.
- Bacinschi N., Guțu I., Ghicavii V., Pogonea I., Catcov C. Antiinflammatory action of the entomological drugs. *British Medical Bulletin*, 2016; 1 231-238.
- Bairagi S. Insects with potential medicinal significance: a review. *Bio-medical Journal of Scientific & Technical Research*, 2019; 16 (3): 12024-12027.
- Barbehenn R., Niewiadomski J., Kochmanski J., Constabel C. Limited effect of reactive oxygen species on the composition of susceptible essential amino acids in the midguts of *Lymantria dispar* caterpillars. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.*, 2012; 81 (3): 160-177.
- Chernysh S., Irina K., Irina A. Anti-tumor activity of immunomodulatory peptide alloferon-1 in mouse tumor transplantation model. *Int. Immunopharmacol.*, 2012 Jan., 12 (1): 312-314.
- Ciuhrii M., Vernescu S. Entomologia la finele secolului XX. Dezvoltarea în pragul mileniului III. Lucrările celui de-al II-lea Congres. București, 1999; p. 560-567.
- Ciuhrii M. Terapii complementare noi bazate pe substanțe biologice active extrase din insecte. Priorități în dezvoltarea biotehnologiei românești. Lucrările simpozionului, Târgoviște, 2002, p. 96-103.
- Cytryńska M., Rahnamaeian M., Zdybicka-Barabas A. *et al.* Proline-rich antimicrobial peptides medicinal maggots of *Lucilia sericata* Interact with bacterial DnaK but do not inhibit protein synthesis. *Front Pharmacol*, 2020; 11: 532.
- Dimarcq J-L., Hunneyball I. Pharma-entomology: when bugs become drug. *Drug Discov. Today*. 2003 Feb. 8 (3): 107-10.
- Ghicavii V., Pogonea I., Bacinschi N., Pântea V., Dumbrava V-T., Ghinda S., Andrieș L., Mușet Gh. Optimizarea tratamentului complex al unor imunodeficiențe. Recomandare practică. 2011 23 p.
- Ghicavii V., Pogonea I., Bacinschi N., Andrieș L. Entomoterapia – o strategie nouă în medicină. *Farmacist.ro*, 2011, 2, anul VIII, nr. 139, p. 34-39.
- Guțu I., Corețchi I., Catcov C., Bacinschi N. Influența preparatelor de origine entomologică asupra proceselor exsudative și proliferative ale inflamației. *Sănătate Publică, economie și Management în medicină*, 2020; 1 (83): 53-59.
- Hoffmann K. Insect biotechnology – a major challenge in the 21st century. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2017; 72 (9-10): 335-336.
- Maruyama H., Sakamoto T., Araki Y., Hara H. Anti-inflammatory effect of bee pollen ethanol extract from *Cistus sp.* of Spanish on carrageenan-induced rat hind paw edema. *BMC Complement Altern Med.*, 2010; 10: 30.
- Matsumoto Y. Facilitating drug discovery in human disease models using insects. *Biol. Pharm. Bull.*, 2020; 43 (2): 216-220.
- Pântea V. Hepatitele virale C, B și D acute și cronice. Chișinău, 2011, 104 p.
- Pogonea I., Ghicavii V., Bacinschi N. Noi remedii entomologice în tratamentul imunodeficiențelor. *Medic.ro*, 2012; 3 (82): 30-34.
- Pogonea I. Inofensivitatea și aspectele farmacologice ale preparatului entomologic – imupurin. Teza de doctor în științe medicale. Chișinău, 2009, 126 p.
- Ratcliffe N., Azambuja P., Mello C. Recent advances in developing insect natural products as potential modern day medicines. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014; 904958.
- Sowa-Jasiełk A., Zdybicka-Barabas A., Szaćzek S. *et al.* Antifungal activity of anionic defense peptides: insight into the action of *Galleria mellonella* anionic peptide 2. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020; 21 (6): 1912.
- Tang Y., Debnath T., Choi E.-J. *et al.* Changes in the amino acid profiles and free radical scavenging activities of *Tenebrio molitor* larvae following enzymatic hydrolysis. *PLoS ONE*, 2018; 13 (5): e0196218.
- Zhang Y., Dong Z., Zhao D. *et al.* Comparison of chemical constituents of wild silkworm cocoon and domestic silkworm cocoon by UH-PLC-MS technology. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*, 2019; 35 (8): 1546-1556.
- Wang H., Zhao J., Wei Z., Zhang Y. The renal protection of flavonoid-rich ethanolic extract from silkworm green cocoon involves in inhibiting TNF- α -p38 MAP kinase signalling pathway in type 2 diabetic mice. *Biomed Pharmacother*, 2019; 118: 109379.
- Ершов Ф.И. и др. Применение аллокина-альфа в терапии вирусных инфекций. Москва – Санкт-Петербург, 2008, 115 с.
- Гикавий В.И., Бачинский Н.Г., Погоня И.Н. Фармакологические эффекты энтомологических препаратов. «Клиническая фармакология в Республике Беларусь-25 лет» Материалы научно-практической конференции с международным участием, 19-20 марта Минск. «Равнодействие», 2010б с. 57-61.
- Гикавий В.И., Бачинский Н.Г., Погоня И.Н. Изучение гепатопротекторных свойств энтомологических препаратов. Клиническая фармакология и терапия. Вторая Международная конференция «Информация о лекарственных средствах – качественному использованию лекарств». Казань, 15-16 октября 2010, №. 6 стр. 254-257.
- Черныш С.И., Гордя Н.А. Иммунная система личинок *Callphora vicina* (Diptera, Callphoridae) как источник лекарственных веществ. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*, 2011, т. 47, № 6, с. 444-452.