



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2010 01009**

(22) Data de depozit: **25/10/2010**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **26/02/2016** BOPI nr. **2/2016**

(41) Data publicării cererii:
30/05/2012 BOPI nr. **5/2012**

(73) Titular:
• **BIOTEHNOS S.A., STR.GORUNULUI
NR.3-5, OTOPENI, IF, RO**

(72) Inventatori:
• **CONSTANTINOVICI MARIANA,
SAT BĂLDANA NR.193,
COMUNA TĂRTĂȘEȘTI, 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,
SAT BRĂNEȘTI, IF, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
US 2003/0087789 A1; WO 01/49103 A1

(54) **PROCEDEU DE PREPARARE A UNUI PRODUS VEGETAL
CU UN CONȚINUT RIDICAT DE ACIZI TRITERPENICI**



RO 127379 B1

1 Invenția se referă la un procedeu pentru obținerea unui produs vegetal având un
2 conținut ridicat de acizi triterpenici, pe bază de specii de plante cu un conținut ridicat în acești
3 compuși, utilizabil în industria farmaceutică și cosmetică.

4 Cea mai mare parte a efectelor farmacologice ale acizilor triterpenici a fost
5 demonstrată prin cercetări științifice experimentale, ale căror rezultate au fost publicate sub
6 formă de articole sau au făcut obiectul unor brevete și cereri de brevete de invenție. Între
7 cele mai noi brevete de invenție cu acest subiect se menționează: brevetul de invenție
8 **RU 2394587/20.07.2010**, care se referă la acțiunea hipocolesterolemiantă, hipolipidică și
9 colagogă a unor tipuri de acizi triterpenici din cătină; brevetul de invenție
10 **US 2010189824/29.07.2010**, care se referă la acțiunea de reglare a apoptozei și citotoxicității
11 celulare, subliniindu-se efectul puternic antitumoral al unor acizi triterpenici; brevetul de
12 invenție **US 20100099763/22.04.2010**, care se referă la acțiunea de îmbunătățire a funcțio-
13 nalității cerebrale datorată unor clase de acizi triterpenici.

14 Astfel, din cererea de brevet **US 2003/0087789A1(D1)** se cunoaște obținerea
15 triterpenilor din plante, printr-un procedeu continuu, care constă în introducerea continuă a
16 plantelor sau a părților din plante într-un solvent în care triterpenele nu sunt solubile sau sunt
17 numai slab solubile, și spălarea în contracurent a plantelor cu solventul respectiv, urmată de
18 extracția continuă a triterpenelor la presiune și temperatură ridicate, apoi răcirea continuă
19 și cristalizarea triterpenelor, filtrarea și spălarea acestora. Purity extractului a fost
20 monitorizată continuu prin gaz-cromatografie.

21 Frunzele de *Salvia off.* se utilizează în practica fitofarmaceutică datorită diverselor
22 acțiuni cunoscute, și anume: stomahică, hemostatică, estrogenă și emenagogă (prin uleiul
23 volatil), antisudorifică (prin acizii polifenolcarboxilici), antinevralgică, antiseptică, coleretică
24 (prin constituenții uleiului volatil), hipoglicemiantă (datorită taninurilor care reduc absorbția
25 glucozei), spasmolitică (datorată, probabil, fenolilor și flavonelor polimetoxilate) [*Viorica*
26 *Istudor, 2001*]. Formele farmaceutice cunoscute sunt infuzii, decocturi, extracte fluide și ulei
27 volatil. Pentru aceste utilizări la *Salvia officinalis* recoltarea se recomandă să se facă la
28 fenofaza de butonizare - începutul înfloritului, în care frunzele ajung la maturitatea tehnică,
29 iar conținutul de ulei este maxim. Astfel se pot recolta nu numai frunzele și lăstarii, ci și
30 planta întregă, epoca optimă fiind situată la înflorirea deplină [*Emil Paun și colab., 1988*].

31 Herba de busuioc reprezintă partea aeriană înflorită, uscată, provenită de la specia
32 *Ocimum basilicum*, și este utilizată în scop terapeutic pentru acțiunile: antiseptică, fungicidă,
33 carminativă, antispastică, stomahică, tonic generală și reconfortantă. Formele farmaceutice
34 cunoscute sunt infuzii, tincturi și ulei volatil. Pentru aceste utilizări se recoltează somitățile
35 florale prin cosire [*Viorica Istudor, 2001*].

36 La *Ocimum basilicum* recoltarea se face atunci când pe inflorescența centrală
37 verticilele de la baza acestora au fructe de culoare brun-roșiatică. Pentru obținerea uleiului
38 volatil, planta se recoltează după formarea deplină a inflorescențelor centrale, când
39 conținutul acestuia este maxim, și scade la nivelul minim către sfârșitul perioadei de
40 vegetație [*Emil Paun și colab., 1988*].

41 *Satureja hortensis herba* reprezintă partea aeriană nelignificată a plantei, utilizată în
42 terapia tradițională în diferite infecții respiratorii, tulburări digestive, datorită acțiunilor:
43 carminativă, stomahică, antispastică, antidiareică, antiseptică. De asemenea, planta este
44 utilizată la obținerea uleiului volatil ce reprezintă materie primă în industria parfumurilor
45 [*Viorica Istudor, 2001*]. Conținutul în uleiul volatil atinge valorile maxime în perioada înfloririi.
46 De aceea, la *Satureja hortensis* epoca de recoltare se face atunci când 50...60% din plante
47 sunt înflorite [*Emil Paun, și colab., 1988*].

RO 127379 B1

Compoziția chimică a speciilor de plante din familia *Labiatae* se caracterizează în principal prin prezența uleiurilor volatile, motiv pentru care aceste plante au fost utilizate în terapiile tradiționale, cosmetică și alimentație. În ultima perioadă de timp, cu interes terapeutic au fost studiați și alți compuși, produși ai metabolismului secundar ce derivă din ciclizarea monoterpenelor (componente ale uleiurilor volatile), precum compușii triterpenici liberi sau glicozidați, care se acumulează în plantă pe măsură ce scade cantitatea de ulei volatil.

Posibilitatea utilizării acizilor triterpenici în obținerea de medicamente și suplimente a determinat necesitatea identificării unor procedee prin care să se majoreze cantitatea de substanță activă în masa vegetală utilizată ca materie primă, pornind de la specii de plante medicinale din flora spontană sau cultivată, respectiv, busuiocul (*Ocimum basilicum*), salvia (*Salviae officinalis*) și cimbrul de grădină (*Satureja hortensis*).

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

- procedee de selecție a unor soiuri optimizate în ceea ce privește conținutul de compuși biologic activi de interes pentru o aplicație industrială;

- procedee de fertilizare și/sau de recoltare, prin care se urmărește amplificarea conținutului în una sau mai multe substanțe active;

- procedee fizico-chimice de creștere a conținutului de principiu activ/amestec de principii active dintr-o singură varietate de plantă medicinală sau industrială.

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

Brevetul de invenție **RO 112680** se referă la un soi îmbunătățit de anghinare (*Cynara scolymus L*), obținut prin selecția individuală din materialul autofecundat, propriu stațiunii Fundulea, în scopul obținerii de frunze utilizabile ca materie primă pentru obținerea de principii active pentru industriile farmaceutică și cosmetică.

Brevetul de invenție **WO 2006068946** propune creșterea conținutului de beta-caroten în plante, prin cultivarea unei plante provenite din semințe sau din plante transgenice.

Brevetul de invenție **CN 101578955** prezintă o metodă de cultivare și recoltare a crengilor și frunzelor de tisa cu vârsta egală sau mai mare de un an, și aplicarea unor tehnici de fertilizare și iluminat specifice, în scopul creșterii conținutului de taxol în intervalul 10...17%.

Brevetul de invenție **CN 1489890** prezintă o metodă de cultivare a plantei Vinca (*Catharantus roseus*), în scopul creșterii de câteva zeci de ori a conținutului de vincristin, prin tratarea semințelor cu un fitohormon și cu un agent de germinare, urmată de replantarea răsadului în soluri tratate cu îngrășăminte, cu fitohormoni, vitamine, aminoacizi și preparate antimicrobiene.

Brevetul de invenție **CN 1714620** prezintă o metodă de cultivare a tisei chinezești (*Taxus*), în scopul creșterii conținutului de taxol, prin aplicarea unui compus cu lantan ca aditiv de fertilizare.

Brevetul de invenție **DE 19739690**, care prezintă procedeul de obținere a extrasului alcoolic din *Urtica dioica*, include descrierea unei metode de cultivare a plantei medicinale menționate, în scopul creșterii conținutului său în principii active, în condiții ecologice controlate și definite prin utilizarea unui îngrășământ complex.

RO 127379 B1

1 Brevetul de invenție **JP 2002034502** prezintă o metodă de ameliorare a calității
materialului vegetal provenit din ștevie, prin iradierea țesutului vegetal provenit de la cultura
3 în câmp/seră cu diferite doze de radiații gamma, în scopul modificării caracterului genetic al
șteviei, pentru a se obține un material vegetal stabil genetic și cu un conținut ridicat de
5 rebaudiosidă A și /sau rebaudiosidă C.

Brevetul de invenție **BG 106408**, ce are ca obiect obținerea unui medicament pe bază
7 de extract apos-alcolizat de *Tribulus Terrestris L.*, pentru tratarea vulvo-vaginitelor, a vulvo-
hemoroizilor, a ulcerelor varicoase, a acneei și, în unele cazuri, pentru blocarea dezvoltării
9 celulelor canceroase, ia în considerare următorii factori pentru prepararea materiei prime
vegetale din *Tribulus Terrestris L.*: timpul, perioada de recoltare, partea din planta utilizată,
11 zona geografică specifică din Bulgaria în care se cultivă planta respectivă, metoda de
recoltare și temperatura de uscare, fără a detalia influența fiecăruia dintre acești factori
13 asupra calității conținutului de principiu activ. Se urmărește obținerea unei materii prime
bogate în saponine steroidice, sapogenine, precum și un conținut steril de materie primă.

15 Cererea de brevet de invenție **WO 2005046311** prezintă un procedeu prin care se
poate mări conținutul nutritiv și capacitatea curativă a extractelor de plante medicinale, luând
17 în considerare perioada de recoltare a acestora. Capacitatea curativă depinde de o
multitudine de factori cum ar fi: mediu (sol, temperatură, umiditate), specie/soi, părți
19 morfologice ale plantei, ciclul de viață/dezvoltare a acesteia, fenofaze. Conform metodei
descrise, plantele cu efecte curative trebuie culese în zilele apogeului lunar.

21 Din cererea de brevet **WO 2001049103 A1** se cunoaște o metodă de obținere a unor
plante cu un conținut ameliorat în compuși biologic activi, folosind tehnici de propagare *in vitro*
23 a materialului vegetal de interes, selecția variantelor optime și apoi cultivarea și procesarea
lor în condiții standardizate. Această metodă se poate aplica oricărei specii de plantă
25 conținând compuși biologic activi, dar standardizarea propusă de acesta se referă la întregul
extract al plantei pentru o anumită activitate biologică, și nu pe un ingredient specific. Astfel,
27 metoda de ameliorare a activității biologice specifice a unei plante care conține cel puțin un
metabolit fiziologic, conform cu **WO 01/49103 A1 (D2)**, cuprinde următoarele etape:

- 29 (a) colectarea unei multitudini de probe din numita plantă;
- (b) cultivarea fiecăreia dintre numitele probe în condiții predefinite, pentru a se obține
31 plante mature din fiecare dintre probele respective;
- (c) procesarea plantelor mature în condiții definite, pentru a se obține un material
33 vegetal din fiecare dintre plantele mature;
- (d) determinarea activității biologice a fiecăreia dintre materialele vegetale cu ajutorul
35 cel puțin al unei analize biologice;
- (e) selectarea materialelor vegetale având cea mai ridicată activitate biologică
37 specifică pentru identificarea plantelor de elită;
- (f) multiplicarea cel puțin a uneia dintre plantele de elită;
- 39 (g) producerea variantelor numitelor plante de elită;
- (h) cultivarea fiecăreia dintre variante în condiții definite, pentru producerea plantelor
41 mature;
- (i) repetarea etapelor (c)-(f);
- 43 (k) cultivarea plantelor de elită în condiții predefinite, pentru a se obține plante mature
din numitele plante de elită.

45 În brevetul de invenție **IL 116449** este descris un procedeu prin care se ameliorează
conținutul în uleiuri esențiale, precum și activitatea antioxidantă a acestora, din cultura de
47 rozmarin, folosind tehnici de selecție și propagare *in vitro* a materialului vegetal. În același

RO 127379 B1

context al metodei descrise mai sus, această invenție descrie o modalitate de obținere a unei	1
culturi de plante cu activitate antioxidantă a uleiurilor esențiale, extrase din acestea, situată	
între anumite limite, ținând cont de caracteristicile biomorfologice ale culturii, în funcție de	3
clona folosită și de zona de cultivare a speciei, dar fără a se particulariza pentru un anumit	
compus.	5
Evaluarea de ansamblu a brevetelor de invenție și a cererilor de brevete recente, ce	
revendică diferite metode/procedee de creștere a cantității de substanțe utile din plantele	7
medicinale, arată că acestea prezintă următoarele dezavantaje:	
- în situațiile în care se urmărește ameliorarea soiurilor sau aplicarea unor tehnici de	9
fertilizare și recoltare, acestea sunt particularizate pe tipuri de plantă și ingredient activ,	
rezultatele raportate nepermițând abordări general valabile;	11
- în situațiile în care metodele prezentate se pot aplica oricărei specii de plantă,	
standardizarea propusă se referă la întregul extract al plantei pentru o anumită activitate	13
biologică, și nu pentru un ingredient specific – aplicabilitatea respectivelor invenții este	
generală, nespecifică pentru un anumit compus, ceea ce nu ajută practic la obținerea unei	15
materii prime vegetale standardizate pentru nevoile industriei farmaceutice și cosmetice;	
- nu s-a abordat problema obținerii de materii prime vegetale standardizate în conținut	17
de acizi triterpenici, utilizând speciile de plante <i>Salviae officinalis</i> , <i>Ocimum basilicum</i> și	
<i>Satureja hortensis</i> , plante medicinale din flora spontană larg răspândite pe teritoriul României.	19
Problema tehnică pe care urmărește să o rezolve invenția constă în obținerea unui	
produs vegetal cu conținut ridicat de acizi triterpenici.	21
Soluția la această problemă constă într-un procedeu de obținere a unui produs vegetal	
cu un conținut ridicat de acizi triterpenici, destinat utilizării ca materie primă în industria	23
farmaceutică și cosmetică, în care specii de plante medicinale din familia Labiate, cultivate prin	
tehnologii de cultivare convențională și ecologică, și anume, <i>Salviae officinalis</i> , <i>Satureja</i>	25
<i>hortensis</i> L și <i>Ocimum basilicum</i> L, sunt recoltate în faze fenologice în care conținutul mediu	
de acizi triterpenici este de 2,60...4,20/100 g plantă uscată.	27
De asemenea, într-un aspect preferat, invenția se referă la un procedeu așa cum este	
definit mai sus, în care <i>Salvia officinalis</i> se recoltează în faza fenologică în care lăstarii floriferi	29
au peste 50 % din fructele mature scuturate, și un conținut mediu de acizi triterpenici de	
3,7...4,2 g/100 g plantă uscată în cultura convențională/ecologică.	31
Într-un alt aspect preferat, invenția se referă la un procedeu așa cum este definit mai	
sus, în care <i>Satureja hortensis</i> L se recoltează în faza fenologică în care la majoritatea	33
inflorescențelor de pe plantă sunt formate fructe mature, și conținutul mediu de acizi triterpenici	
este de 2,75...3,9 g/100 g plantă uscată în cultura convențională/ecologică.	35
Într-un alt aspect preferat, invenția se referă la un procedeu așa cum este definit mai	
sus, în care <i>Ocimum basilicum</i> se recoltează în faza fenologică în care pe inflorescențele	37
centrale și principale sunt formate fructe mature la verticilele dispuse în treimea bazală, și	
conținutul mediu de acizi triterpenici este de 2,60...3,0 g/100 g plantă uscată în cultura conven-	39
țională/ecologică.	
Prin procedeul conform invenției, care constă în modificarea epocii de recoltare	41
tradiționale, ca urmare a stabilirii fenofazei caracteristice obținerii unui conținut standardizat	
în acizi triterpenici, optimizată pentru fiecare specie de plantă menționată, se obțin produse	43
vegetale cu proprietăți noi, utilizând specii de plante din familia Labiatae: <i>Salvia officinalis</i> ,	
<i>Ocimum basilicum</i> și <i>Satureja hortensis</i> .	45
Procedeul conform invenției constă în:	
- recoltarea plantelor de <i>Salvia officinalis</i> în faza fenologică optimă pentru conținutul	47
de acizi triterpenici - atunci când lăstarii floriferi au peste 50% din fructele mature scuturate;	

RO 127379 B1

1 - recoltarea plantelor de *Satureja hortensis* L. în faza fenologică optimă pentru conținutul
de acizi triterpenici - atunci când la majoritatea inflorescențelor de pe plantă sunt formate fructe
3 mature;

5 - recoltarea plantelor de *Ocimum basilicum* L. în faza fenologică optimă pentru conținutul
de acizi triterpenici - atunci când pe inflorescențele centrale și principale sunt formate fructe
mature la verticilele dispuse în treimea bazală.

7 Prin aplicarea procedurii conform invenției se obțin materii prime standardizate, și anume:

9 - produs vegetal standardizat *Salvia officinalis*, caracterizat printr-un conținut de acizi
triterpenici de 3,8...4,2 g/100 g plantă uscată în cultura convențională, și de 3,7...4,1 g/100 g
plantă uscată în cultura ecologică;

11 - produs vegetal standardizat *Satureja hortensis* L, caracterizat printr-un conținut mediu
de acizi triterpenici de 3,45...3,9 g/100 g plantă uscată în cultura convențională, și de
13 2,75...3,30/100 g plantă uscată în cultura ecologică;

15 - produs vegetal standardizat *Ocimum basilicum*, caracterizat printr-un conținut mediu
de acizi triterpenici de 2,60...2,90 g/100 g plantă uscată în cultura convențională, și de
2,75...3,0 g/100 g plantă uscată în cultura ecologică.

17 Conform procedurii propus, se obțin 3 materii prime vegetale standardizate în alte
principii active decât cele pentru care sunt utilizate în mod tradițional. Pentru obținerea materiilor
19 prime vegetale standardizate în acizi triterpenici, la speciile de *Salvia officinalis*, *Ocimum basilicum*
și *Satureja hortensis*, pentru loturile din sistemul de agricultură convențională/ecologică, lucrările
21 de pregătire a solului, epoca de semănat, lucrările de întreținere respectă tehnologia cadru de
cultură, iar pentru recoltarea plantelor se stabilește o fază fenologică optimă pentru conținutul
23 de acizi triterpenici, alta decât cea practică în mod tradițional, astfel:

25 La specia *Salvia officinalis*, 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, lăstari cu frunze și inflorescențe. Momentul optim de recoltare îl constituie
27 fenofaza în care lăstarii floriferi au peste 50% din fructele mature scuturate, și în care conținutul
de acizi triterpenici este de 3,8...4,2 g/100 g plantă uscată în cultura convențională, și de
29 3,7...4,1 g/100 g plantă uscată în cultura ecologică.

31 La specia *Satureja hortensis* L., materia primă vegetală (*Herba Saturejae*) se constituie
din ramuri tinere cu frunze terminate cu inflorescențe cu flori mici, de culoare alb-roz, iar momentul
optim de recoltare îl constituie fenofaza în care are loc formarea fructelor mature la majoritatea
33 inflorescențelor principale, și în care conținutul de acizi triterpenici este de 3,45...3,9 g/100 g
plantă uscată în cultura convențională, și de 2,75...3,30 g/100 g plantă uscată în cultura ecologică.

35 La specia *Ocimum basilicum*, materia prima vegetală (*Herba basilici*) este formată din
herba cu inflorescențe, iar momentul optim îl constituie fenofaza la care pe inflorescențele centrale
37 și principale sunt formate fructe mature la verticilele dispuse în treimea bazală, când conținutul
de acizi triterpenici este de 2,60...2,9 g/100 g plantă uscată obținută în cultura convențională,
39 și de 2,75...3,0 g/100 g plantă uscată obținută în cultura ecologică.

Avantajele aplicării acestei invenții sunt următoarele:

41 - utilizarea în industria farmaceutică a unor materii prime vegetale cu un conținut
standardizat în alte principii active decât cele pentru care au fost utilizate în mod tradițional până
43 acum;

45 - recoltarea materiei prime vegetale strict la momentul fenofazelor optime concentrației
de acizi triterpenici;

47 - utilizarea în industria farmaceutică a unei cantități reduse de materii prime vegetale,
dar cu un conținut ridicat de principii active - acizi triterpenici - determină costuri reduse de
producție (procesare primară, solvenți, energie etc.);

- creșterea competitivității speciilor de plante medicinale menționate, pentru valorificarea

49

RO 127379 B1

lor în industria farmaceutică și cosmetică, prin lărgirea ariei utilizării acestor plante medicinale în domeniul fitoterapiei tradiționale (herba), aromaterapiei (ulei esențial), pentru obținerea de produse medicamentoase noi, având la bază alte substanțe biologice active.

În continuare sunt descrise trei exemple de realizare a invenției, care se referă la procedeul de obținere a unui produs vegetal cu un conținut ridicat de acizi triterpenici.

Exemplul 1. Obținerea materiei prime vegetale *Salviae officinalis*, caracterizată printr-un conținut de acizi triterpenici de 3,8...4,2 g/100 g plantă uscată în cultura convențională, și de 3,7...4,1 g/100 g plantă uscată în cultura ecologică

Pentru loturile din sistemul de agricultură convențional/ecologic, lucrările de pregătire a solului, epoca de semănat, lucrările de întreținere respectă tehnologiile cadru de cultură. Pentru combaterea bolilor și dăunătorilor se folosesc soluții dintr-un biopreparat pe bază de *Tagetes patula*, iar pentru stimularea creșterii și fructificării plantelor se aplică soluții de apă structurată „S” în proporție de 20...50 l/ha, în etapa premergătoare formării lăstarilor vegetativi și/sau floriferi, pe cultura în vegetație.

Recoltarea plantelor, pentru obținerea de biomasă vegetală, se face numai începând cu anul doi de vegetație. Materia primă vegetală (*Herba Salviae*) a fost recoltată în următoarele fenofaze:

F1 – când peste jumătate din numărul lăstarilor floriferi au format boboci florali pe aproximativ jumătate din lungime;

F2 – când peste jumătate din numărul lăstarilor floriferi au flori deschise pe 1/2 din lungime;

F3 – când peste jumătate din numărul de lăstari floriferi au fructe imature pe 2/3 din lungime;

F4 – când peste jumătate din numărul de lăstari floriferi au fructe mature pe 2/3 din lungime;

F5 – lăstarii floriferi au peste 50% din fructele mature scuturate.

Evaluarea potențialului de producție a acestei specii pe parcursul celor 5 fenofaze, descrise mai sus, corelat cu conținutul în acizi triterpenici din plantele recoltate în perioadele de vegetație respective, este prezentată în tabelul 1.

Tabelul 1

Producția de materie primă vegetală uscată (kg/ha), standardizată în acizi triterpenici (g%), pe fenofaze de recoltare, la Salvia officinalis L., anul II de vegetație

Fenofaza de recoltare	Producția (kg/ha)	Conținut în acizi triterpenici g (%)
Cultura ecologică		
F1	1042,23	2,31
F2	1428,80	2,42
F3	1602,33	2,54
F4	1255,20	2,59
F5	4900,00	3,96
Cultura convențională		
F1	1146,13	2,83
F2	1502,85	3,03
F3	1725,60	3,22
F4	1326,50	3,31
F5	5100,00	4,02

RO 127379 B1

1 Prin evaluarea compoziției în acizi triterpenici, pe parcursul fenofazelor de dezvoltare
 2 caracteristice speciei *Salviae*, s-a stabilit că fenofaza optimă de recoltare este fenofaza F5, iar
 3 datele referitoare la această fenofază sunt prezentate în tabelul 2.

5 *Tabelul 2*
 6 *Evaluarea potențialului de producție la salvie în anul II de vegetație - fenofaza F5*

7 Sistemul de cultură	8 Producția de herba proaspătă - q/ha -	9 Producția de herba uscată (la umbră) - q/ha -	10 Conținutul în acizi triterpenici g. la 100 g.m.v.	11 Producția de acizi triterpenici - kg/ha -
12 Convențional	148	51	4,02	205
13 Ecologic	140	49	3,96	194

13 **Exemplul 2.** Obținerea materiei prime vegetale *Satureja hortensis L.*, caracterizată printr-un
 14 conținut mediu de acizi triterpenici de 3,45...3,9 g/100 g plantă uscată în cultura convențională,
 15 și de 2,75...3,30 g/100 g plantă uscată în cultura ecologică

16 Pentru loturile din sistemul de agricultură convențional/ecologic, lucrările de pregătire
 17 a solului, epoca de semănat, lucrările de întreținere respectă tehnologiile cadru de cultură. Pentru
 18 combaterea bolilor și dăunătorilor se folosesc soluții dintr-un biopreparat pe bază de *Tagetes*
 19 *patula*, iar pentru stimularea creșterii și fructificării plantelor se aplică soluții de apă structurată
 20 „S” în proporție de 20...50 l/ha, în etapa premergătoare formării lăstarilor vegetativi și/sau floriferi,
 21 pe cultura în vegetație.

22 Materia primă vegetală (*Herba Saturejae*) a fost recoltată în următoarele fenofaze:

23 F1 – la apariția bobocilor florali la primele 2-3 verticile la peste 50% din numărul
 inflorescențelor principale;

24 F2 – la deschiderea florilor de la verticile situate în prima jumătate din lungimea
 inflorescențelor principale;

25 F3 – la formarea primelor fructe mature la peste 50% din numărul inflorescențelor principale;

26 F4 – la formarea fructelor mature la majoritatea inflorescențelor principale.

27 Evaluarea potențialului de producție al acestei specii pe parcursul celor 4 fenofaze, descrise
 28 mai sus, corelat cu conținutul în acizi triterpenici din plantele recoltate în perioadele de vegetație
 29 respective, este prezentată în tabelul 3.
 30

33 *Tabelul 3*
 34 *Producția de materie prima vegetală uscată (kg/ha) 2009 - standardizată*
 35 *în acizi triterpenici (g%), pe fenofaze de recoltare la *Satureja hortensis L.**

36 Fenofaza de recoltare	37 Producția (kg/ha)	38 Conținut în acizi triterpenici g (%)
39 <i>Cultura ecologică</i>		
F1	1042,23	1,21
F2	1685,33	1,27
F3	2612,66	2,21
F4	2316,85	2,24
43 <i>Cultura convențională</i>		
F1	1219,56	1,46
F2	1985,22	1,54
F3	2985,66	2,67
F4	2548,6	3,91

RO 127379 B1

Evaluarea compoziției în acizi triterpenici, pe parcursul fenofazelor de dezvoltare caracteristice speciei *Satureja hortensis*, conform invenției, permite identificarea ca fenofază optimă de recoltare a fenofazei F4, datele fiind prezentate în tabelul 4. 1 3

Exemplul 3. Obținerea materiei prime vegetale *Ocimum basilicum*, caracterizată printr-un conținut mediu de acizi triterpenici de 2,60...2,90 g/100 g plantă uscată în cultura convențională, și de 2,75...3,0 g/100 g plantă uscată în cultura ecologică 5

Pentru loturile din sistemul de agricultură convențional/ecologic, lucrările de pregătire a solului, epoca de semănat, lucrările de întreținere respectă tehnologiile cadru de cultură. Pentru combaterea bolilor și dăunătorilor, se folosesc soluții dintr-un biopreparat pe bază de *Tagetes patula*, iar pentru stimularea creșterii și fructificării plantelor, se aplică soluții de apă structurată „S” în proporție de 20...50 l/ha, în etapa premergătoare formării lăstarilor vegetativi și/sau floriferi, pe cultura în vegetație. 7 9 11

Materia prima vegetală (*Herba Basilici*) a fost recoltată în următoarele fenofaze: 13

F1 – la apariția bobocilor florali la verticilele dispuse în treimea bazală; 15

F2 – flori deschise la verticilele dispuse în treimea bazală; 17

F3 – fructe imature la verticilele dispuse în treimea bazală; 19

F4 – fructe mature la verticilele dispuse în treimea bazală; 21

F5 – inflorescența centrală are fructe mature la majoritatea verticilelor. 23

Evaluarea potențialului de producție al acestei specii pe parcursul celor 5 fenofaze, descrise mai sus, corelat cu conținutul în acizi triterpenici din plantele recoltate în perioadele de vegetație respective, este prezentată în tabelul 5. 19 21

Evaluarea compoziției în acizi triterpenici, pe parcursul fenofazelor de dezvoltare caracteristice speciei *Ocimum basilicum*, conform invenției, permite identificarea ca fenofază optimă de recoltare a fenofazei F4 - fructe mature la verticilele dispuse în treimea bazală, când s-a constatat o acumulare semnificativă de acizi triterpenici în organele plantelor recoltate. 23 25

Tabelul 4 27

Evaluarea potențialului de producție la *Satureja hortensis* fenofaza de recoltare F4

Producție, conținut	Sistemul de cultură, anul de producție				Producția medie (2008 – 2009)	
	Convențional		Ecologic		Convențional	Ecologic
	2008	2009	2008	2009		
Producția de herba proaspătă q/ha	95,1	110	81,4	97	10,26	89,2
Producția de herba uscată q/ha	52,3	25,5	44,8	23,2	38,9	33,5
Conținutul în acizi triterpenici g/100 g/mv	3,608	3,91	3,991	2,24	3,734	3,116
Producția de acizi triterpenici kg/ha	188,9	216,55	178,79	114,68	202,62	146,35

RO 127379 B1

Tabelul 5

Producția de materie primă vegetală uscată (kg/ha) 2009, standardizată în acizi triterpenici (g%), pe fenofaze de recoltare la *Ocimum basilicum* L.

Fenofaza de recoltare	Producția (kg/ha)	Conținut în acizi triterpenici g (%)
Cultura ecologică		
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 convențională		
F1	1289,39	1,04
F2	1758,4	1,24
F3	2967,47	1,69
F4	2783,32	2,51
F5	2346,41	2,34

Tabelul 6

Evaluarea potențialului de producție la *Ocimum basilicum* la fenofaza F4 de recoltare, caracterizată prin fructe mature la verticilele dispuse în treimea bazală

Producție, conținut	Sistemul de cultură, anul de producție				Producția medie (2008 – 2009)	
	Convențional		Ecologic		Convențional	Ecologic
	2008	2009	2008	2009		
Producția de herba proaspătă q/ha	220	192	200	187	206	193,5
Producția de herba uscată q/ha	66	27,8	60,1	24,9	31,9	42
Conținutul în acizi triterpenici g/100 g/mv	2,189	2,50	2,895	2,255	2,345	2,575
Producția de acizi triterpenici kg/ha	144,47	127,5	173,98	105,98	136	140

BIBLIOGRAFIE

- Jones, W.B., 1998. - *Alternate medicine - learning from the past, examining the present, advancing to the future*, J. Am. Med. Assoc., 280 (18):1616-1618.
- Newman, D.J., Cragg, G.M., Snader, K.M., 2000 - *The influence of natural products upon drug discovery*, Nat. Prod. Rep., 17:215-234.
- Istudor V., 2001 - *Farmacognozie, Fitochimie și Fitoterapie*, vol. II, Ed. Medicală, București.
- Liu, J., 1995 - *Pharmacology of oleanolic and ursolic acid*, J. Ethnopharm., 49, pp. 57-68.
- Tokuda, H., Onigashi, H. and Koshimizu, K., 1986 - *Inhibitory effects of ursolic and oleanolic acid on skin tumor promotion by 12-O-tetradecanoilphorbol-13-acetate*. Cancer Letters 33, pp. 279-285.

RO 127379 B1

- Baricevic, D. and Bartol, T., 2000 - *The biological/pharmacological activity of the Salvia genus V., Pharmacology*. in : Kintzios, S.E., Editor, , 2000. Sage: The Genus Salvia, Harwood Academic Publishers, Abingdon, Marston. 1
- Cuvelier, M.E., Berset, C. and Richard, H., 1994 - *Antioxidant constituents in sage (Salvia officinalis)*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 42, pp. 665-669. 3
- van Baren C., Anao I., Di Leo Lira P., Debenedetti S., Houghton P., Croft S., Martino V., 2006 – *Triterpenic Acids and Flavonoids from Satureja parvifolia. Evaluation of their Antiprotozoal Activity*, Z. Naturforsch. 61c, 189-192. 5
- Bina S. S., Huma A. , Syed T. A., Sabira B., Nasima K., 2007 - *Two new triterpenoids and a steroidal glycoside from the aerial parts of Ocimum basilicum*, Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)., Apr., 55 (4):516-519. 7
- Mircea M., 1986 - *Tehnologii cadru pentru cultura plantelor medicinale și aromatice*, M.A. – ASAS Trustul Plafar SCPMA Fundulea, Ed. Recoop București, pp. 15-19, 31-36, 43-47, 55-59, 81-85, 137-141, 200-203. 9
- Păun E. și colab., 1983 - *Îndrumător – cultura plantelor medicinale și aromatice*, Redacția de propagandă agricolă, București. 11
- Plugaru, V., 2000 - *Tehnologii de cultură la plantele medicinale și aromatice*, Ed. Orizonturi, București: busuiocul (42-47), coada șoricelului (81-86), crăițele (97-102), feniculul (112-119), jaleșul (140-145), lemnul dulce (168-175), sunătoarea (339-345). 13
- Verzea Maria și colab., 2002 – *Tehnologii de cultură la plantele medicinale și aromatice*, Ed. Orizonturi, București. 15
- Varban D.I. și colab., 2005 – *Plante medicinale cultivate și din flora spontană*, Ed. Risoprint. 17
- Mânzatu I. și colab. – Brevet de invenție **RO 109835/1996**. 19
- Mânzatu I. și colab. – Brevet de invenție **US 5846397/1998**.
- Mânzatu I. și colab. – Brevet de invenție **EP 0777631/1999**. 21
- Plugaru V. – Brevet de invenție **RO 113925/1997**.
- Viorica Istudor – *Farmacognozie, fitochimie, fitoterapie*, Vol. II, p. 198, București, Ed. Medicală, 2001. 23
- Emil Păun, Aurel Mihalea, Anela Dumitrescu – *Tratat de plante medicinale și aromatice cultivate*, vol. II, p. 126; București, 1988. 25

RO 127379 B1

1

Revendicări

3 1. Procedeu de obținere a unui produs vegetal cu un conținut ridicat de acizi triterpenici,
5 destinat utilizării ca materie primă în industria farmaceutică și cosmetică, din specii de plante
7 medicinale din familia Labiate cultivate prin tehnologii de cultivare convențională și ecologică,
9 **caracterizat prin aceea că** speciile de *Salviae officinalis*, *Satureja hortensis L* și *Ocimum*
11 *basilicum L* sunt recoltate în faze fenologice în care conținutul mediu de acizi triterpenici este
13 de 2,60...4,2 g/100 g plantă uscată.

9 2. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** *Salvia officinalis* se
11 recoltează în faza fenologică în care lăstarii floriferi au peste 50% din fructele mature scuturate,
13 și are un conținut mediu de acizi triterpenici de 3,7...4,2 g/100 g plantă uscată în cultura convențio-
15 nală/ecologică.

13 3. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** *Satureja hortensis L*
15 se recoltează în faza fenologică în care la majoritatea inflorescențelor de pe plantă sunt formate
17 fructe mature, și are un conținut mediu de acizi triterpenici de 2,75...3,9 g/100 g plantă uscată
19 în cultura convențională/ecologică.

17 4. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** *Ocimum basilicum* se
19 recoltează în faza fenologică în care pe inflorescențele centrale și principale sunt formate fructe
mature la verticilele dispuse în treimea bazală, și are un conținut mediu de acizi triterpenici de
2,60...3,0 g/100 g plantă uscată în cultura convențională/ecologică.



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 79/2016