



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2010 01009

(22) Data de depozit: 25.10.2010

(41) Data publicării cererii:
30.05.2012 BOPI nr. 5/2012

(71) Solicitant:
• BIOTEHNOS S.A., STR. GORUNULUI
NR. 3-5, OTOPENI, IF, RO

(72) Inventatori:
• CONSTANTINOVICI MARIANA,
SAT BALDANA NR.193, TÂRTĂȘEȘTI, DB,
RO;

• OLARIU LAURA, BD.ION MIHALACHE
NR.42-52, BL.35, SC.B, ET.10, AP.79,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
• PLUGARU VASILE, CALEA GRIVIȚEI
NR.138, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
• DRUMEA VERONICA, STR. UNIRII NR.15,
BRĂNEȘTI, IF, RO

(54) **PROCEDEU PENTRU OBTINEREA UNEI MATERII PRIME
VEGETALE, STANDARDIZATĂ ÎN CONȚINUT DE ACIZI
TRITERPENICI, UTILIZABILĂ ÎN INDUSTRIA
FARMACEUTICĂ ȘI COSMETICĂ**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere unui produs vegetal pentru industria farmaceutică. Procedeu conform invenției constă din tratarea plantelor *Salviae officinalis*, *Ocimum basilicum* și *Satureja hortensis* cu apă structurată și cu un biopreparat pe bază de *Tagetes patula*, și stabilirea fenofazelor optime de recoltare de tip F1...F5, ale acestora, prin analiză

spectrofotometrică UV-VIS și cromatografie lichidă de înaltă performanță, astfel că produsul obținut din fenofaza 4 prezintă un conținut de acizi triterpenici de 2,51% în greutate.

Revendicări: 4





(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2010 01009

(22) Data de depozit: 25.10.2010

(41) Data publicării cererii:
30.05.2012 BOPI nr. 5/2012

(71) Solicitant:
• BIOTEHNOS S.A., STR. GORUNULUI
NR. 3-5, OTOPENI, IF, RO

(72) Inventatori:
• CONSTANTINOVICI MARIANA,
SAT BALDANA NR.193, TÂRTĂȘEȘTI, DB,
RO;

• OLARIU LAURA, BD.ION MIHALACHE
NR.42-52, BL.35, SC.B, ET.10, AP.79,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
• PLUGARU VASILE, CALEA GRIVIȚEI
NR.138, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
• DRUMEA VERONICA, STR. UNIRII NR.15,
BRĂNEȘTI, IF, RO

(54) **PROCEDEU PENTRU OBTINEREA UNEI MATERII PRIME
VEGETALE, STANDARDIZATĂ ÎN CONȚINUT DE ACIZI
TRITERPENICI, UTILIZABILĂ ÎN INDUSTRIA
FARMACEUTICĂ ȘI COSMETICĂ**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere unui produs vegetal pentru industria farmaceutică. Procedeuul conform invenției constă din tratarea plantelor *Salviae officinalis*, *Ocimum basilicum* și *Satureja hortensis* cu apă structurată și cu un biopreparat pe bază de *Tagetes patula*, și stabilirea fenofazelor optime de recoltare de tip F1...F5, ale acestora, prin analiză

spectrofotometrică UV-VIS și cromatografie lichidă de înaltă performanță, astfel că produsul obținut din fenofaza 4 prezintă un conținut de acizi triterpenici de 2,51% în greutate.

Revendicări: 4



PROCEDEU PENTRU OBTINEREA UNEI MATERII PRIME VEGETALE STANDARDIZATE ÎN CONȚINUT DE ACIZI TRITERPENICI UTILIZABILĂ ÎN INDUSTRIA FARMACEUTICĂ ȘI COSMETICĂ

Invenția se referă la un procedeu pentru obținerea unei materii prime vegetale standardizate în conținut de acizi triterpenici utilizând specii de plante cu un conținut ridicat în acești compuși, respectiv *Salviae officinalis*, *Ocimum basilicum* și *Satureja hortensis*, prin aplicarea de soluții de tip bazic activate – apă structurată tip „S” - ca agent de stimulare și a unui biopreparat pe baza de *Tagetes patula* pentru combaterea bolilor și daunătorilor, urmata de stabilirea unor fenofaze optime de recoltare, caracteristice fiecărei specii de plantă.

Acizii triterpenici constituie o clasă de compuși naturali valoroși, fiind componenți activi majoritari în numeroase specii de plante medicinale aparținând unor familii botanice cu largă răspândire în flora României.

Pe baza literaturii de specialitate publicate referitoare la acizii triterpenici, este cunoscut că aceștia constituie o componentă bioactivă de bază pentru produse farmaceutice și cosmetice de uz uman și veterinar. Cea mai mare parte a efectelor farmacologice ale acizilor triterpenici a fost demonstrată prin cercetări științifice experimentale ale căror rezultate au fost publicate sub formă de articole sau au făcut obiectul unor brevete și cereri de brevete de invenție. Între cele mai noi brevete de invenție cu acest subiect se menționează: brevetul de invenție RU 2394587/20.07.2010 cu referire la acțiunea hipocolesterolemiantă, hipolipidică și colagogă a unor tipuri de acizi triterpenici din catina; brevetul de invenție US 2010189824/29.07.2010 cu referire la acțiunea de reglare a apoptozei și citotoxicității celulare, subliniindu-se efectul puternic antitumoral al unor acizi triterpenici; brevetul de invenție US 20100099763/22.04.2010 cu referire la acțiunea de îmbunătățire a funcționalității cerebrale datorată unor clase de acizi triterpenici.

Larga aplicabilitate a acizilor triterpenici în obținerea de medicamente și suplimente a determinat necesitatea identificării unor procedee prin care să se măjoreze cantitatea de substanță activă în masa vegetală utilizată ca materie primă, pornind de la specii de plante medicinale din flora spontană care au drept componenți majoritari această clasă de substanțe, respectiv busuiocul (*Ocimum basilicum*), salvia (*Salviae officinalis*) și cimbrul de grădina (*Satureja hortensis*).

Majoritatea modalităților de creștere a conținutului în unul sau mai mulți compuși biologici activi în plante medicinale sau industriale, prezentate în literatura de specialitate, se bazează pe următoarele tipuri de procedee:

- Procedee de selectie a unor soiuri optimizate in ceea ce priveste continutul de compusi biologic activi de interes pentru o aplicatie industriala;
- Procedee de fertilizare sau de recoltare prin care se urmareste amplificarea continutului in una sau mai multe substante active;
- Procedee fizico-chimice de crestere a continutului de principiu activ/amestec de principii active dintr-o singura varietate de planta medicinala sau industriala.

În continuare sunt prezentate brevetele de invenție și cererile de brevete recente, care prezintă procedee de ameliorare a continutului in principii active ale materiei prime vegetale din plante medicinale sau industrial.

Brevetul de inventie RO 112680 se refera la un soi imbunatatit de anghinare (*Cynara scolymus L*) obtinut prin selectia individuala din materialul auto-fecundat, propriu statiunii Fundulea, in scopul obtinerii de frunze utilizabile ca materie prima pentru obtinerea de principii active pentru industriile farmaceutica si cosmetica.

Brevetul de inventie WO 2006068946 propune cresterea continutului de beta-caroten in plante prin cultivarea unei plante provenite din seminte sau din plante transgenice .

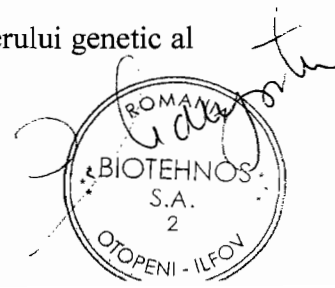
Brevetul de inventie CN 101578955 prezinta o metoda de cultivare si recoltare a crengilor si frunzelor de tisa cu varsta egala sau mai mare de un an si aplicarea unor tehnici de fertilizare si iluminat specifice in scopul cresterii continutului de taxol intre 10-17%.

Brevetul de inventie CN 1489890 prezinta o metoda de cultivare a plantei Vinca (*Catharantus roseus*) in scopul cresterii de cateva zeci de ori a continutului de vincristin prin tratarea semintelor cu un fitohormon si cu un agent de germinare urmata de replantarea rasadului in soluri tratate cu ingrasaminte, cu fitohormoni, vitamine, aminoacizi si preparate antimicobiene.

Brevetul de inventie CN 1714620 trateaza o metoda de cultivare a tisei chinezesti (*Taxus*) in scopul cresterii continutului de taxol, prin aplicarea unui compus cu lantan ca aditiv de fertilizare.

Brevetul de inventie DE 19739690 , care trateaza procedeul de obtinere a extrasului alcoolic din *Urtica dioica*, include descrierea unei metode de cultivare a plantei medicinale mentionate in scopul cresterii continutului sau in principii active in conditii ecologice controlate si definite prin utilizarea unui ingrasamant complex.

Brevetul de inventie JP 2002034502 prezinta o metoda de ameliorare a calitatii materialului vegetal provenit din stevie, prin iradierea tesutului vegetal provenit de la cultura in camp/ in sera cu diferite doze de radiatii gama, in scopul modificarii caracterului genetic al



steviei pentru a obtine un material vegetal stabil genetic si cu un continut ridicat de rebaudiosida A si /sau rebaudiosida C.

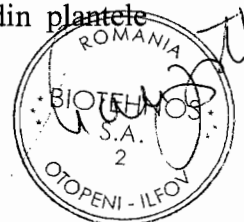
Brevetul de inventie BG 106408 care are ca subiect obtinerea unui medicament pe baza de extract apos-alcolizat de *Tribulus Terrestris L.*, pentru tratarea vulvo-vaginitelor, a vulvo-hemoroizilor, a ulcerelor varicoase, a acneei si in unele cazuri pentru blocarea dezvoltarii celulelor canceroase, ia in considerare urmatoorii factori pentru prepararea materiei prime vegetale din *Tribulus Terrestris L.*: timpul, perioada de recoltare, partea din planta utilizata, zona geografica specifica din Bulgaria in care se cultiva planta respectiva, metoda de recoltare si temperatura de uscare, fara a detalia influenta fiecaruia din acesti factori asupra calitatii continutului de principiu activ. Se urmareste obtinerea unei materii prime bogate in saponine steroidice, sapogenine, precum si un continut steril de materie prima.

Brevetul de inventie WO2005046311 prezinta un procedeu prin care se poate mari continutul nutritiv si capacitatea curativa a extractelor de plante medicinale luand in considerare perioada de recoltare a acestora. Capacitatea curativa depinde de o multitudine de factori cum ar fi: de mediu (sol, temperatura umiditate), specie/soi, parti morfologice ale plantei, ciclul de viata/dezvoltarea acesteia, fenofaze. Conform metodei descrise, plantele cu efecte curative trebuie culese in zilele apogeului lunar.

Conform brevetului WO2001049103, se cunoaste o metoda de obtinere de plante cu un continut ameliorat in compusi biologic activi, folosind tehnici de propagare *in vitro* a materialului vegetal de interes, selectia variantelor optime si apoi cultivarea si procesarea lor in conditii standardizate. Aceasta metoda se poate aplica oricarei specii de planta continand compusi biologic activi, dar standardizarea propusa de acesta se refera la intregul extract al plantei pentru o anumita activitate biologica si nu pe un ingredient specific.

In brevetul de inventie IL116449 este descris un procedeu prin care se amelioreaza continutul in uleiuri esentiale, precum si activitatea antioxidanta a acestora, din cultura de rozmarin folosind tehnici de selectie si propagare *in vitro* a materialului vegetal. In acelasi context al metodei descrise mai sus aceasta inventie descrie o modalitate de obtinere a unei culturi de plante cu activitate antioxidanta a uleiurilor esentiale, extrase din acestea, situata intre anumite limite, tinand cont de caracteristicile biomorfologice ale culturii, in functie de clona folosita si de zona de cultivare a speciei, dar fara a se particulariza pe un anumit compus.

Evaluarea de ansamblu a brevetelor de invenție și a cererilor de brevete recente, care revendică diferite metode/procedee de crestere a cantitatii de substante utile din plantele



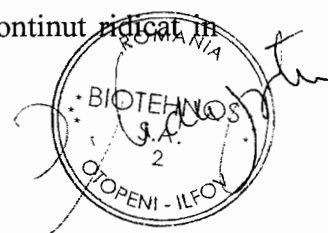
medicinale arata ca acestea prezinta urmatoarele dezavantaje, in ceea ce priveste obtinerea de materii prime vegetale standardizate in acizi triterpenici cu costuri reduse:

- in situatiile in care se urmareste ameliorarea soiurilor sau aplicarea unor tehnici de fertilizare si recoltare, acestea sunt particularizate pe tipuri de planta si ingredient activ, rezultatele raportate nepermitand abordari general valabile pentru obtinerea de extracte de acizi triterpenici standardizate;

- in situatiile in care metodele prezentate se pot aplica oricarei specii de planta continand compusi biologic activi, standardizarea propusa se refera la intregul extract al plantei pentru o anumita activitate biologica si nu pe un ingredient specific – aplicabilitatea respectivelor inventii este generala, nespecifica pentru un anumit compus, ceea ce nu ajuta practic la obtinerea unei materii prime vegetale standardizate pentru nevoile industriei farmaceutice si cosmetice.

- nu s-a abordat problema obtinerii de materii prime vegetale standardizate in continut de acizi triterpenici utilizând speciile de plante *Salviae officinalis*, *Ocimum basilicum* si *Satureja hortensis*, plante medicinale din flora spontana larg raspandite pe teritoriul Romaniei.

Problema tehnica pe care o rezolva prezenta inventie, consta in obtinerea unui produs avand caracter standardizat pentru utilizarea ca materie prima in industria farmaceutica si cosmetica, prin aplicarea apei structurate tip „S” ca agent de stimulare in scopul maririi valorilor elementelor de crestere si fructificare a plantelor studiate precum si prin utilizarea unui biopreparat pe baza de *Tagetes patula* impotriva daunatorilor si bolilor, urmata de stabilirea unor fenofaze de recoltare a speciilor de plante cu continut ridicat in acizi triterpenici. Speciile de plante pe care se aplica aceasta inventie sunt *Salviae officinalis*, *Ocimum basilicum* si *Satureja hortensis*, care sunt cunoscute prin continutul lor ridicat in acizi triterpenici. Tehnologiile de cultivare aplicate sunt fie conventionale, fie ecologice, in ambele cazuri aplicandu-se tratamente de stimulare cu apa structurata tip „S” si tratamente de sanitizare cu un biopreparat pe baza de *Tagetes patula*, in scopul obtinerii unui material vegetal optimizat sub aspectul maximizarii continutului de compusi biologic activi.. Pe baza analizelor chimice riguroase facute pe tot parcursul anului de vegetatie la plantele anuale (*Ocimum basilicum* si *Satureja hortensis*), cat si la specia perena (*Salviae officinalis*) se stabilesc prin aceasta inventie fenofazele optime de recoltare a plantelor, cand acestea au cel mai ridicat continut in acizi triterpenici. Astfel se elimina dezavantajele materiale legate de necesitatea folosirii tehnicilor de selectie si propagare *in vitro* a materialului vegetal care astfel sa asigure, din punct de vedere genetic, obtinerea de plante cu un continut ridicat in



acizi triterpenici. O astfel de abordare este costisitoare și nu elimină influența factorilor climatici care pot modifica profund conținutul final în acizi triterpenici al plantelor recoltate. Aplicarea metodei de stabilire a unor fenofaze optime de recoltare a unor specii de plante medicinale cultivate prin tehnologii de cultivare conventională și ecologică în scopul obținerii unui produs standardizat pentru utilizarea ca materie primă în industria farmaceutică și cosmetică, reprezintă un mare avantaj economic, executându-se simplu, după o metodologie nelaborioasă.

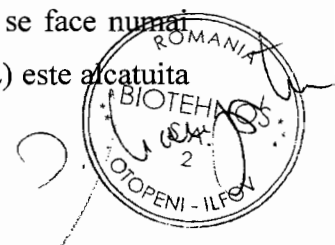
Prin aplicarea prezentei invenții se obține materie primă vegetală cu un conținut standardizat în acizi triterpenici, ce prezintă următoarele avantaje, în raport cu stadiul tehnicii:

- standardizarea compoziției materiei prime vegetale obținute în compuși bine definiți, prin recoltarea acestora la fenofaze bine stabilite;
- reducerea costurilor pentru obținerea de material de propagare cu caracteristici genetice bine stabilite prin utilizarea tehnicilor *in vitro*;
- creșterea competitivității speciilor de plante medicinale menționate pentru valorificarea lor în industria farmaceutică și cosmetică.

În continuare sunt descrise trei exemple de realizare a invenției, care se referă la procedeul pentru obținerea unei materii prime vegetale standardizate în conținut de acizi triterpenici, utilizând specii de plante cu un conținut ridicat în acești compuși, efectuate în vederea evidențierii importanței stabilirii unor fenofaze de recoltare optime pentru obținerea unui produs cu caracter standardizat pentru utilizarea ca materie primă în industria farmaceutică și cosmetică.

Exemplul nr.1 se referă la specia *Salviae officinalis*, cultivată în sistem ecologic și conventional. Pentru variantele experimentale din sistemul de agricultură convențional s-au aplicat îngrășăminte minerale lichide. Combaterea buruienilor s-a făcut prin utilizarea de erbicide și lucrări manuale (plivit și prașit) și prașile mecanice. Pentru variantele din sistemul de cultură ecologică aplicarea îngrășămintelor organice s-a făcut la premergătoare, iar întreținerea culturii s-a realizat prin lucrări manuale și prașile mecanice. Uscarea s-a făcut natural (la soare sau la umbră) și artificial utilizând 1-2 praguri de temperatură. De la fiecare fenofază s-au păstrat probe pentru analize chimice și s-au evaluat producțiile în stare uscată, exprimate în kg/ha. S-a urmărit, în dinamica creșterii și dezvoltării plantelor, stabilirea fenofazei optime de recoltare la care cantitatea de materie primă vegetală corelată cu conținutul în acizi triterpenici să aibă valori maxime.

La această specie recoltarea plantelor, pentru obținerea de biomasă vegetală, se face numai începând cu anul doi de vegetație. Materia primă vegetală (HERBA SALVIAE) este alcătuită



din frunze, lastari cu frunze si inflorescente. Recoltarea se face atunci cand pe lastari s-au format 10-12 perechi de frunze. Probele, atat pentru evaluarea productiilor cat si pentru analizele chimice, se constituie atat din lastari vegetativi cat si din lastari floriferi, functie de ponderea acestora pe planta. Dozarea acizilor triterpenici s-a realizat prin spectrofotometrie UV-VIS si cromatografie de lichide de inalta performanta. Fenofazele stabilite pentru aceasta specie sunt urmatoarele:

F1 – cand peste jumatate din numarul lastarilor floriferi au format boboci florali pe aproximativ jumatate din lungime;

F2 – cand peste jumatate din numarul lastarilor floriferi au flori deschise pe ½ din lungime.

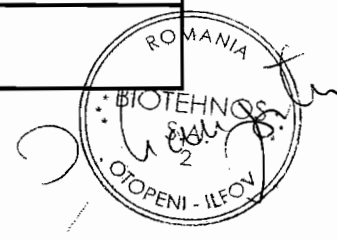
F3 – cand peste jumatate din numarul de lastari floriferi au fructe imature pe 2/3 din lungime;

F4 – cand peste jumatate din numarul de lastari floriferi au fructe mature pe 2/3 din lungime.

Tabelul 1 contine **evaluarea potentialului de productie al acestei specii pe parcursul celor 4 fenofaze**, descrise mai sus, corelat cu continutul in acizi triterpenici din plantele recoltate in perioadele de vegetatie respective.

Tabel 1. Productia de materie prima vegetala uscata (kg/ha), standardizata in acizi triterpenici (g%), pe fenofaze de recoltare, la *Salvia officinalis* L., anul II de vegetatie.

Fenofaza de recoltare	Productia (kg/ha)	Continut in acizi triterpenici g (%)
CULTURA ECOLOGICA		
F1	1042,23	2,31
F2	1428,80	2,42
F3	1602,33	2,54
F4	1255,20	2,59
CULTURA CONVENTIONALA		
F1	1146,13	2,83



F2	1502,85	3,03
F3	1725,60	3,22
F4	1326,50	3,31

Prin aceasta metoda de evaluare a compozitiei in acizi triterpenici, pe parcursul fenofazelor de dezvoltare caracteristice speciei *Salviae*, s-a stabilit, ca si fenofaza optima de recoltare, fenofaza F4, cand s-a constatat o acumulare semnificativa de acizi triterpenici in organele plantelor recoltate. S-a mai stabilit si ca tehnologia de cultura conventionala asigura obtinerea unui continut mai ridicat in acizi triterpenici fata de cea ecologica (3,31 g% fata de 2,59 g%).

Exemplul nr.2 se refera la specia *Satureja hortensis*, care s-a cultivat in aceleasi conditii ca cele de la specia *Salviae*, respectand tehnologiile de cultivare conventionala si, respectiv, ecologica, cu recoltarea pe parcursul a 4 etape diferite, corespunzatoare fenofazelor distincte de recoltare a acestei specii. Materia prima vegetala (HERBA SATUREJAE) se constituie din ramuri tinere cu frunze terminate cu inflorescente cu flori mici de culoare alb-roz. Fenofazele corespunzatoare acestei specii sunt descrise in continuare:

- F1 – la aparitia bobocilor florali la primele 2-3 verticile la peste 50% din numarul inflorescentelor principale;
- F2 – la deschiderea florilor de la verticilele situate in prima jumatate din lungimea inflorescentelor principale;
- F3 – la formarea primelor fructe mature la peste 50% din numarul inflorescentelor principale;
- F4 – la formarea fructelor mature la majoritatea inflorescentelor principale.

Tabelul 2 contine evaluarea potentialului de productie al acestei specii pe parcursul celor 4 fenofaze, descrise mai sus, corelat cu continutul in acizi triterpenici din plantele recoltate in perioadele de vegetatie respective.

Tabelul 2. Productia de materie prima vegetala uscata (kg/ha), standardizata in acizi triterpenici (g%), pe fenofaze de recoltare la *Satureja hortensis* L.

Fenofaza de recoltare	Productia (kg/ha)	Continut in acizi triterpenici g (%)
----------------------------------	------------------------------	---



25-10-2010

CULTURA ECOLOGICA		
F1	1042.23	1,21
F2	1685.33	1,27
F3	2612.66	2,21
F4	2316.85	2,24
CULTURA CONVENTIONALA		
F1	1219.56	1,46
F2	1985.22	1,54
F3	2985.66	2,67
F4	2548.60	3,91

S-a stabilit si in acest exemplu ca metoda de evaluare a compozitiei in acizi triterpenici, pe parcursul fenofazelor de dezvoltare caracteristice speciei *Satureja*, conform inventiei, permite identificarea ca si fenofaza optima de recoltare, a fenofazei F4, cand s-a constatat o acumulare semnificativa de acizi triterpenici in organele plantelor recoltate. S-a mai stabilit si in acest exemplu ca tehnologia de cultura conventionala asigura obtinerea unui continut mai ridicat in acizi triterpenici fata de cea ecologica (3,91 g% fata de 2,24 g%).

Exemplul nr.3 se refera la specia *Ocimum basilicum*, la care materia prima vegetala (HERBA BASILICI) este formata din tulpini si ramuri tinere acoperite partial cu frunze, terminate cu sau fara inflorescente. Fazele fenologice de recoltare se stabilesc functie de dinamica dezvoltarii inflorescentelor centrale si principale:

- F1 – la aparitia bobocilor florali la verticilele dispuse in treimea bazala;
- F2 – flori deschise la verticilele dispuse in treimea bazala;
- F3 – fructe imature la verticilele dispuse in treimea bazala;
- F4 – fructe mature la verticilele dispuse in treimea bazala;
- F5 – inflorescenta centrala are fructe mature la majoritatea verticilelor.

Tabelul 3 contine evaluarea potentialului de productie al acestei specii pe parcursul celor 5 fenofaze, descrise mai sus, corelat cu continutul in acizi triterpenici din plantele recoltate in perioadele de vegetatie respective.



Tabelul 3. Productia de materie prima vegetala uscata (kg/ha),), standardizata in acizi triterpenici (g%), pe fenofaze de recoltare la *Ocimum basilicum* L.

Fenofaza de recoltare	Productia (kg/ha)	Continut in acizi triterpenici g (%)
CULTURA ECOLOGICA		
F1	1064.25	1,27
F2	1421.34	1,37
F3	2796.56	1,74
F4	2488.73	2,24
F5	1978.77	2,33
CULTURA CONVENTIONALA		
F1	1289.39	1,04
F2	1758.40	1,24
F3	2967.47	1,69
F4	2783.32	2,51
F5	2346.41	2,34

Si in acest exemplu s-a stabilit ca metoda de evaluare a compozitiei in acizi triterpenici, pe parcursul fenofazelor de dezvoltare caracteristice speciei *Ocimum*, conform inventiei, permite identificarea ca si fenofaza optima de recoltare, a fenofazei F4, cand s-a constatat o acumulare ceva mai semnificativa de acizi triterpenici in organele plantelor recoltate. S-a mai stabilit si in acest exemplu ca tehnologia de cultura conventionala asigura obtinerea unui continut mai ridicat in acizi triterpenici fata de cea ecologica (2.51 g% fata de 2,24 g%).



REVENDICARI

1. Procedeu de obtinere a unui produs vegetal avand caracter standardizat, destinat utilizarii ca materie prima in industria farmaceutica si cosmetica, caracterizat prin aceea ca specii de plante medicinale cultivate prin tehnologii de cultivare conventionala si ecologica se trateaza cu apa structurata tip „S” si cu un biopreparat pe baza de *Tagetes patula* si se stabilesc fenofazele optime de recoltare ale acestora prin recoltarea pe etape si prin evaluarea acumularii de acizi triterpenici in fiecare din acestea;

2. Procedeu conform revendicării 1, caracterizat prin aceea că utilizează ca materie prima vegetala specia *Salviae officinalis*, cultivata in sistem ecologic si conventional, al carei continut in acizi triterpenici este analizat prin spectrofotometrie UV-VIS si cromatografie in lichide de inalta performanta pe fiecare din cele 4 faze fenologice de recoltare, stabilite functie de dinamica dezvoltarii inflorescentelor centrale si principale;

3. Procedeu conform revendicării 1, caracterizat prin aceea că utilizează ca materie prima vegetala specia *Satureja hortensis L*, cultivata in sistem ecologic si conventional, al carei continut in acizi triterpenici este analizat prin spectrofotometrie UV-VIS si cromatografie in lichide de inalta performanta pe fiecare din cele 4 faze fenologice de recoltare, stabilite functie de dinamica dezvoltarii inflorescentelor centrale si principale;

4. Procedeu conform revendicării 1, caracterizat prin aceea că utilizează ca materie prima vegetala uscata specia *Ocimum basilicum L*, cultivata in sistem ecologic si conventional, al carei continut in acizi triterpenici este analizat prin spectrofotometrie UV-VIS si cromatografie in lichide de inalta performanta pe fiecare din cele 5 faze fenologice de recoltare, stabilite functie de dinamica dezvoltarii inflorescentelor centrale si principale.

