



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2017 00636**

(22) Data de depozit: **12/09/2017**

(41) Data publicării cererii:  
**29/03/2019** BOPI nr. **3/2019**

(71) Solicitant:

• INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE CHIMICO-  
FARMACEUTICĂ - ICCF BUCUREȘTI,  
CALEA VITAN NR.112, SECTOR 3,  
BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

• BUBUEANU ELENA CORINA,  
STR.CETATEA DE BALTĂ NR.11-39, BL.31,  
SC.C, ET.2, AP.50, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• POPA GABRIELA, STR.TEIU DOAMNEI  
NR.7, BL.31, SC.A, ET.2, AP.18, SECTOR 2,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• CORNEA CĂLINA PETRUȚA,  
STR.SERG.MUȘAT CONSTANTIN NR.1,  
BL.16, SC.2, AP.25, SECTOR 5,  
BUCUREȘTI, B, RO;

• ZAGREAN VALENTIN ALEXANDRU,  
ȘOS.PANDURI NR.60, BL.A, SC.2, AP.67,  
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;  
• MUNTEANU LAURENȚIU,  
STR.SACHELARIE NR.8A, SAT ZĂVOI,  
ȘTEFĂNEȘTI, AG, RO;  
• GRIGORE ALICE ELENA, BD.UVERTURII  
NR.43, BL.1, AP.131, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• PIRVU LUCIA CAMELIA, STR. BACIA  
NR. 11A, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;  
• IUKSEL RASIT, BD.DINICU GOLESCU  
NR.37, BL.4, SC.B, AP.40, SECTOR 1,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• PANTELI IRINA MINERVA,  
STR.SPĂΤARUL NICOLAE MILESCU  
NR.46-48, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO

(54) **COMPOZIȚII TERAPEUTICE NATURALE, OBȚINUTE  
DIN MACROMICETE, CU ACȚIUNE ANTIINFLAMATOARE,  
HIPOGLICEMIANTĂ ȘI HIPOLIPEMIANTĂ, ȘI PROCEDEE  
DE OBȚINERE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o compoziție terapeutică având acțiune antiinflamatoare, hipoglicemiantă și hipolipemiantă, și la un procedeu pentru obținerea acesteia, cu utilizare în industria farmaceutică. Compoziția conform inventiei este sub formă de soluție de culoare brună, cu gust amar și miros aromatic, având un conținut de 2,93...3,92 g/100 g polifenoli totali, exprimată în acid galic. Procedeul conform inventiei constă în extracția în două etape succesive a principiilor active din materia primă constând din micromicete *Agaricus campestris*,

*Pleurotus ostreatus*, *Laetiporus sulphureus*, individual sau în amestec, în raport volumic, respectiv, masic 2/1/1 sau 1/2/1, cu acetat de etil în raport materie primă/solvent de 1/10 m/v, respectiv, alcool etilic 50% în raport 1/10 m/v, după care soluțiile extractive din cele două etape se reunesc și se concentreză până la un volum predeterminat.

Revendicări: 4

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de inventie a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de inventie este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



## DESCRIEREA INVENTIEI

# COMPOZITII TERAPEUTICE NATURALE OBTINUTE DIN MACROMICETE CU ACTIUNE ANTIINFLAMATOARE, HIPOGLICEMIANTA SI HIPOLIPEMIANTA SI PROCEDEE DE OBTINERE

Autori: Bubueanu Elena Corina, Popa Gabriela, Cornea Calina Petruta, Zagrean Valentin Alexandru, Munteanu Laurentiu, Grigore Alice Elena, Pirvu Lucia Camelia, Iuksel Rasit, Panteli Minerva

### **Domeniul tehnic la care se refera inventia**

Inventia se refera la compozitii terapeutice naturale obtinute din macromicete cu actiune antiinflamatoare, hipoglicemianta si hipolipemianta cu utilizare in industria farmaceutica, de uz uman, cu administrare orala si procedee de obtinere ale acestora realizate prin extractia principiilor active, in doua etape succesive, din speciile de ciuperci (macromicete) *Agaricus campestris*, *Pleurotus ostreatus* si *Laetiporus sulphureus*.

### **Stadiul tehnicii**

Este cunoscut faptul ca in compozitia chimica a ciupercilor sunt cuprinsi compusi bioactivi care le confera abilitatea de a exercita efecte benefice pentru organismele umane, prin proprietati antitumorale, imunomodulatoare, hipocolesterolemice, antibacteriale, antivirale, antidiabetice, antiinflamatorii (Valverde et al., 2015; Wasser, 2014).

Este cunoscut ca specia *Agaricus campestris* (fam. *Agaricaeae*) contine proteine (Mendoza CG et al. 1979) si aminoacizi – in special ergotioneina (Woldegiorgis A.Z. et al, 2014), polizaharide (Mendoza CG et al, 1979), microelemente (Falandysz J, 2008), polifenoli printre care acid galic, acid p-hidroxibenzoic si miricetin (Woldegiorgis A.Z. et al, 2014).

Este cunoscut potentialul antioxidant (Woldegiorgis A.Z. et al, 2014), hipoglicemiant (A M Gray and P R Flatt, 1998; Dilani D. De Silva et al. 2012), antimicrobial (Subrata Giri et al. 2012) al speciei *Agaricus campestris*.

Este cunoscut ca specia *Pleurotus ostreatus* (fam. *Pleurotaceae*) contine polizaharide (glucan, proteoglycan, polizaharid POPw, polizaharid POP, heteropolizaharide – PSPO-1a si PSPO-14) (Subrata Giri et al. 2012), proteine, aminoacizii: acid aspartic, treonina, serina, acidul glutamic, prolina, glicina, alanina, cisteina, valina, metionina, izoleucina, leucina, tirozina, fenilalanina, histidina, lizina si

arginina (Yitzhak Hadar, And Ephraim 1986), acizi grasi (acid palmitic, acid stearic, acid oleic, acid linoleic) (Karine Pedneault, et al 2007), compusi polifenolici (acid p-cumaric, acid ferulic, acid galic, acid gentisic, acid p-hidroxibenzoic, acid homogentisic, miricetin si acid protocatehic) (I. Palacios et al. 2011), vitamine ( $\alpha$  – tocoferol,  $\beta$ - caroten, vitamina C) (T. Jayakumar, et al. 2011).

Este cunoscut ca specia *Pleurotus ostreatus* are proprietati antioxidantane determinate pe diferite modele experimentale *in vivo* si *in vitro* pentru polizaharidele PSPO-1a si PSPO-4a (Fengguo Xia, et al. 2011) si pentru compusi polifenolici (Patrícia A. Fontes Vieira, et al, 2013; Shu-Yao Tsai, et al. 2009), imunomodulatoare/antitumorale prin compozitia in polizaharide, hipコレsterolemiant si hipotriglicemiante (Inga Schneider, et al. 2011) si antiinflamatoare (Qi Yang, et al. 2012).

Este cunoscut ca specia *Laetiporus sulphureus* (fam. *Polyporaceae*) contine proteine (lectine) (Hexiang Wanga, et al. 1998), acizi grasi polinesaturati ( $\alpha$ -,  $\gamma$ - si  $\delta$ -tocopheroli), acizii organici (acidul oxalic si citric) (Petrović J, et al. 2014), compusi volatili ( Sylvie Rapiora, et al. 2000), polizaharide (laminaran si fucomanogalactan) (Olennikov DN, et al 2011), poliene (acid laetiporic – pigment orang principal) (Roland W.S. Werbera et al., 2004; Paolo Davoli, Adele Mucci et al., 2005), enzime (Jae-Won Lee, et al 2009), compusi fenolici (quercetin, kaempferol, (+)-catechin, acizii p-cumaric, galic, cafeic, si clorogenic) (Olennikov DN, et al 2011).

Este cunoscut ca specia *Laetiporus sulphureus* are proprietati antioxidantane atribuite continutului sau in polizaharide si compusi polifenolici (Aziz Turkoglu, et al 2007; Olennikov DN, et al 2011; Seong-Eun Kim, et al. 2012; Klaus A, et al. 2013; Petrović J, et al. 2014), antitumorale datorate prezentei lanostenelor, (grup de triterpenoide tetraciclice derivate din lanosterol) cat si exopolizaharidelor (Ríos JL, et al 2012; León F, et al. 2008; Ming Yeou Lung,et al. 2011), antimicrobiene (Rabin Gyawali, Salam A. 2014).

Brevetul WO 2001027305 (A1) – 2001-04-19, descrie o noua si distincta tulipa de ciuperci (Basidiomicete) si un proces de crestere in cultura submersa, specific o tulipa noua de specie din genul *Pleurotus* cu concentratii superioare un compusi biologic activi, cu exemplificare in compusi cu proprietati de scadere a colesterolului, ca lectine, proteine, aminoacizi esentiali, vitamine si polizaharide.

Cererea de brevet RO 129336 (A2) 2011-08-10, face referire la produse bioprotective din ciuperci si procedee pentru obtinerea acestora, din genul *Pleurotus* cu utilizare ca suplimente functionale si/sau energizante, care au o actiune antitumorala, antiinflamatoare, anticolesterolemica, antireumatismala si energizanta.

Brevetul UA83530 (C2) – 2008-07-25 descrie o metoda de producere a unui complex proteine-polizaharide obtinut prin extractie din ciuperca *Pleurotus ostreatus* cu actiune hipolipemianta.

Brevetul US 6759049 (B2) 2004-07-06 se incadreaza in domeniul farmaceutic si dietetic, facand referire la o compositie farmaceutica si/sau dietetic bazata pe ciuperci, caracterizata prin faptul ca contine una sau mai multe specii de ciuperci comestibile (selectate dintre speciile *Armillaria mellea*, *Agaricus bisporus*, *Boletus edulis*, *Cordyceps sinensis*, *Coriolus versicolor*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum*, *Hericium erinaceus*, *Hypsizygus marmoreus*, *Auricularia auricula-Judae*, *Phellinus linteus*, *Pleurotus ostreatus*, *Grifola frondosa*, *Agaricus campestris*, *Lentinus edodes*, *Tremella fuciformis* si *Volvariella volvacea*) si chitosan, cu proprietati terapeutice

Brevetul US 20140356393 (A1) 2014-04-12, descrie o compositie pentru tratamentul si preventia hiperlipidemiei, care contine extract apos de *Laetiporus sulphureus* ca ingredient activ si la un medicament sau supliment alimentar care contine extracte.

Brevetul CN103961379 (A) – 2014-08-06 face referire la un extract obtinut din *Laetiporus sulphureus* si la compusul acid B trametenloic cu activitate antiinflamatoare, ce poate fi utilizat in artrita reumatoida cronica si acuta, hepatita cronica si acuta, mastita sau alte afectiuni inflamatorii.

### **Prezentarea problemei tehnice**

Problema pe care o rezolva inventia consista in realizarea unor compositii naturale obtinute din macromicete, de uz oral, uman, cu actiune antiinflamatoare, hipoglicemianta, hipolipemianta, fara reactii adverse sau efecte secundare, cu utilizare ca adjuvant in terapia diabetului si in terapiile hipolipemianti, care se prezinta sub forma unor solutii, de culoare bruna, cu gust amar si miros aromat, cu continut de 2,93.....3,92 g/100g polifenoli totali exprimati in acid galic.

Produsele naturale conform inventiei sunt obtinute fie prin extractia, in doua etape succesive, a principiilor active din amestec de materie prima (macromicete *Agaricus campestris*, *Pleurotus ostreatus*, *Laetiporus sulphureus* in raport de 2/1/1m/m/m, respectiv 1/2/1m/m/m, fie prin asocierea a 3 extracte, individuale, selective (in raport de 2/1/1v/v/v; 1/2/1v/v/v), obtinute prin doua extractii succesive din materiile prime individuale. Pentru ambele variante prima extractie se efectueaza cu acetat de etil raport materie prima/solvent 1/10 m/v si a doua extractie cu alcool etilic 50% v/v, raport materie prima/solvent 1/10m/v.

### **Inventia prezinta urmatoarele avantaje:**

- se diversifica gama de compositii terapeutice naturale cu actiune complexa (antiinflamatoare, hipolipemianta si hipoglicemianta), obtinute din ciuperci (macromicete), care pot fi utilizate ca adjuvant in terapia diabetului si in terapiile hipolipemianti;

- produsul este practic netoxic si nu are reactii adverse sau efecte secundare;
- se utilizeaza o materie prima naturala accesibila, de provenienta autohtona, regenerabila;
- tehnologia poate fi realizata pe o instalatie industriala de prelucrare a plantelor fara a necesita o investitie deosebita;
- solventii organici se recupereaza si nu rezulta deseuri toxice.

### **Exemplu de realizare a inventiei.**

Materia prima consta in corpii de fructificatie ai speciilor *Agaricus campestris*, *Pleurotus ostreatus* si *Laetiporus sulphureus*, uscati si macinati, sita III.

Fazele tehnologice pentru obtinerea compozitiilor terapeutice naturale sunt urmatoarele:

*Obtinerea produselor naturale prin extractia principiilor active din amestec de materie prima:*

Intr-un vas de inox cu capacitate de 250L, prevazut cu gura de alimentare, stuf de evacuare, manta de incalzire, refrigerent de sticla si sistem de agitare, se introduc 10kg amestec de materie prima care consta in corpii de fructificatie ai speciilor de ciuperci *Agaricus campestris*, *Pleurotus ostreatus* si *Laetiporus sulphureus* in raport de a) 2/1/1 m/m/m, respectiv b) 1/2/1 m/m/m si 100L acetat de etil, se incalzeste amestecul la temperatura de fierbere si se agita continuu timp de 1 ora cu refluxarea solventului. Dupa terminarea extractiei I, se intrerupe incalzirea, iar dupa racire solutia extractiva I, se filtreaza. Solutia extractiva I se concentreaza la temperatura de 60°C si presiunea de 72-75 mm Hg pentru eliminarea solventului si se reia in 10L alcool etilic 50% v/v. Materia prima se scoate din vas si se usuca. Materia prima uscata se reintroduce in vasul de extractie unde se introduc pentru a doua extractie 100 L solvent alcool etilic/apa in raport de 1/1 v/v si se efectueaza extractia principiilor active in aceleasi conditii, obtinandu-se solutia extractiva II, dupa indepartarea deseului de ciuperca. Solutia extractiva II se concentreaza la temperatura de 60°C si presiunea de 72-75 mm Hg pentru eliminarea solventului si se reia in 10L alcool etilic 50% v/v. Solutiile extractive I si II se reunesc si se concentreaza pana la un volum de 10 L. Se obtin cate 10L compozitii terapeutice naturale obtinute din ciuperci sub forma de solutii de culoare bruna cu gust amar si miros aromat, continand a) 2,93.....3,87% polifenoli totali exprimati in acid galic, respectiv, b) 2,96....3,92% polifenoli totali exprimati in acid galic.

*Obtinerea produselor naturale prin extractia principiilor active din materii prime individuale:*

Intr-un vas de inox cu capacitate de 250L, prevazut cu gura de alimentare, stuf de evacuare, manta de incalzire, refrigerent de sticla si sistem de agitare, se introduc 10kg corpii de fructificatie ai speciei de ciuperci *Agaricus campestris* sau *Pleurotus ostreatus* sau *Laetiporus sulphureus*, 100L acetat de etil, se incalzeste amestecul la temperatura de fierbere si se agita continuu timp de 1 ora cu refluxarea solventului. Dupa terminarea extractiei I, se intrerupe incalzirea, iar dupa racire solutia extractiva I, se filtreaza. Solutia extractiva I se concentreaza la temperatura de 60°C si presiunea de 72-75 mm Hg pentru eliminarea solventului si se reia in 10L alcool etilic 50% v/v. Materia prima se scoate din vas si se usuca. Materia prima uscata se reintroduce in vasul de extractie unde se introduc pentru a doua extractie 100 L solvent alcool etilic/apa in raport de 1/1 v/v si se efectueaza extractia principiilor active in aceleasi conditii, obtinandu-se solutia extractiva II, dupa indepartarea deseului de ciuperca. Solutia extractiva II se concentreaza la temperatura de 60°C si presiunea de 72-75 mm Hg, pentru eliminarea solventului si se reia in 10L alcool etilic 50% v/v. Solutiile extractive I si II se reunesc si se concentreaza pana la un volum de 10 L. Se obtin cate 10L extract sub forma de solutie de culoare bruna cu gust amar si miros aromat, continand 1,57% polifenoli totali exprimati in acid galic pentru *Agaricus campestris*, 1,62% polifenoli totali exprimati in acid galic pentru *Pleurotus ostreatus* si 3,28% polifenoli totali exprimati in acid galic pentru *Laetiporus sulphureus*.

Compozitiile terapeutice naturale constau in asocierea celor trei extracte - *Agaricus campestris*, *Pleurotus ostreatus*, *Laetiporus sulphureus* in proportie de a) 2/1/1 v/v/v si b) 1/2/1 v/v/v, urmata de concentrarea solutiei temperatura de 60°C si presiunea de 72-75 mm Hg pana la 10L. Se obtin cate 10L compozitii terapeutice naturale obtinute din ciuperci sub forma de solutii de culoare bruna cu gust amar si miros aromat, continand a) 2,93....3,87% polifenoli totali exprimati in acid galic, respectiv, b) 2,96....3,92% polifenoli totali exprimati in acid galic.

### Testari farmacotoxicologice

Compozitiile terapeutice naturale obtinute din ciuperci, testate sub aspectul toxicitatii dupa doza unica, administrate, ca atare, *per os* (prin gavaj intragastric) la sobolani Wistar, in volumul maxim administrabil pe cale orala de 40 ml/kg nu au indus letalitate sau fenomene toxice, in perioada de observatie de 14 zile.

Pentru compozitia terapeutica naturala obtinuta din speciile de ciuperci *Agaricus campestris*, *Pleurotus ostreatus* si *Laetiporus sulphureus* fie prin extractie din amestec de materie prima in raport de 2/1/1 m/m/m, fie prin asocierea extractelor individuale in raport de 2/1/1 v/v/v efectul antiinflamator a fost evidentiat pe modelul edemului acut al labei de sobolan indus cu caolin. Administrarea a fost realizata, ca atare, pe cale orala, in volum de 5 ml/kg/zi timp de 15 zile consecutive, in ultima zi

injectându-se substanta cu efect flogistic după o ora de la ultima doză. Pentru proba testată s-a determinat la 3 ore un efect procentual antiinflamator de 90.67% comparativ cu lotul martor și o diminuare la 5 ore (57.08%).

Efectul hipolipemiant a fost evidențiat prin metoda activității hipolipemante la sobolani. La administrarea orală a probei, ca atare, în volum de 5 ml/kgc, pe o durată de 15 zile la sobolani cu dieta hiperlipidică asociată, din rezultatele determinărilor se constată valori constant mai scăzute ale colesterolului sanguin la 8 zile -167 mg/dl și la 15 zile -164 mg/dl fata de lotul martor cu dieta hiperlipidică la 8 zile -172 mg/dl și la 15 zile -170 mg/dl și valori mai scăzute ale nivelului trigliceridelor la 8 zile - 100 mg/dl și la 15 zile -119 mg/dl, comparativ cu lotul martor cu dieta hiperlipidică asociată la 8 zile - 114 mg/dl și la 15 zile - 147 mg/dl.

Pentru compozitia terapeutică naturală obținută din speciile de ciuperci *Agaricus campestris*, *Pleurotus ostreatus* și *Laetiporus sulphureus* fie prin extractie din amestec de materie prima în raport de 1/2/1 m/m/m, fie prin asocierea extractelor individuale în raport de 1/2/1 v/v/v, efectul hipoglicemiant a fost evidențiat prin testul activității hipoglicemante la sobolani nedιabetici – testarea tolerantei orale la glucoza. Administrarea s-a realizat ca atare pe cale orală (gavaj intragastric) în volum de 5 ml/kgc/zi pe o perioadă de 15 zile, comparativ cu lotul martor. Valorile medii ale glicemiei (mg/dl) la momentul 0 și la 1, 2, 4 ore după administrarea de glucoză 1g/kgc pentru compozitia terapeutică naturală au fost menținute la valori < 120 mg/dl astfel la momentul 0 – 116 mg/dl pentru compozitie terapeutică naturală, 116 mg/dl pentru lot martor, la 1 h – 117 mg/dl pentru compozitie terapeutică naturală și 139 mg/dl pentru lot martor, la 2h – 107 mg/dl pentru compozitie terapeutică naturală și 146 mg/dl pentru lot martor, la 4 h - 96 mg/dl pentru compozitie terapeutică naturală și 129 mg/dl pentru lotul martor.

### **Aplicabilitate industrială**

Invenția poate fi aplicată atât în industria suplimentelor alimentare de uz uman, pentru producția de produse naturale, cu administrarea orală, eficiente în prevenirea și terapia diabetului și a hiperlipidemiei.

# COMPOZITII TERAPEUTICE NATURALE OBTINUTE DIN MACROMICETE CU ACTIUNE ANTIINFLAMATOARE, HIPOGLICEMIANTA SI HIPOLIPEMIANTA SI PROCEDEE DE OBTINERE

Autori: Bubueanu Elena Corina, Popa Gabriela, Cornea Calina Petruta, Zagrean Valentin Alexandru, Munteanu Laurentiu, Grigore Alice Elena, Pirvu Lucia Camelia, Iuksel Rasit, Panteli Minerva

## REVENDICARE 1

Compozitie terapeutica naturala de uz uman, cu administrare orala, realizata integral din specii de ciuperci, caracterizata prin aceea ca este constituita fie prin asocierea de extracte individuale, selective, obtinute din speciile *Agaricus campestris*, *Pleurotus ostreatus* si *Laetiporus sulphureus* in proportie de a) 2/1/1 v/v/v, fie dintr-un extract obtinut din amestec de materii prime constituit din speciile *Agaricus campestris*, *Pleurotus ostreatus*, *Laetiporus sulphureus* in proportie de 2/1/1 m/m/m, sub forma de solutie de culoare bruna, cu gust amar si miros aromat, continand 2,93....3,87% polifenoli totali exprimati in acid galic

## REVENDICARE 2

Compozitie terapeutica naturala de uz uman, cu administrare orala, realizata din specii de ciuperci, caracterizata prin aceea ca este constituita fie prin asocierea de extracte individuale, selective, obtinute din speciile *Agaricus campestris*, *Pleurotus ostreatus* si *Laetiporus sulphureus* in proportie de a) 1/2/1 v/v/v, fie dintr-un extract obtinut din amestec de materii prime constituit din speciile *Agaricus campestris*, *Pleurotus ostreatus*, *Laetiporus sulphureus* in proportie de 1/2/1 m/m/m, sub forma de solutie de culoare bruna, cu gust amar si miros aromat, continand 2,96....3,92% polifenoli totali exprimati in acid galic

## REVENDICARE 3

**Procedeu de obtinere pentru compozitii terapeutice de uz uman, realizat din specii de ciuperci caracterizat prin aceea ca** se asociaza trei extracte individuale, selective, din corpii de fructificatie, uscati si maruntiti (sita III) ai speciilor *Agaricus campestris*, *Pleurotus ostreatus*, *Laetiporus*

*sulphureus* obtinute prin extractii succesive - extractia I cu acetat de etil, raport materie prima/ solvent 1/10 m/v, timp de 1 ora, la temperatura de fierbere a solventului, cu agitare continua si refluxare, uscarea materiei prime si extractia II a materiei prime uscate cu alcool etilic 50% v/v, raport materie prima/solvent 1/10 m/v, timp de 1 ora, la temperatura de fierbere a solventului, cu agitare continua si refluxare, filtrare, concentrarea solutiilor pentru eliminarea solventului, reluarea acestora in alcool etilic 50% v/v in raport materie prima/solvent 1/1 m/v, cu continut in polifenoli totali exprimati in acid galic: 1,57% (*Agaricus campestris*), 1,62% (*Pleurotus ostreatus*) si 3,28% (*Laetiporus sulphureus*), in proportie de a) 2/1/1 v/v/v si b) 1/2/1 v/v/v, urmata de concentrare la volum de 1/0.33m/v raport materie prima/solvent a solutiei la temperatura de 60°C si presiunea de 72-75 mm Hg, obtinandu-se solutii de culoare bruna cu gust amar si miros aromat, continand a) 2,93....3,87% polifenoli totali exprimati in acid galic, respectiv, b) 2,96....3,92% polifenoli totali exprimati in acid galic.

#### REVENDICARE 4

**Procedeu de obtinere pentru compositii terapeutice de uz uman, realizat din specii de ciuperci caracterizat prin aceea ca este realizat prin extractia sucesiva a materiei prime constituite din corpii de fructificatie, uscati si maruntiti (sita III) ai speciilor de ciuperci *Agaricus campestris*, *Pleurotus ostreatus* si *Laetiporus sulphureus* in raport de a) 2/1/1 m/m/m, respectiv b) 1/2/1 m/m/m extractia I cu acetat de etil, in raport de 1/10 m/v materie prima solvent, la temperatura de fierbere a solventului, cu agitare continua si refluxare, timp de 1 ora, filtrare, concentrare pentru eliminarea solventului si reluare in alcool etilic 50% v/v in raport de 1/1 m/v materie prima/solvent, uscarea materiei prime si – extractia II – a materiei prime uscate cu alcool etilic 50% v/v, in raport de 1/10 m/v materie prima/solvent, la temperatura de fierbere a solventului, timp de 1 ora, cu agitare continua si refluxare, filtrare, concentrare pentru eliminarea solventului, reluare in alcool etilic 50% v/v, in raport de 1:1 m/v materie prima/solvent, reunirea solutiilor extractive, concentrarea la ½ v/v fata de volumul total al solutiilor reunite, obtinandu-se solutii de culoare bruna cu gust amar si miros aromat, continand a) 2,93....3,87% polifenoli totali exprimati in acid galic, respectiv, b) 2,96....3,92% polifenoli totali exprimati in acid galic.**