



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2019 00196

(22) Data de depozit: 27/03/2019

(41) Data publicării cererii:  
27/11/2020 BOPI nr. 11/2020

(71) Solicitant:  
• LABORATOARELE FARES BIO VITAL  
S.R.L., STR. PLANTELOR NR. 50,  
ORĂȘTIE, HD, RO

(72) Inventatori:  
• MOLDOVANU RADU-IOAN,  
STR. MUREȘUL, BL. 22, SC. C, ET. 1, AP. 27,  
ORĂȘTIE, HD, RO

(74) Mandatar:  
CABINET N.D. GAVRIL S.R.L.,  
STR. ȘTEFAN NEGULESCU NR. 6A,  
SECTOR 1, BUCUREȘTI

(54) ANTIBACTERIAN FORTE NATURAL

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un produs antibacterian pentru eliminarea microorganismelor potențial patogene din tractul respirator. Produsul, conform invenției, este constituit în procente masice din 32...75% ulei esențial de cimbru (*Thymi aetheroleum*), 8...17% ulei esențial de cuișoare (*Caryophylli floris aetheroleum*), 4% ulei

esențial de oregano (*Origani aetheroleum*), 4...16% ulei esențial de negrilică (*Nigella sativa oleum*), pentru forma de soluție uleioasă, și până la 40% ulei de floarea soarelui (*Helianthi oleum*), pentru forma de capsule moi.

Revendicări: 3



## ANTIBACTERIAN FORTE NATURAL

Invenția se referă la un produs antibacterian forte natural realizat prin combinarea a uleiuri esențiale și uleiuri grase care contribuie la eliminarea microorganismelor potențial patogene din tractul respirator, sub formă de soluție sau capsule moi.

Sunt cunoscute diverse compoziții cu efect antibacterian obținute prin combinarea unor extracte din plante medicinale indigene și/sau exotice.

CN 103766447 prezintă un produs pentru îngrijirea sănătății și conține *Eugenia caryophyllata*, propolis, ulei de semințe jobstears, fructe de wolfberry chineză, ulei de mentă, *Poria cocos*, *Potentilla anserine*, *Phyllanthus Emblica* și amidon.

WO/2014/095049 – prezintă compoziții pentru tratamentul stărilor, tulburărilor sau a unor boli dermatologice în special a bolilor inflamatorii ale pielii cum ar fi psoriazisul. Invenție se referă la compoziții care cuprind ulei de chimen negru (semințe sativa *Nigella*), ulei de măsline, ulei de arbore de ceai (*Melaleuca alternifolia*), unt de cacao, vitamine A și B12. Compoziția poate fi utilizată în tratamentul unor stări, tulburări, sau boli dermatologice.

US 2017348371 prezintă un produs anticanceros, antiparazit (*Toxoplasma gondii* (protozoon) și cu efect antimicrobian, realizat după o formulă ce conține extract de *nigella sativa* care împreună cu solvenți au eficiență antineoplazică asupra celulelor canceroase cât și faptul că este eficace pe microorganisme gram pozitive, gram-negative, ciuperci și paraziți.

Produsul Biosept (Laboratoarele Fares Bio Vital) realizat dintr-un complex de substanțe extrase din frunze de maslin (*Olivae folium*), lichen de piatra (*Lichen Islandicus*), muguri de plop (*Populi gemma*), extract de scoarta de salcie (*Salicis cortex*) standardizat în min. 15% salicină și cuișoare (*Caryophylli flos*) cu efect în eliminarea microorganismelor potențial patogene din tractul respirator, digestiv și genito-urinar.

Dezavantajul compozițiilor prezentate în datele din literatură este acela că au o biodisponibilitate redusă.

Problema tehnică propusă spre rezolvare este realizarea unei combinații de uleiuri esențiale și uleiuri grase cu puternic efect antibacterian prin eliminarea microorganismelor potențial patogene din tractul respirator.

Soluția tehnică la această problemă constă în asocierea uleiului esențial de cimbru (*Thymi aetheroleum*) cu ulei esențial de cuișoare (*Caryophylli floris aetheroleum*), ulei esențial de oregano (șovârv) (*Origanum aetheroleum*), ulei gras de negrilica (*Nigella sativa oleum*) și, în forma de condiționare capsule moi, asociere și cu ulei gras de floarea soarelui (*Helianthi oleum*).

Produsul antibacterian forte natural poate fi prezentat sub forma de capsule moi sau soluție uleioasă.

Produsul antibacterian forte natural, conform invenției, înlătură dezavantajul

menționat, prin aceea că este obținut prin asocierea a 70-90% ulei esențial de cimbru (*Thymi aetheroleum*), 15-35% ulei esențial de cuișoare (*Caryophylli floris aetheroleum*), 3-20% ulei esențial de oregano (*Origanum aetheroleum*) și 3-20% ulei de negrilică (*Nigella sativa oleum*) ca soluție uleioasă, în timp ce pentru capsule moi se asociază 20-40% ulei esențial de cimbru (*Thymi aetheroleum*), 5-25% ulei esențial de cuișoare (*Caryophylli floris aetheroleum*), 3-20% ulei esențial de oregano (*Origanum aetheroleum*), 40-60% ulei de floarea soarelui (*Helianthi oleum*) și 15-35% ulei de negrilică (*Nigella sativa oleum*)

Prin aplicarea invenției se obțin următoarele avantaje:

- produsul antibacterian forte natural contribuie la eliminarea microorganismelor potențial patogene din tractul respirator.
- este un produs absolut natural, bine tolerat, fara efecte negative;
- produsul poate fi o alternativă naturală pentru persoanele care prezintă rezistență, intoleranță sau reacții alergice la antibioterapie.

Se dă în continuare câte un exemplu de realizare a produsului antibacterian forte natural conform invenției:

Exemplul 1 : Produsul antibacterian forte natural conform invenției sub formă de soluție de uleiuri esențiale și uleiuri grase constă în aceea ca pentru a obtine 100 kg produs, se omogenizează într-un vas de sticla prevăzut cu agitator 75 kg ulei esențial de cimbru (*Thymi aetheroleum*), 17 kg ulei esențial de cuișoare (*Caryophylli floris aetheroleum*), 4 kg ulei esențial de oregano (*Origanum aetheroleum*) și 4 kg ulei de negrilică (*Nigella sativa oleum*).

Fiecare materie prima receptionata este supusa unui set de analize de laborator specific conform specificatiilor tehnice de calitate întocmite pe baza Farmacopeei Europene ed. în vigoare, Farmacopeea Romana și legislației în vigoare.

Sunt analizate caracteristicile organoleptice, densitatea, indicele de refractie si puterea rotatorie.

Dupa primirea avizului favorabil din partea Departamentului Controlul calitatii materiile prime sunt depozitate in conditii de mediu controlat temperatura 0°–30°C si umiditate relativa a aerului de maxim 75% pana in momentul intrarii in procesul de productie.

In procesul de productie intra ca si materii prime uleiurile esentiale si uleiul gras.

Pe baza formulei de fabricatie materiile prime sunt cantarite si intra in procesul de productie.

Semifabricatul este realizat prin omogenizarea uleiurilor esentiale intr-un vas de sticla prevazut cu agitator.

Dupa omogenizare se realizeaza operatia de filtrare cu ajutorul instalatiei de filtrare la vid.

Semifabricatul astfel obtinut este verificat din punct de vederea organoleptic si fizico-chimic. Acest amestec trebuie sa aiba un aspect de lichid limpede, slab vascos, culoare galben pal, gust si miros aromat, o densitate cuprinsa intre 0.920-0.950, indice de refractie intre 1,4800-1,5100 si putere rotatorie 0°...+3°.

Dupa primirea avizului din partea Departamentului Controlul calitatii semifabricatul trece la etapa de ambalare.

Ambalarea se realizează prin dozarea în sticle brune de 10 ml prevăzute cu picurător care apoi sunt introduse în cutii.

Exemplul 2 : Produsul antibacterian forte natural conform invenției, sub formă de



capsule moi, constă în aceea ca pentru a obtine 100 kg produs se asociaza 32 kg ulei esențial de cimbru (*Thymi aetheroleum*), 8 kg. ulei esențial de cuișoare (*Caryophylli floris aetheroleum*), 4 kg. ulei esențial de oregano (*Origani aetheroleum*), 40 kg. ulei de floarea soarelui (*Helianthi oleum*) și 16 kg. ulei de negrilică (*Nigella sativa oleum*).

Fiecare materie prima receptionata este supusa unui set de analize de laborator specific conform specificatiilor tehnice de calitate intocmite pe baza Farmacopeei Europene ed. in vigoare, Farmacopeea Romana si legislatiei in vigoare.

Sunt analizate caracteristicile organoleptice, densitatea, indicele de refractie si puterea rotatorie.

Dupa primirea avizului favorabil din partea Departamentului Controlul calitatii materiile prime sunt depozitate in conditii de mediu controlat temperatura 0°–30°C si umiditate relativa a aerului de maxim 75% pana in momentul intrarii in procesul de productie.

In procesul de productie intra ca si materii prime uleiurile esentiale si uleiurile grase.

Pe baza formulei de fabricatie materiile prime sunt cantarite si intra in procesul de productie.

Semifabricatul este realizat prin omogenizarea uleiurilor, esentiale și grase, pana la obtinerea unei componente omogene, apoi este filtrat cu ajutorul instalatiei de filtrare la vid.

Semifabricatul astfel obtinut este verificat din punct de vederea organoleptic si fizico-chimic. Acest amestec trebuie sa aiba un aspect de lichid limpede, slab vascos, culoare galben pal, gust si miros aromat, o densitate cuprinsa intre 0,9200- 0.950, indice de refractie intre 1,4700-1,4900 si o putere rotatorie cuprinsa intre -5.....0.

Dupa primirea avizului din partea departamentului controlul calitatii semifabricatul trece la etapa de incapsulare (250 mg amestec/capsula) care se realizeaza cu ajutorul unei masini de incapsulat. Se prepara stratul exterior al capsulelor care este pe baza de gelatină si apa.

Principiul de bază de fabricare a capsulelor moi este de a tăia un flux de lichid dublu strat (exterioră: lichid de film, lichid interior: conținut) la anumite intervale. Acest lucru are ca rezultat lichidul de film care înconjoară lichidul de conținut și formarea de capsule sferice.

Straturile de gelatina sunt pozitionate între două role de laminare, lichidul de conținut este injectat utilizând o pompă la momentul tăierii sub presiune a foilor de către matrite, foile tăiate sub presiune sunt sigilate la cald, făcând capsule perfect lipite.

Capsulele astfel obtinute sunt verificate vizual de catre personal din cadrul departamentului controlul calitatii si intra la operatia de uscare.

Incapsularea si uscarea capsulelor se face in conditii controlate la o temperatura de 20°C si o umiditate de 30%.

Dupa uscare capsulele sunt verificate din punct de vedere calitativ si trec la etapa de blisterizare care se realizeaza cu ajutorul masinii de blisterizat in blistere de PVC + Al. Dupa blisterizare, acestea sunt ambalate in cutii de carton.

În continuare sunt prezentate, pe scurt, proprietățile, efectele favorabile, compoziția chimică a plantelor din asociere, utilizate pentru obținerea produsului finit.

Uleiurile esențiale sunt cele care conferă parfumul caracteristic al plantelor. Izolate din matricea vegetală, ele constituie cele mai concentrate extracte din plante medicinale (de exemplu din 100 kg cimbru se obțin 500 grame de ulei esențial) de aceea sunt și cele mai eficiente remedii naturale pentru menținerea sănătății.

Un ulei esențial este compus din zeci de substanțe chimice de sine-stătătoare, care se absorb foarte repede în organism și a căror combinație generează proprietățile acestuia. Astăzi se știe că acești constituenți acționează împreună prin sinergism, mai eficient decât un singur compus izolat din ulei. Acest fapt face ca bacteriile să nu poată dezvolta rezistență la uleiurile esențiale, așa cum se petrece la preparatele de sinteză care sunt formate dintr-o singură substanță activă.

Uleiul esențial este un lichid hidrofob concentrat care conține compuși volatili aromatici din plante. Uleiurile esențiale sunt, de asemenea, cunoscute sub numele de uleiuri volatile, uleiuri eterice sau pur și simplu ca „ulei de” planta din care au fost extrase, cum ar fi uleiul de cuișoare. Un ulei este „esențial”, în sensul că acesta poartă un miros distinctiv, sau esența plantei.

Uleiurile esențiale sunt produse specifice regnului vegetal, caracterizate de o volatilitate mai mică sau mai mare, izolate din plante sau organe de plante aromatice printr-un procedeu fizic, posedând un miros agreabil (sau dezagreabil), specific sursei vegetale din care provin.

Ulei esențial de cimbru

Denumire științifică: *Thymus vulgaris* L.

Familie: *Lamiaceae*

Descrierea plantei: Cimbrul este o plantă perenă nu mai înaltă de 20 cm, care în primul an dezvoltă în sol o rădăcină pivotantă, lignificată, puternic ramificată și lungă de aproximativ 20 cm, iar în anii următori dezvoltă un sistem radicular puternic fasciculat. Anual, din colet pornesc numeroase ramificații care conferă plantei un aspect globulos. În partea inferioară tulpina este lignificată și acoperită cu un sufer de culoare cenușie. Ramificațiile pornesc de la subsuoara frunzelor, care sunt sesile sau scurt pețiolate, lanceolate ori eliptice, mici, cu marginile răsfrânte spre fața inferioară. Florile mici, albe sau albe-roz, au corola bilabiata și sunt dispuse în pseudoverticile reunite în raceme, așezate la subsuoara frunzelor din vârful tulpinilor. Fructele sunt nucule elipsoidale, mici, grupate câte patru. Mirosul este caracteristic, iar gustul aromat.

Cimbrul este răspândit în flora spontană a zonei mediteraneene, în special Spania și sudul Franței, fiind cultivat în Grecia, Spania, Portugalia, Franța, Algeria, Ungaria, Germania, Bulgaria și România.

Produs vegetal: Este utilizată partea aeriană înflorită și uleiul volatil extras din cimbru, folosit în acest caz, care se obține din partea aeriană a plantei, *Thymus vulgaris*, prin antrenare cu vapori de apă, cu un conținut minim de 1,2% ulei volatil.

Descrierea uleiului esențial: Lichid limpede, galben sau foarte închis, brun-roșcat, cu miros caracteristic, aromat, picant, care amintește de timol. Comercial, uleiul de cimbru crud se numește „ulei de cimbru roșu” datorită culorii sale. După redistilare, se obține un „ulei de cimbru alb” de culoare galben deschis, care miroase similar cu cel roșu, dar este mai dulce și mai puțin înțepător.

Compoziția uleiului esențial:

Conform Pharm. Eur.:

-β-Mircen: 1.0% - 3.0%

-γ-Terpinen: 5.0% - 10.0%

- p-Cimen: 15.0% - 28.0%
- Linalool: 4.0% - 6.5%
- Terpinen-4-ol: 0.2% - 2.5%
- Timol: 36.0% - 55.0%
- Carvacrol: 1.0% - 4.0%.

Proprietăți terapeutice urmărite în acest caz: antibacterian la nivelul aparatului respirator

Evaluarea eficienței uleiului esențial de cimbru:

Conform monografiei EMA [15]: Uleiul esențial de cimbru exercită o activitate antibacteriană puternică asupra bacteriilor Gram-pozitive și Gram-negative. Activitatea este atribuită în principal timolului și carvacrolului. Uleiurile cu un procent mai mare de compuși fenolici (timol și carvacrol) prezintă o activitate inhibitoare mai mare [1,7].

Mecanismul de acțiune are loc astfel: timolul și carvacrolul acționează prin eliberarea lipopolizaharidelor din bacterii, care are ca și consecință creșterea permeabilității membranei și pierderea ATP-ului (care stochează și transportă energia în celulă) [2].

Studii in vitro

S-a testat acțiunea antibacteriană a 14 uleiuri esențiale asupra câtorva bacterii producătoare de infecții respiratorii: *H. influenzae*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* susceptibil la penicilină, *S. pneumoniae* rezistent la penicilină, *S. aureus*, *E.coli*. Rezultatele au arătat că timolul din uleiul esențial de cimbru a fost unul dintre cele mai puternice principii active, având efect la concentrații mai mici decât alte componente active și a fost eficient asupra tuturor tulpinilor testate [3].

S-a demonstrat faptul că uleiul esențial de cimbru are activitate puternică antimicrobiană, la diferite concentrații, asupra tulpinilor bacteriene: *E. coli*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella sp.*, care sunt răspunzătoare apariția diferitor infecții, chiar și la nivel respirator [4].

Uleiul esențial de cimbru a demonstrat că are efect și împotriva bacteriilor multi-drug rezistente din genul *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia* și *Pseudomonas*, izolate de la pacienții cu infecții. Astfel, tulpina de *Staphylococcus aureus*, izolată din infecțiile respiratorii, rezistentă la oxacilină, gentamicină, tobramicină, a fost susceptibilă la acțiunea uleiului esențial de cimbru. Uleiul esențial poate fi considerat poate fi o alternativă pentru antibioticele sintetice, deoarece nu apare rezistența în cazul uleiurilor esențiale [5].

Studiile au arătat că uleiurile esențiale pot avea efecte sinergice sau antagoniste la asocierea cu antibioticele convenționale. S-a observat un sinergism la asocierea uleiului esențial de cimbru cu ciprofloxacina pentru combaterea infecției cu *K. Pneumoniae* [6].

11 uleiuri esențiale au fost testate *in vitro* împotriva a câtorva bacterii patogene izolate de la pacienții pediatrici. Toate tulpinile de bacterii au fost rezistente la antibioticele selectate. Uleiurile esențiale de scorțișoară, oregano și cimbru au prezentat cea mai puternică activitate antibacteriană testată cu ajutorul



aromatogramelor. Astfel ele au inhibat dezvoltarea tulpinilor de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *K. pneumoniae*, *H. influenzae* [8].

Uleiul esențial de cimbru a avut cea mai mică concentrație minimă inhibitorie (0,03% V / V) împotriva *Escherichia coli* dintre 20 de uleiuri esențiale testate. Pe lângă aceasta este activ și împotriva *Acinetobacter baumannii*, *K. Pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* [9].

Studiile au arătat că uleiul esențial de cimbru acționează împotriva patogenilor majoritari ai tractului respirator (*Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* și *Stenotrophomonas maltophilia*), având cel mai puternic efect antibacterian dintre uleiurile testate. Astfel, poate fi un agent potențial antimicrobian pentru tratamentul anumitor infecții ale tractului respirator la om [20].

Evaluarea siguranței uleiului esențial de cimbru:

Toxicitate preclinică

Toxicitate acută

Conform monografiei EMA [15], DL50 (doza care provoacă efectul letal la 50% dintre animalele din lotul testat) orală a uleiului esențial de cimbru la șobolani a fost 2,84g/kg greutate corporală [10].

Toxicitate subcronică

Conform monografiei EMA [15], nu s-au observat efecte toxice la șobolani după adăugarea a 1,0% timol în dieta lor timp de 19 săptămâni [11].

Mutagenitate și genotoxicitate

Uleiul esențial de cimbru nu are potențial mutagenic, efect demonstrat în testul Ames cu tulpini de *Salmonella typhimurium* și nu afectează activitatea ADN-ului în testul cu *Bacillus subtilis* [12].

Toxicitate reproductivă

Uleiul esențial de cimbru adăugat în hrana femelelor gravide de șoareci, în doza de 0.25%, timp de 2 săptămâni nu a avut nici o influență asupra creșterii și dezvoltării embrionilor de șoarece [13].

Toxicitate clinică

Nu au fost raportate cazuri de toxicitate clinică în urma consumului de ulei esențial de cimbru.

Reacții adverse

În cazuri foarte rare, reacțiile alergice pot apărea datorită conținutului de timol.

Interacțiuni

Conform EMA [15], uleiul esențial de cimbru potențează acțiunea antifungică a amfotericinei B.

Sarcină și alăptare

În absența unor date suficiente, utilizarea în timpul sarcinii și alăptării nu este recomandată.

Contraindicații și precauții

Este iritant pentru piele.

Condiții de acceptabilitate pentru materiile prime:

**Caracteristici:**

Uleiul esențial de cimbru se obține prin antrenare cu vapori de apă.

Uleiul este un lichid de la incolor până la brun-roscat, portocaliu-roscat, cu un miros bogat și intens, fenolic, dulceag, cald ierbaceu, ușor picant și foarte aromat. Aroma este de asemenea caldă iute-arzătoare dar fără să fie amară.

**Caracteristici:**

Denumire	Caracteristici	Densitate	Putere rotatorie	Indice de refracție	Continut în timol
Ulei esențial de cimbru	Lichid limpede, incolor până la gălbui, miros aromat, caracteristic.	0,9150...0,935	-7°....+7°	1,4900...1,505	min. 35%

**Ulei esențial de cuișoare**

Denumire științifică: *Syzygium aromaticum* L. sin. *Eugenia caryophyllus*

Familie: *Myrtaceae*

Descrierea plantei: Este un arbore care poate atinge 20 m înălțime. Prezintă frunze persistente, coriacee, ovale, acuminat și flori tetramere, albe-roșee, grupate în cime, caduce la înflorire. Din acest motiv se recoltează bobocii florali. Aceștia sunt constituiți dintr-un receptacol care prin uscare capătă o culoare brună-negricioasă, suprafața fiind fin striată. Bobocul este alungit la bază și rotunjit la partea superioară, ceea ce îi conferă un aspect cuneiform. Caliciul este format din 4 lobi ascuțiți, iar corola constituită din patru petale gălbui, membranoase, imbricate, adăpostește numeroase stamine. Mirosul este plăcut, puternic aromatic, înțepător, arzător.

Specia este originară din insulele Moluce și sudul Filipinelor, fiind cultivată în multe țări tropicale. Principalii furnizori ai produsului medicamentos sunt Indonezia, Malaysia, Madagascar, Sri Lanka, insulele Africii de Est (Zanzibar și Pemba) și țările Americii de Sud.

Produs vegetal: Se recoltează bobocii florali de cuișoare și uleiul esențial extras din aceștia prin antrenare cu vapori de apă. Produsul vegetal conține 15-20% ulei esențial.

Descrierea uleiului esențial: Uleiul esențial din bobocii florali este un lichid gălbui până la brun, uneori ușor vâscos. În contact cu fierul, culoare devine brun-închisă. Mirosul uleiului este picant, dulceag, caracteristic eugenolului, cu elemente proaspăt-fructate în nota de debut și cu o ușoară notă de acid acetic.

**Compoziția uleiului esențial**

Conform Monografiei EMA [16]:

-cele mai importante 3 componente care reprezintă aproape 99% din uleiul esențial sunt: eugenolul (75–88%), acetat de eugenil (4–15%) și β-cariofilen (5–14%)

-alte componente: chavicol, izoeugenol, acetat de benzil, α-, β-pinen, limonen, humulen, cariofilen epoxid, cariofilen oxid.



Proprietăți terapeutice urmărite în acest caz: antibacterian la nivelul aparatului respirator

Evaluarea eficienței uleiului esențial de cuișoare

Conform EMA [16]: Uleiul esențial de cuișoare a fost utilizat tradițional pentru tratamentul unor infecții minore, dureri de gât, tuse asociată cu răceală. Datorită conținutului ridicat de eugenol în uleiul esențial, efectele eugenolului sunt adesea extrapolate la întregul ulei esențial.

Mecanism de acțiune: acțiunea poate fi datorată interacțiunii eugenolului cu membrana celulelor bacteriene, pe care o distruge, cauzează și pierderea materialului intracelular vital, inhibarea sintezei de ADN și proteine, care în final duce la moartea bacteriei [14].

Studii in vitro

S-a testat *in vitro* acțiunea antibacteriană a uleiului esențial de cuișoare asupra câtorva bacterii cauzatoare de infecții la om, și anume: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Micrococcus luteus*. Rezultatele au arătat că uleiul esențial a fost activ împotriva bacteriilor testate cu excepția, *Pseudomonas aeruginosa* [17].

Uleiul esențial de cuișoare (0.4% v/v) dispersat într-o soluție de zahăr a avut efect germicid împotriva a câtorva bacterii: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Escherichia coli*, distrugându-le în 2-7 minute de la contactul cu acestea [19].

Studiile au arătat că uleiul esențial de cuișoare acționează împotriva patogenilor majoritari ai tractului respirator (*Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* și *Stenotrophomonas maltophilia*), putând fi un agent potențial antimicrobian pentru tratamentul anumitor infecții [20].

S-a demonstrat faptul că uleiul esențial de cuișoare are activitate puternică antimicrobiană, la diferite concentrații, asupra tulpinilor bacteriene: *E. coli*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella sp.* [4].

Un alt studiu a arătat că eugenolul – principiul activ al uleiului esențial de cuișoare – are capacitatea de inhibare a dezvoltării bacteriei *Streptococcus pneumoniae*, răspunzătoare de pneumonie. La concentrația de 0,12% omoară bacteria în 60 minute de la expunere. În plus, eugenolul și penicilina au efect sinergic împotriva pneumococului [21].

Uleiul esențial de cuișoare a demonstrat că are efect bacteriostatic asupra tulpinilor patogene de *Nocardia* izolate de la pacienții cu infecții respiratorii [22].

Studii pre-clinice pe animale de laborator

S-a studiat efectul unei soluții orale care conține 1% ulei esențial de cuișoare, pe termen scurt de 15 zile și pe termen lung de 30 zile, la șoarecii cu pneumonie indusă prin instilații nazale cu *Klebsiella pneumoniae* ATCC 43816. Rezultatele au arătat că uleiul esențial a redus colonizarea plămânilor cu această bacterie atât după tratamentul de 15 zile, cât și după tratamentul de 30 zile aplicat la animalele de laborator. În plus, uleiul esențial a cauzat și protecția țesutului pulmonar împotriva

efectelor negative ale infecției și a crescut imunitatea, care are rol important în eliminarea infecției din plămâni [18].

Evaluarea siguranței uleiului esențial de cuișoare

Toxicitate preclinică

Toxicitate acută

La șobolani, DL50 (doza care provoacă efectul letal la 50% dintre animalele din lotul testat) orală de ulei esențial este 1.8–3.72 g/kg.

La șobolani, DL50 (doza care provoacă efectul letal la 50% dintre animalele din lotul testat) orală de eugenol este 2.68 g/kg [16,23].

La iepuri: aplicare cutanată - DL50 = 5 g/kg ulei esențial [16].

Toxicitate cronică

Conform monografiei EMA: Uleiul esențial de cuișoare administrat la șobolani, în doza de 35 mg și 70 mg, timp de 8 săptămâni, a fost tolerat, fără semne de toxicitate. Doze mai mari au dus la inactivitate și la scădere în greutate [16].

Mutagenitate și genotoxicitate

Conform monografiei EMA: Nu s-au observat semne de efecte mutagene în testul de aberație cromozomială in vitro la nivelul fibroblastelor din hamsteri la concentrații de până la 0,04 mg/ml ulei de cuișoare [16].

Toxicitate reproductivă

Șoriceii de sex feminin au primit ulei esențial de cuișoare din ziua a 6-a până în ziua a 15-a de gestație, pe cale orală, în doza de 2,2 până la 215 mg/kg/zi greutate corporală. Fetusii au fost obținuți în ziua 17. Utilizarea uleiului de cuișoare nu a avut niciun efect toxic privind implantarea și supraviețuirea mamei și fătului. Numărul de malformații a țesuturilor moi și a sistemul scheletic nu a fost diferit de cel din grupul de control. Rezultate similare s-au obținut și la femele de șobolani, de hamsteri și de iepuri [16].

Toxicitate clinică

Nu au fost raportate cazuri de toxicitate clinică în urma consumului de ulei esențial de cuișoare.

Reacții adverse

În formă concentrată, uleiul de cuișoare poate irita mucoasele [24].

Interacțiuni

-

Sarcină și alăptare

Nu există date disponibile. În absența unor date suficiente, utilizarea în timpul sarcinii și alăptării nu este recomandată [16].

Contraindicații și precauții

Utilizarea terapeutică a uleiului esențial de cuișoare ar trebui contraindicată în cazurile de hipersensibilitate la uleiul esențial de cuișoare și hipersensibilitate la balsamul de Peru [16].

Condiții de acceptabilitate pentru materiile prime:

Uleiul esențial de cuișoare se obține prin antrenare cu vapori a mugurilor floralii.

Uleiul este un lichid gălbui până la brun, uneori ușor vâscos. Mirosul uleiului este picant, dulceag, caracteristic eugenolului cu elemente proaspat-fructate în nota de

debut și o ușoară notă de acid acetic.

Caracteristici:

Denumire	Caracteristici	Densitate	Putere rotatorie	Indice de refracție	Continut în eugenol
Ulei esențial de cuișoare	Lichid limpede, gălbui până la brun, miros aromat, caracteristic.	1,030... 1,063	-2° .... 0°	1,5280... 1,538	min. 70%

Ulei esențial de oregano (șovârv)

Denumire științifică: *Origanum vulgare* L.

Familie: *Labiatae*

Descrierea plantei: Este o plantă ierboasă perenă cu miros aromatic ce înflorește în lunile iunie-septembrie și care este în general cunoscută ca oregano. În sol prezintă un rizom orizontal, brun-cenușiu, cu o grosime de 2-3 cm; din rizom pornesc stoloni subterani și numeroase rădăcini filiforme. Tulpina erectă, păroasă, tetramuchiata, rigidă, lignificată la bază și ramificată în partea superioară, cu ramurile opuse, atinge o înălțime de până la 60-80 cm. Frunțele opuse sunt ovate, întregi, pe margini slab crenate serate, scurt-pețiolate, pubescente mai are pe fața inferioară datorită prezenței perilor tectori pluricelulari, verucoși; de asemenea, dacă sunt privite în zăre, prezintă numeroase puncte translucide, date de glandele cu ulei volatil. Florile poligam-dioice, purpurii, mai rar albe, sunt grupate într-o înflorescență corimbiformă (pseudoumbelă) bogată. Fructele sunt nucule mici, ovoidale, brune, grupate câte 4 în caliciul persistent.

Crește spontan în multe țări europene, printre care și România, se cultivă în scop culinar în toată lumea, incluzând SUA, America Centrală și de Sud, India.

Produs vegetal: este folosită partea aeriană a plantei și uleiul esențial extras din vârfurile florale după uscare.

Descrierea uleiului esențial: Uleiul de oregano este de regulă un ulei de culoare închisă, de obicei roșu-brună cu un miros intens, fenolic, ierbaceu dar în același timp și foarte proaspăt. Nota de debut este ușor verde-camforacee, ierboasă, descoperind în timp o notă de mijloc bogată, uscat-lemnoasă, cu reminiscențe de cade și fenolică. Către nota de fond, mirosul devine mai dulceag, dar elementele fenolice și lemnoase rămân evidente, diferențiindu-se astfel de fondul uleiului de cimbru. Gustul este ușor arzător, cald-fenolic (medicinal) cu un subton bogat, ierbaceu.

Compoziția uleiului esențial:

-principalul component este carvacrolul (62-75%)

-mai conține: timol, β-cariofilen, p-cimen, γ-terpinen, mircen

Proprietăți terapeutice urmărite în acest caz: antibacterian la nivelul aparatului respirator

Evaluarea eficienței uleiului esențial de oregano:

În produsele farmaceutice, uleiul esențial de oregano se folosește în primul rând pentru acțiunea puternic bactericidă, datorită carvacrolului și timolului [25]. Este cunoscut tradițional pentru efectele pozitive în cazul afecțiunilor respiratorii.

Mecanism de acțiune: componentele responsabile de activitatea antibacteriană a uleiului sunt timolul și carvacrolul care acționează prin inducerea unor modificări funcționale și structurale asupra membranei celulei bacteriene, crescând permeabilitatea acesteia. Acest mecanism are loc în urma scăderii sintezei de ATP și hidrolizei crescute [26,27].

Studii in vitro

S-a demonstrat faptul că uleiul esențial de oregano are activitate puternică antimicrobiană, la diferite concentrații, asupra tulpinilor bacteriene: *E. coli*, *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella sp.*, care sunt răspunzătoare cauzarea infecțiilor respiratorii [4].

Uleiul esențial de oregano a fost testat împotriva a câtorva bacterii și s-a arătat că acesta a inhibat toate microorganismele patogene la concentrația  $\leq 2\%$  (v/v): *Acinetobacter baumannii*, *K. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Staphylococcus aureus* [9].

Au fost testate câteva uleiuri esențiale: mușețel, mentă, isop și oregano asupra unor bacterii Gram-negative și Gram-pozitive. Rezultatele au arătat că uleiul esențial de oregano are efect atât bacteriostatic, cât și bactericid, la concentrații peste 400 ppm, datorită conținutului crescut de compuși fenolici. Efectul bactericid a avut loc ireversibil asupra majorității microorganismelor patogene testate. Uleiul esențial de oregano a inhibat dezvoltarea următoarelor bacterii: *E. coli*, *Staphylococcus aureus* [28].

A fost testată *in vitro* activitatea antimicrobiană a uleiului esențial de oregano împotriva a trei dintre agenții patogeni umani majori responsabili de infecțiile respiratorii la pacienții cu fibroză chistică: MRSA (stafilococul auriu rezistent la meticilină), *Stenotrophomonas maltophilia* și *Achromobacter xylosoxidans*. Uleiul esențial a fost eficient împotriva tuturor tulpinilor testate, având diferite concentrații minime inhibitorii [29].

Evaluarea siguranței uleiului esențial de oregano

Toxicitate preclinică

Toxicitate acută

La șobolani, DL50 (doza care provoacă efectul letal la 50% dintre animalele din lotul testat) orală de ulei esențial de oregano este 1,85 g/kg [30].

Toxicitate subcronică

S-a testat toxicitatea uleiului esențial de oregano la șobolani în dozele orale de 50, 100 și 200 mg/kg greutate corporală, timp de 90 zile. Rezultatele nu au evidențiat nici o mortalitate și nici efecte adverse legate de greutatea corporală, hematologie, biochimie, necropsie, greutatea organelor și histopatologie.

Astfel, doza orală la care nu au apărut efecte adverse a fost 200 mg/kg ulei esențial, care este mult mai mare decât potențial maxim de expunere al consumatorilor [31].

#### Mutagenitate și genotoxicitate

S-a investigat potențialul genotoxic al timolului (0-250  $\mu$ M) și carvacrolului (0-2500  $\mu$ M) în testul de micronuclei. Rezultatele au arătat că acești compuși nu au fost genotoxici pentru celulele de mamifere [32].

#### Toxicitate reproductivă

Uleiul esențial de oregano adăugat în hrana femelelor gravide de șoareci, în doza de 0.1%, timp de 2 săptămâni a condus la o creștere a proporției celulelor moarte în embrionii de preimplantare [13].

#### Toxicitate clinică

Nu au fost raportate cazuri de toxicitate clinică în urma consumului de ulei esențial de oregano.

#### Reacții adverse

Pot apărea reacții alergice.

#### Interacțiuni

Nu se cunosc [33].

#### Sarcină și alăptare

Nu există date legate de siguranța uleiului esențial în sarcină și alăptare.

#### Contraindicații și precauții

În caz de hipersensibilitate [33].

Condiții de acceptabilitate pentru materiile prime:

Uleiul esențial de sovarv se obține prin antrenare cu vapori a vârfurilor florale. Uleiul de sovarv este de regulă un ulei de culoare închisă, de obicei roșu-brună cu un miros intens, fenolic, ierbaceu dar în același timp și foarte proaspăt. Nota de debut este ușor verde-camforacee, ierboasă, descoperind în timp o notă de mijloc bogată, uscat-lemnoasă, cu reminiscențe de cade și fenolică. Către nota de fond, mirosul devine mai dulceag, dar elementele fenolice și lemnoase rămân evidente, diferențiindu-se astfel de fondul uleiului de cimbru. Gustul este ușor arzător, cald-fenolic (medicinal) cu un subton bogat, ierbaceu.

Caracteristici:

Denumire	Caracteristici	Densitate	Putere rotatorie	Indice de refracție
Ulei esențial de oregano (șovârv)	Lichid limpede, roșu-brun, miros aromat, caracteristic.	0,935-0,970	-2 - +3 <sup>0</sup>	1,502-1,528

#### Ulei de negrilică

Denumire științifică: *Nigella sativa* L. sin. *Nigella cretica* Mill.

Familie: *Ranunculaceae*

Descrierea plantei: Negrilica sau chimionul negru este o plantă ierboasă anuală, erectă, care atinge o înălțime de 60 cm. În pământ, specia prezintă o rădăcină bine dezvoltată, de culoare galben-brună. Tulpina este verde până la verde-

închis, pe aceasta găsiindu-se frunzele fidate de culoare verde, care odată cu îmbătrânirea plantei devin brune sau roșieice. Florile tinere prezintă o culoare verde-pal, care la maturitate devin albastre. Fructele sunt capsule care la maturitate au o culoare galben-brună, în ele găsiindu-se semințele negre, aromate, cu gust și miros condimentate.

Este nativă din Sudul Europei, Nordul Africii și Sud-Estul Asiei și este cultivată în multe țări din lume, ca regiunea Mediteraneană de Est, Europa de Sud, India, Pakistan, Siria, Turcia, Arabia Saudită.

Produs vegetal: se folosesc semințele de negrilică, uleiul gras și uleiul volatil din plantă. În acest caz se utilizează uleiul gras de negrilică.

Descrierea uleiului gras: Are o culoare galbenă și un miros picant.

Compoziția uleiului gras:

Este constituit din:

- lipide formate formate din acizii linoleic, palmitic, oleic și stearic
- cantități reduse de glicolipide și fosfolipide
- ulei volatil – timol, carvacrol, pinen, p-cimen, timochinonă
- $\beta$ -sitosterol,  $\alpha$ -tocoferol [34,37,38].

Rol urmărit în acest caz: se folosește ca bază de ulei, dar și ca antiinflamator și antibacterian la nivelul aparatului respirator.

Evaluarea eficienței uleiului gras de negrilică

În primul secol d.Hr., medicul grec Dioscorides a relatat că semințele au fost folosite pentru o varietate de probleme, inclusiv dureri de cap, dureri de dinți, congestie nazală și viermi intestinali [35]. Negrilica are numeroase proprietăți printre care: diuretică, antimicrobiană, imunomodulatoare, antiinflamatoare, antioxidantă, ș.a.. Semințele sunt utilizate în diferite afecțiuni respiratorii, cum sunt: bronșită, astm, dar și imunitate scăzută, diferite infecții [36].

Mecanism de acțiune: uleiul gras de negrilică acționează prin inhibarea biosintezei de proteine și lipide din celula bacteriană, împiedicând astfel câțiva pași din procesul de transcriere. Acesta acționează similar cu tetraciclinele [38].

Studii in vitro

S-a investigat efectul antibacterian al uleiului de negrilică împotriva câtorva bacterii și s-a arătat că acesta inhibă dezvoltarea *Staphylococcus aureus rezistent la meticilină*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, datorită prezenței compușilor fenolici din uleiul esențial, dar și datorită lipidelor. [37].

Uleiul de negrilică presat la rece a arătat că acționează ca antimicrobian asupra tulpinilor patogene: *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Staphylococcus aureus* având diametrul de inhibiție între 14-17 mm [38].

Studii preclinice pe animalele de laborator

S-a evaluat efectul timochinonei la șobolanii cu inflamații ale aparatului respirator de cauză alergică. Administrarea acestui principiu activ din uleiul de negrilică, timp de 5 zile, a redus inflamația căilor respiratorii, demonstrată prin scăderea semnificativă a citokinelor Th2, inhibarea enzimei COX-2 și scăderea producției de prostaglandină PGD2, la șobolanii cu inflamație pulmonară [46].

Studii clinice



Un studiu dublu-orb a investigat efectul antiinflamator al uleiului de negrilică la 66 pacienți cu simptome de rinită alergică. Rezultatele au arătat că uleiul de negrilică a redus congestia mucoasei nazale, rinoreea și inflamația mucoasei nazale, în primele 2 săptămâni de tratament [47].

Evaluarea siguranței uleiului gras de negrilică

Toxicitate preclinică

Toxicitate acută

S-a investigat toxicitatea acută a uleiului gras din semințele de negrilică la șoareci. DL50 (doza care provoacă efectul letal la 50% dintre animalele din lotul testat) orală a uleiului a fost 28.8 ml/kg greutate corporală [39].

Toxicitate cronică

A fost testată toxicitatea cronică la șobolani prin administrarea orală zilnică de ulei gras de negrilică în doza de 2ml/kg timp de 12 săptămâni. Nu s-au observat modificări în ceea ce privește nivelul enzimelor hepatice (aspartat-aminotransferaza, alanin-aminotransferaza, gamma-glutamilttransferaza), histopatologia (inimă, ficat, rinichi și pancreas) după 12 săptămâni. În schimb, a scăzut nivelul colesterolului, glicemiei și trigliceridelor și a crescut nivelul de hematocrit, hemoglobină și greutatea corporală. Uleiul de negrilică are o marjă largă de siguranță în dozele terapeutice [39].

Mutagenitate și genotoxicitate

Nu are efecte mutagenice sau genotoxice, dimpotriva uleiul gras de negrilică protejează celulelor împotriva aberațiilor cromozomiale induse de diverse substanțe toxice [40].

Toxicitate reproductivă

Nu are efecte negative asupra aparatului reproducător. Uleiul gras de negrilică are efecte protectoare împotriva substanțelor care afectează funcția reproducătoare [41].

Toxicitate clinică

Nu au fost raportate cazuri de toxicitate clinică.

Administrat în doze uzuale, uleiul de negrilică a dovedit că este lipsit de toxicitate [34].

Reacții adverse

Nu au fost raportate în urma consumului oral de ulei de negrilică.

Interacțiuni

Poate crește biodisponibilitatea amoxicilinei [36].

Sarcină și alăptare

Nu există informații privind siguranța și eficacitatea uleiului de negrilică în timpul sarcinii și alăptării [35].

Contraindicații și precauții

-

Condiții de acceptabilitate pentru materiile prime:

Ulei gras de negrilica (*Nigella sativa oleum*) se obține prin presare la rece a semințelor de negrilică. Este un lichid ușor vâcos, de culoare galbenă și are un miros picant.

Se folosește ca bază de ulei, pentru diluarea uleiurilor esențiale, dar și ca antiinflamator și antibacterian la nivelul aparatului respirator, ORL, digestiv și cutanat.  
Caracteristici:

Denumire	Caracteristici	Densitate	Indice de refracție	Indice de peroxid
Ulei de negrilică	Lichid limpede uleios, de culoare galbenă, miros picant caracteristic.	0,905 - 0,935	1,464 - 1,484	Max 15

Ulei de floarea soarelui

Denumire științifică: *Helianthus annuus* L.

Familie: *Asteraceae*

Descrierea plantei: Plantă anuală; rădăcină pivotantă, profundă; tulpina de 1-3 m înălțime, erectă, aspru păroasă, simplă sau puțin ramificată la partea superioară, în interior cu măduvă; frunzele alterne, mari, pețiolate, lat ovate, cordate, dințate, aspru păroase pe ambele fețe; antodii solitare sau puține, cu receptaculul aproape plan, nutante, mari, plane; florile ligulate portocalii iar cele centrale, tubuloase, brune, fertile; hipsofilele involucreale foliacee, aspru păroase; înflorirea iulie-octombrie; fructul achenă comprimată, fin catifelat păroasă, de culoare albă, neagră, gălbuie sau pestriță.

Este originară din America de Nord, fiind introdusă în Europa în secolul al XVI-lea [42,43].

Produs vegetal: în acest caz se utilizează uleiul gras obținut din semințele fără pericarp ale plantei.

Descrierea uleiului gras: Conform Farmacopeei Române ed a X-a: lichid uleios, limpede, de culoare galben-aurie, cu miros slab caracteristic.

Compoziția uleiului gras:

-trigliceride – acizi grași constituiți din acid linoleic, oleic, palmitic

-steroidi – steroli incluzând campesterol, colesterol, beta-sitosterol [44]

Rol urmărit în acest caz: bază grasă de ulei, fără rol terapeutic

Evaluarea siguranței uleiului gras de floarea soarelui

Nu există cazuri raportate de toxicitate acută, cronică, mutagenitate, carcinogenitate, reproductivă [45].

Reacții adverse

Semințele de floarea soarelui pot cauza reacții alergice.

Uleiul de floarea soarelui este sigur pentru uz oral [45].

Condiții de acceptabilitate pentru materiile prime:

**Ulei gras de floarea soarelui** (*Helianthi oleum*)- este utilizat ca baza, pentru diluarea uleiurilor esențiale, cu scopul ambalării lor în capsule moi.

Caracteristici:

Denumire	Caracteristici	Densitate	Indice de refracție	Indice de peroxid
Ulei de floarea soarelui	Lichid limpede uleios, de culoare galben aurie, miros slab caracteristic.	0,9170 - 0,924	1,4730 - 1,4760	max. 10

Conditii de acceptabilitate pentru produsul finit

Pentru produsul finit (ambalare la sticluta a 10 ml si ambalare in capsule moi a 250 mg) se urmaresc urmatoorii parametrii:

Proprietati fizico – chimice.

Solutia ambalată in flacon de sticla a 10 ml:

Caracteristică	Condiții de admisibilitate
Aspect	Lichid limpede
Culoare	incolor....slab galbui
Miros	Aromat, caracteristic componentelor
Densitate	0,920 – 0,950
Indice de refracție, $n_D^{20}$	1,48- 1,51
Putere rotatorie, $\alpha_D^{20}$	0 ... +3
Masa individuala	10 ml $\pm$ 9%

Ambalare in capsule moi (a 250 mg)

Caracteristica	Condiții de admisibilitate
Aspect capsulă	Capsule gelatinoase moi sub forma cilindrica, cu capete emisferice, cu aspect uniform la suprafata, lucios.
Culoarea capsulei	Galben pal, transparent
Aspect conținut capsulă	Amestec de uleiuri esențiale și ulei gras, de culoare gălbuie, cu gust și miros caracteristic.
Timp de dezagregare	max 30'
Densitate	0,920 – 0,950
Indice de refracție, $n_D^{20}$	1,47- 1,49
Putere rotatorie, $\alpha_D^{20}$	-5.....0
Uniformitatea masei - masa individuală/capsulă	250 mg - $\pm$ 7,5% față de masa medie stabilită

Contaminare microbiana.

Parametru analizat	Limita maxima admisa
--------------------	----------------------

Număr total de germeni aerobi:	
Bacterii aerobe/g	Max. $10^5$
Fungi/g	Max. $10^4$
Escherichia coli/g	Absent
Enterobacterii si alte bacterii gram negative/gram sau ml	Max. $10^3$
Salmonella/g	Absent

## REVEDICĂRI

1 – Antibacterian forte natural caracterizat prin aceea că, forma de fabricație ca soluție uleioasă se obține prin asocierea a 70-90% ulei esențial de cimbru (*Thymi aetheroleum*), 15-35% ulei esențial de cuișoare (*Caryophylli floris aetheroleum*), 3-20% ulei esențial de oregano (*Origani aetheroleum*) și 3-20% ulei de negrilică (*Nigella sativa oleum*).

2 - Antibacterian forte natural caracterizat prin aceea că, forma de fabricație capsule moi, se obține prin asocierea a 20-40% ulei esențial de cimbru (*Thymi aetheroleum*), 5-25% ulei esențial de cuișoare (*Caryophylli floris aetheroleum*), 3-20% ulei esențial de oregano (*Origani aetheroleum*), 40-60% ulei de floarea soarelui (*Helianthi oleum*) și 15-35% ulei de negrilică (*Nigella sativa oleum*).

3 - Antibacterian forte natural conform revendicărilor 1 și 2 caracterizat prin aceea că are acțiune în eliminarea microorganismelor potențial patogene din tractul respirator.