



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2011 00663**

(22) Data de depozit: **14/07/2011**

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

(41) Data publicării cererii:
29/03/2013 BOPI nr. **3/2013**

(73) Titular:
• **BIOING S.A., STR.PROF.ION BOGDAN
NR.10, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **ICHIM MARIA, STR.HUȘI NR.7, BL.PA 1,
SC.2, ET.3, AP.26, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **ENACHE RAMONA, STR.APUSULUI
NR.26-28, BL.N 29, SC.2, ET.4, AP.37,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **ICHIM LIVIU-IONEL, STR.HUȘI NR.7,
BL.PA 1, SC.2, ET.3, AP.26, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **VIȘAN ADRIANA, STR.FELEACU NR.6,
BL.101, SC.2, ET.2, AP.21, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **GRIGORE ALICE ELENA, BD.UVERTURII
NR.43, BL.1, AP.131, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **COLCERU-MIHUL
SVETLANA-GABRIELA,
STR.RÂMNICU SĂRAT NR.29, BL.11 A1,
SC.1, AP.42, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,
RO;**

• **PARASCHIV ILEANA CĂTĂLINA,
CALEA VICTORIEI NR.155, BL.D 1, SC.3,
ET.10, AP.101, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B,
RO;**
• **NIȚĂ SULTANA, STR.BĂRBAT VOIEVOD
NR.21, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **IUKSEL RASIT, BD.DINICU GOLESCU
NR.37, BL.4, SC.B, AP.40, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **DRĂGHICI ELENA, ALEEA FIZICIENILOR
NR.8, BL.3 D, SC.2, AP.73, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **IONESCU DANIELA,
STR.ÎMPĂRATUL TRAIAN NR.3, BL.B 12,
SC.3, ET.2, AP.82, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **POPA OVIDIU, CALEA GRIVIȚEI NR.206,
BL.K, SC.D, ET.6, AP.26, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **BABEANU NARCISA, ȘOS.VIRTUȚII
NR.5, BL.R 2, SC.D, ET.5, AP.50,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
**RO 120529 B1; RO 122125 B1;
RO 125699 B1**

(54) **PRODUS FITOTERAPEUTIC ANTIMICROBIAN ȘI PROCEDEU
DE OBTINERE A ACESTUIA**



Ro 128192 B1

1 Inventția se referă la un produs fitoterapeutic antimicrobian, și la procedeul de obținere a acestuia, cu utilizare farmaceutică.

3 Este cunoscut că părțile aeriene ale speciei *Thymus vulgaris* L. (*Thymi herba*) au acțiune antiinfecțioasă, respectiv, acțiune antiseptică și antifungică, prin conținutul fenolic
5 ai uleiului volatil și ai taninului. Uleiul volatil, care conține în principal timol și carvacrol, geraniol, linalol, *p*-cimen, precum și alte hidrocarburi monoterpene, alcoolii monoterpene
7 și esteri, demonstrează activitate antimicrobiană față de un spectru larg de bacterii, acțiune antifungică datorată, în special, timolului, antivirală, parazitocidă, antispastică, anestezică
9 locală etc.

11 Este cunoscut că uleiul din frunzele speciei *Salvia officinalis* L. (*Salviae folium*), conținând hidrocarburi mono- și sesquiterpenice, alcoolii diterpenici, fenoli, oxizi, aldehide și
13 cetone, esteri derivați ai acidului abietic, cumarine, eteri, trans-lactone, demonstrează acțiune mucolitică, lipolitică, reglatoare a circulației sanguine, colagog-coleretică, antibacteriană față
15 de *Staphylococcus aureus* și streptococul β -hemolitic grupa A, și moderată față de *Klebsiella* sp., *Pseudomonas* sp., *Escherichia coli*, activitate antifungică față de *Candida albicans*,
17 antivirală, cicatrizantă (V. Istudor - Farmacognozie, fitochimie, fitoterapie, vol. 2, Ed. Medicală, București, 2001).

19 Este cunoscut, de asemenea, că uleiul volatil din somitățile florale provenite de la specia *Achillea millefolium* L. (*Millefolii flores*), conținând hidrocarburi mono- și sesquiterpenice
21 și oxizi terpenici, demonstrează activitate stomahică, astringentă, antiinflamatoare, calmantă, ușor antiseptică și tonic amară (D. Gr. Constantinescu, E. Hatieganu, F. Busuricu - Plante
23 medicinale utilizate în terapeutică - Ed. Medicală, București, 2004).

25 **RO 122182** descrie un produs fitoterapeutic antimicrobian, care conține 4,927...6,022% substanță uscată, 0,051...0,062% flavone exprimate în rutozid și 12,746...15,579% alcool sub
27 formă de soluție orală, de culoare brună, cu densitatea d_{20}^{20} 0,950...1,009 și pH 5,35...5,55, și procedeul de obținere a acestuia, care constă în aceea că se extrag principiile active din
29 materialul vegetal uscat și măcinat din *Mori radix*, cu solvent hidroalcoolic 70% v/v, raport material vegetal/solvent 1/15 m/v, la temperatura de fierbere a amestecului, cu refluxarea
31 solventului, timp de 2 h, cu agitare, după care soluția extractivă se concentrează la un raport material vegetal/soluție concentrată 1/2 m/v, apoi se lasă în repaus timp de 48 h, la temperatura
33 de 6...8°C, substanțele insolubile se îndepărtează prin filtrare, și volumul se completează cu alcool etilic de 20% v/v, la un raport material vegetal/produs fitoterapeutic 1/2m/v.

35 **RO 120529 B1** se referă la o compoziție antioxidantă, pe bază de extracte naturale, pentru tratarea psoriazisului, ce constă în aceea că va cuprinde flavonoide, terpenoide,
37 alantoină și derivați antraceni, extrase la o temperatură cuprinsă în intervalul 30...60°C, din plantele: *Arctium lappa*, *Rumex acetosa*, *Urtica dioica*, *Viola tricolor*, *Calendula officinalis*,
39 *Alchillea millefolium*, *Equisetum arvense*, *Chelidonium majus*, *Salvia officinalis*, *Hypericum perforatum*, *Chamomillae flos*, *Borago officinalis*, *Cynara scolymus*, semințe de strugure negru,
41 *Gallium molluga*, *Aristolochia clematidis*, *Symphytum officinalis*, *Rosa centifolia*, astfel alese, încât raportul dintre antioxidant/ antifungic/cicatrizant/antihepatic/diuretic/limfatic/antiinflamator/relaxant nervos să fie: 0...3 : 0...3 : 0...3 : 0...1 : 0...1 : 0...1 : 0...3.

43 **RO 122125 B1** descrie un produs fitoterapeutic utilizat în tratamentul afecțiunilor cutaneo-mucoase, și procedeul de preparare a acestuia. Produsul fitoterapeutic sub formă
45 de emulsie de culoare brună, utilizat în afecțiunile cutaneo-mucoase, constă în aceea că este constituit din 50 părți produs bioactiv, obținut prin prelucrarea soluțiilor extractive din speciile
47 *Melissa officinalis*, *Origanum vulgare*, *Lycnis coronaria*, 1 parte ulei volatil din specia *Thymus vulgaris*, 4 părți emulgatori și 45 părți apă deionizată, părțile fiind exprimate în greutate, cu

Ro 128192 B1

un conținut de 0,55...0,10% flavone exprimate în rutozid, și 0,55...0,95% *orto*-dihidroxifenoli exprimați în acid cafeic, și la un procedeu de preparare a produsului fitoterapeutic, ce constă în aceea că se omogenizează 50 părți produs bioactiv, rezultat din extracția succesivă a principiilor active din 30 părți *Melissae herba*, 35 părți *Origani herba* și 35 părți de *Lychnis herba*, cu alcool etilic 30%, raport 1/5...1/20 g material vegetal/ml solvent, la temperatura de reflux, timp de 30...120 min, cu agitare, se îndepărtează deșeurile de plantă prin filtrare, și se omogenizează soluțiile extractive obținute, se concentrează soluția până la un conținut de 0,25...0,50% flavone exprimate în rutozid, și 1,50...2,80% *orto*-dihidroxifenoli exprimați în acid cafeic, se purifică soluția extractivă prin adăugare de alcool etilic până la o concentrație de 30%, se îndepărtează substanțele insolubile prin filtrare la presiune redusă, și se completează volumul la 1/2 g plantă/ml produs activ, 1 parte ulei volatil din *Thymus herba*, 4 părți emulgatori și 45 părți apă deionizată, părțile fiind exprimate în greutate.

RO 125699 B1 prezintă un produs antioxidant de natură vegetală și procedeul de obținere. Produsul constă în aceea că este constituit dintr-un complex de compuși polifenolici cu conținut de 25...30% flavonoide exprimate în rutozidă, și 25...30% acizi polifenolcarboxilici exprimați în acid cafeic, izolați din amestecul de *Crataegi sp. flores et folium*, *Salviae sp. herba* și *Cichorii herba*, în raport de 1 : 1 : 1 m/m/m, cu 82...160% indice de protecție. Procedeul de obținere constă în aceea că se supune extracției materialul vegetal constituit dintr-un amestec alcătuit din *Crataegi sp. flores et folium*, *Salviae sp. herba* și *Cichorii herba*, în raport de 1 : 1 : 1 m/m/m, timp de 3 h, iar soluția extractivă se separă, se concentrează sub presiune redusă, până la un volum corespunzător unui raport 1 : 1 v/m față de materialul vegetal, după care se diluează soluția metanolică, concentrată, cu un volum egal de apă, se elimină alcoolul metilic prin distilare sub presiune redusă, se menține soluția apoasă concentrată la temperatura de 5...10°C, timp de 24 h, apoi se separă reziduuul clorofilian, se spală soluția apoasă prin agitare cu solvenți nepolari: clorură de metilen, cloroform, în raport de 1 : 1 v/v, de 3 ori succesiv, iar extractele organice reunite se concentrează sub presiune redusă până la reziduu, sau se atomizează.

Problema tehnică obiectivă, pe care urmărește să o rezolve invenția, constă în realizarea unui produs fitoterapeutic cu utilizare în terapia infecțiilor microbiene.

Soluția tehnică la această problemă constă în aceea că se asociază într-o compoziție următoarele componente: uleiul volatil din *Thymi herba*, *Salviae folium* și *Millefolii flores*.

Produsul fitoterapeutic antimicrobian, conform invenției, conține ulei volatil din plantele *Thymi herba*, *Salviae folium* și *Millefolii flores* având: timol, linalol, tuionă, limonen, 3,906...5,858% acizi polifenolcarboxilici exprimați în acid rosmarinic și 2,265...3,397% flavone exprimate în rutozid, identificate gaz-cromatografic, iar procedeul de obținere, conform invenției, constă în aceea că se antrenează uleiul volatil din *Thymi herba*, *Salviae folium* și *Millefolii flores* cu vapori de apă în circuit închis, raport plantă/ solvent = 1/10 m/v la temperatura de fierbere, timp de 2..5 h, cu agitare, se prelucrează extractul apos din *Thymi herba* rămas după antrenarea uleiului volatil prin concentrare, repaus la 4...6°C, timp de 24 h, și atomizare, urmată de înglobarea în 100 părți în greutate extract atomizat a câte 2 părți în volum ulei volatil din fiecare specie, omogenizarea, pulverizarea și cernerea produsului.

Produsul fitoterapeutic și procedeul de obținere prezintă următoarele avantaje:

- se diversifică gama de produse cu utilizare în terapia infecțiilor microbiene cu un produs natural, de origine vegetală, în cazul bacteriilor rezistente la tratamentul clasic;
- produsul are o toxicitate redusă;
- tehnologia are un număr redus de faze;
- tehnologia este nepoluantă, nu rezultă deșeuri toxice sau ape reziduale.

Ro 128192 B1

1 Se prezintă în continuare un exemplu de realizare a invenției.

2 **Exemplul 1.** Materialul vegetal utilizat constă în părțile aeriene ale speciei *Thymus*
3 *vulgaris* (*Thymi herba*), uscate și măcinate prin sita III, frunzele speciei *Salvia officinalis*
4 (*Salviae folium*), uscate și măcinate prin sita III, și somitățile florale ale speciei *Achillea*
5 *millefolium* (*Millefolii flores*), uscate și măcinate prin sita III.

6 Fazele tehnologice parcurse pentru obținerea a 1 kg produs fitoterapeutic sunt
7 următoarele:

8 **Obținerea uleiului volatil din *Thymi herba***

9 Într-un vas de inox de capacitate 250 l, prevăzut cu manta de încălzire, refrigerent
10 de sticlă, sistem de colectare a uleiului volatil în circuit închis, din sticlă, sistem de agitare
11 și ștuț de evacuare, se introduc 12 kg material vegetal, constând din părțile aeriene ale speciei
12 *Thymus vulgaris*, și 120 l apă distilată (raport plantă/solvent = 1/10 m/v), și se încălzește
13 amestecul la fierbere timp de 2 h, cu agitare continuă. După răcirea vaporilor de apă, la
14 trecerea prin refrigerent, se obține uleiul volatil în sistemul de colectare, iar apa se recirculă.
15 Rezultă 48 ml ulei volatil de culoare galbenă, cu miros caracteristic, gust iute-arzător, insolubil
16 în apă/solubil în alcool etilic.

17 La analiza gaz-cromatografică se observă că uleiul volatil conține în special timol,
18 *p*-cimen, linalol, carvacrol.

19 **Obținerea uleiului volatil din *Salviae folium***

20 Într-un vas de inox de capacitate 250 l, prevăzut cu manta de încălzire, refrigerent
21 de sticlă, sistem de colectare a uleiului volatil în circuit închis, din sticlă, sistem de agitare
22 și ștuț de evacuare, se introduc 2,5 kg material vegetal, constând din frunzele speciei *Salvia*
23 *officinalis*, și 25 l apă distilată (raport plantă/solvent = 1/10 m/v), și se încălzește amestecul
24 la fierbere timp de 5 h, cu agitare continuă. După răcirea vaporilor de apă, la trecerea prin
25 refrigerent, se obține uleiul volatil în sistemul de colectare, iar apa se recirculă. Rezultă 21 ml
26 ulei volatil de culoare slab gălbuie, cu miros caracteristic, gust arzător, insolubil în apă/solubil
27 în alcool concentrat.

28 La analiza gaz-cromatografică se observă că uleiul volatil conține în special tuionă,
29 camfor, cineol.

30 **Obținerea uleiului volatil din *Millefolii flores***

31 Într-un vas de inox de capacitate 250 l, prevăzut cu manta de încălzire, refrigerent
32 de sticlă, sistem de colectare a uleiului volatil în circuit închis, din sticlă, sistem de agitare
33 și ștuț de evacuare, se introduc 10 kg material vegetal, constând din inflorescențele speciei
34 *Achillea millefolium*, și 100 l apă distilată (raport plantă/solvent = 1/10 m/v), și se încălzește
35 amestecul la fierbere timp de 5 h, cu agitare continuă. După răcirea vaporilor de apă la
36 trecerea prin refrigerent, se obține uleiul volatil în sistemul de colectare, iar apa se recirculă.
37 Rezultă 21 ml ulei volatil de culoare albastră, cu miros aromat specific, gust amar, insolubil
38 în apă/solubil în alcool concentrat.

39 La analiza gaz-cromatografică se observă că uleiul volatil conține în special azulene,
40 cineol, tuină, borneol.

41 **Obținerea extractului atomizat din *Thymi herba***

42 Soluția extractivă apoasă, obținută după antrenarea uleiului volatil în circuit închis,
43 din 12 kg material vegetal, după îndepărtarea deșeurilor de plantă prin filtrare și presare (82 l),
44 se concentrează la 18 l (raport plantă/extract concentrat = 1/1,5 m/v), și soluția concentrată
45 se lasă în repaus la temperatura de 4...6°C, timp de 24 h, după care se centrifughează. Soluția
46 concentrată limpede se introduce, cu ajutorul unei pompe peristaltice, în echicurent cu aer
47 uscat prin răcire, cu ajutorul unui dezumidicator, într-un atomizor cu încălzire electrică. Se
48 programează temperatura de intrare 130°C și temperatura de ieșire la aproximativ 60°C.

Ro 128192 B1

Produsul atomizat se colectează în vas cu ajutorul unui ciclon sub formă de pulbere fină. Se obțin 1040 g extract atomizat de culoare brună, cu miros caracteristic și gust amar aromat. Extractul atomizat conține 7,16% acizi polifenolcarboxilici exprimați în acid rosmarinic, și 3,257% flavone exprimate în rutozid.

Obținerea produsului fitoterapeutic

Într-un vas de porțelan, de capacitate 5 l, se omogenizează 1040 g extract atomizat din *Thymi herba* cu 20,8 ml ulei volatil din *Thymi herba*, 20,8 ml ulei volatil din *Salviae folium* și 20,8 ml ulei volatil din *Millefolii flores*. După omogenizare, produsul este pulverizat și cernut prin sita VIII. Se obțin 1,010 kg produs sub formă de pulbere fină, de culoare brună, care este condiționat sub formă de capsule de 250 mg. Se obțin 4000 de capsule de uz oral.

Produsul conține timol, linalol, cineol, tuionă, limonen identificați gaz-cromatografic, și 4,882% acizi polifenolcarboxilici exprimați în acid rosmarinic, și 2,831% flavone exprimate în rutozid.

În continuare este descrisă pe larg invenția.

Produsul fitoterapeutic, conform invenției, este constituit din 2 părți în volum ulei volatil obținut din *Thymi herba*, 2 părți în volum ulei volatil din *Salviae folium* și 2 părți în volum ulei volatil din *Millefolii flores*, înglobate în 100 părți în greutate extract atomizat, obținut prin prelucrarea soluției extractive apoase din *Thymi herba*, și se prezintă sub formă de pulbere omogenă, conținând timol, linalol, cineol, tuiona, limonen, 4,882% acizi polifenolcarboxilici exprimați în acid rosmarinic, și 2,821% flavone exprimate în rutozid.

Procedeele de obținere a produsului fitoterapeutic, conform invenției, constă din extracția uleiurilor volatile din *Thymi herba*, *Salviae folium* și *Millefolii flores*, prin antrenare cu vapori de apă în circuit închis, raport plantă/solvent = 1/10m/v, la temperatura de fierbere a amestecului, timp de 2...5 h, colectarea uleiului volatil, îndepărtarea deșeurilor de plantă prin filtrare și presare, prelucrarea soluției extractive apoase din *Thymi herba* prin concentrare la un volum de 1,5/1 v/m față de cantitatea de material vegetal, centrifugare pentru îndepărtarea substanțelor insolubile, atomizarea soluției concentrate și înglobarea a câte 2 părți în greutate ulei volatil din fiecare specie în extract atomizat.

TESTĂRI FARMACOLOGICE

Compoziția uleiului volatil demonstrează activitate antimicrobiană, astfel:

- timolul manifestă activitate asupra bacteriilor Gram-pozitive și Gram-negative, ca *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae* și *Streptococcus pyogenes*, dar și asupra drojdiilor de tipul *Candida* (interferează cu formarea și viabilitatea hifelor, inducând alterări morfologice ale membranei). De asemenea, inhibă creșterea miceliilor de *Aspergillus flavus* și *A. niger*, și producerea de micotoxine în cazul *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. ochraceus* și *Fusarium moniliforme*;

- cineolul este frecvent activ pe *Staphylococcus aureus*.

La testarea activității antimicrobiene s-a demonstrat că produsul manifestă activitate față de tulpini bacteriene-test Gram-negative (*Escherichia coli* ATCC 8739 și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027), Gram-pozitive (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923), levuri (*Candida albicans* ATCC 10231) și fungi (*Aspergillus niger* ATCC 16404) la concentrații cuprinse în intervalul 1...5 mg/ml (0,1...0,5%). Tulpinile testate dețin un potențial patogen ridicat. Astfel, bacteria *E. coli* poate produce infecții digestive sau ale tractului urinar; infecțiile cu *Pseudomonas aeruginosa* sunt o cauză frecventă de morbiditate și mortalitate a pacienților spitalizați, iar tratamentul a devenit complicat din cauza rezistenței (intrinseci și dobândite) acestei bacterii și, de aceea, foarte multe aspecte ale tratamentului rămân controversate; *Staphylococcus aureus* poate produce infecții supurative sau chiar septicemii la om și animale, patogenitatea fiind exercitată atât de structura sa, cât și de enzimele produse; *Candida albicans* poate

Ro 128192 B1

1 determina atât infecții ale mucoaselor, cât și sistemice, în special la persoanele imunocom-
3 promise, la care evoluția devine severă; *Aspergillus niger* produce în special otomicoze sau
infecții pulmonare.

5 La testarea toxicității produsului conform invenției, în experiment acut, prin
administrarea orală de 500...7500 mg/kgc la șoarece, nu au fost induse fenomene toxice sau
letalitate.

7 Doza de 7500 mg/kgc la șoarece este corespunzătoare dozei 5000 mg/kgc la
șobolan - doză minimă de încadrare în categoria substanțelor practic netoxice.

Ro 128192 B1

Revendicări

1. Produs fitoterapeutic antimicrobian, sub formă de pulbere fină, de culoare galben-brun, cu gust amar aromat și miros caracteristic, **caracterizat prin aceea că va conține** ulei volatil din plantele *Thymi herba*, *Salviae folium* și *Millefolii flores* având: timol, linalol, tuionă, limonen, 3,906...5,858% acizi polifenolcarboxilici exprimați în acid rosmarinic, și 2,265...3,397% flavone exprimate în rutozid, identificate gaz-cromatografic. 3 5 7
2. Procedeu de obținere a produsului fitoterapeutic definit în revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că se antrenează** uleiul volatil din *Thymi herba*, *Salviae folium* și *Millefolii flores* cu vapori de apă în circuit închis, raport plantă/solvent = 1/10 m/v, la temperatura de fierbere, timp de 2..5 h, cu agitare, se prelucrează extractul apos din *Thymi herba* rămas după antrenarea uleiului volatil prin concentrare, repaus la 4...6°C, timp de 24 h și atomizare, urmată de înglobarea, în 100 părți în greutate extract atomizat, a câte 2 părți în volum ulei volatil din fiecare specie, omogenizarea, pulverizarea și cernerea produsului. 9 11 13



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 92/2016