



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2021 00567**

(22) Data de depozit: **22/09/2021**

(41) Data publicării cererii:  
**30/03/2022** BOPI nr. **3/2022**

(71) Solicitant:  
• UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE  
ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ A BANATULUI  
"REGELE MIHAI I AL ROMÂNIEI" - DIN  
TIMIȘOARA, CALEA ARADULUI NR. 119,  
TIMIȘOARA, TM, RO

(72) Inventatori:  
• TULCAN CAMELIA,  
STR.SAMUII ȘAGOVICI, NR.82,  
TIMIȘOARA, TM, RO;  
• HUȚU IOAN, STR.GH.LAZĂR, NR.34,  
ET.VIII, AP.69, TIMIȘOARA, TM, RO;  
• MIRCU CĂLIN, STR.PRAGA, NR.37,  
DUMBRĂVIȚA, TM, RO;  
• RADULOV ISIDORA, STR. BABA DOCHIA,  
BL.D2, SC.B, ET.4, AP.20, TIMIȘOARA, TM,  
RO;

• TIBERIU IANCU, STR. SIMFONIEI, NR.14,  
DUMBRAVIȚA, TM, RO;  
• OBIȘTIOIU DIANA MONICA, STR.HAGA,  
NR.38, TIMIȘOARA, TM, RO;  
• COCAN ILEANA, CALEA HODONIULUI,  
NR.25, DUDEȘTII NOI, TM, RO;  
• BOLDURA OANA - MARIA,  
STR. REGIMENTUL 6 ARTILERIE GREA,  
NR. 9, AP.11, TIMIȘOARA, TM, RO;  
• GAȘPAR CRISTINA MIRABELA,  
STR.CORNET, BL.67, SC.A, ET.2, AP.8,  
LUGOJ, TM, RO;  
• TORDA IULIU, NR.296A, SAT ROȘIORI,  
COMUNA ROȘIORI, BH, RO

(74) Mandatar:  
CABINET DE PROPRIETATE  
INDUSTRIALĂ TUDOR ICLĂNZAN,  
PIAȚA VICTORIEI NR.5, SC.D, AP.2,  
TIMIȘOARA, TM

## (54) PREPARATE DIN PRODUSE NATURALE UTILIZATE ÎN TRATAMENTUL MAMITELOR CU ETIOLOGIE BACTERIANĂ

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un preparat din produse naturale pentru tratarea mamitelor cu etiologie bacteriană. Preparatul, conform invenției, este constituit dintr-un complex I din extract de busuioac și extract de gălbenele, în raport masic 1:2, eventual un complex II din extracte de salvie, rostopască, leurdă și anghinare, în rapoarte

masice egale, complex III din extracte de gălbenele, leurdă, anghinare, vindecea și crăițe, în raport masice de 3:1:1:1:1, în combinație cu o bază de încorporare de tip lanolină, uleiuri și adjuvanți naturali.

Revendicări: 4



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI
Cerere de brevet de invenție
Nr. a 2021 00568
Data depozit 22-09-2021

## PREPARATE DIN PRODUSE NATURALE ÎN TRATAMENTUL MAMITELOR CU ETIOLOGIE BACTERIANĂ

Prezenta invenție se referă la prepararea unor produse terapeutice din produse naturale prin utilizarea unor combinații de extracte din plante și uleiuri, încorporate într-un unguent pe baza de grăsimi saturate de origine animală, destinat aplicării locale, cu efect curativ asupra mamitelor cu etiologie bacteriană. Domeniul specific de aplicație este cel al medicinei veterinare.

La nivel mondial, mamitele reprezintă o cauză majoră a pierderilor financiare din industria producțiilor animaliere ce vizează obținerea laptelui destinat consumului uman. La baza acestor pierderi se află atât randamentul redus al animalelor bolnave, cât și slaba calitate a laptelui datorită modificării compoziției biochimice a acestuia.

**Mamita** reprezintă răspunsul inflamator al țesutului mamar la acțiunea unor microorganisme, în special bacterii sau a unor traumatisme mecanice [1]. Dependent de gradul de inflamare al ugerului, mamitele se pot clasifica în două mari categorii: mamitele clinice, cele în care procesul inflamator este intens, semnele clinice sunt ușor remarcabile, iar secreția laptelui este anormală și mamitele subclinice în care simptomatologia este ștearsă, însă producția de lapte este adesea scăzută, iar numărul de celule somatice crește semnificativ. Cu toate acestea, mamitele subclinice determină substanțiale pierderi financiare în fermele de vaci de lapte, din cauza diagnosticării întârziate a acestei afecțiuni [2]. Pe lângă producția scăzută de lapte, mamitele afectează și viața reproductivă a animalelor și au un impact negativ major asupra bunăstării acestora.

În ceea ce privește etiologia mamitelor produse de microorganisme, principalii agenți cauzali sunt fie patogeni contagioși, fie patogeni proveniți din mediul de viață al animalelor.

Principalii agenți contagioși responsabili de producerea mamitelor la specia bovină sunt reprezentați de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* și diferite specii de *Mycoplasma*. Cea de-a doua clasă de patogeni cuprinde o gamă variată de microorganisme precum bacteriile coliforme (*Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*), *Pseudomonas spp.*, *Proteus spp.*, *Aerococcus spp.*, *Streptococcus dysgalactiae* și *uberis*, dar și anumite specii de drojdii sau alge [3].

În general, combaterea principalilor agenți cauzali ai mamitelor la specia bovină implică utilizarea unei strategii cheie a abordării terapeutice și anume *antibioticoterapia*. În ultimii ani, din cauza utilizării excesive a antibioticelor, numeroase tulpini bacteriene au dezvoltat o *antibiorezistență* remarcabilă, îngreunând considerabil tratarea acestei patologii. Răspândirea din ce în ce mai accentuată a procesului de învățare la procariote reprezintă o amenințare gravă pentru întregul sistem de sănătate publică, atât la nivelul țării noastre, cât și la nivel mondial. De asemenea, transmiterea bacteriilor rezistente sau a reziduurilor de antibiotice prin intermediul lanțului alimentar la specia umană constituie o problemă critică care necesită o rezolvare imediată [1].

În ultimul deceniu, procesul de înlocuire a antibioticelor cu produse curative alternative a căpătat o mare importanță la nivel global. În ceea ce privește tratarea mamitelor cu preparate naturale, se încearcă condiționarea și efectuarea unor strategii terapeutice cu acțiune directă asupra patogenilor și a leziunilor produse țesutului mamar. Fie că este vorba de unguente cu aplicare locală (**EP3419600A1**, **US20080020061A1**, **CN111166824A**) sau intramamară (**WO2012131732A1**), suspensii administrate direct în canalul papilar (**US5846543A**) sau soluții de spălare a mameloanelor (**WO2014053977A1**,

**RU2605631C1**), toate au la bază utilizarea principiilor active ale anumitor fitoproduse.

Speciile de plante utilizate, având efecte curative recunoscute, sunt:

i. **Busuiocul** (*Ocimum basilicum*, fam. *Lamiaceae*)- abreviat **B**, îndeplinește un rol vital în medicina alternativă deoarece reprezintă una dintre cele mai bogate surse de principii cu efect antioxidant precum polifenolii, flavonoizii și acizii fenolici. Planta este recunoscută la nivel mondial pentru proprietățile sale antibacteriene, antifungice și antiinflamatorii. Dintre numeroșii compuși volatili pe care îi posedă în compoziția sa, cel mai important din punct de vedere al activității antimicrobiene este eugenolul. Acesta exercită, de asemenea, efecte antifungice, nematocide și larvicide. Polizaharidele din structura plantei au activitate antitumorală, antibacteriană și imunomodulatorie [4]. Extractele etanolice obținute din busuioc au indicat o activitate inhibitorie remarcabilă asupra *S. aureus* și *E. coli* [5].

ii. **Gălbenelele** (*Calendula officinalis*, fam. *Asteraceae*) - abreviat **G**, sunt folosite încă din antichitate pentru o serie de funcții precum cea antiinflamatorie, antioxidantă, antiedematoasă, antitumorală, spasmolitică și regenerativă a țesutului dermic. De-a lungul timpului s-a constatat prezența în structura plantei a numeroși metaboliți secundari cu importante proprietăți farmacologice, precum terpenii, flavonoizii, cumarinele, chinonele, carotenoizii și o serie de aminoacizi. Dintre aceștia, triterpenele reprezintă compuși antiinflamatori esențiali [6]. Extractul din planta de *C. officinalis* are capacitatea de degranulare a mastocitelor, scade nivelul de IFN- $\gamma$  și determină întârzierea expresiei ciclooxigenazei 2 (COX-2), implicată în răspunsul inflamator. Carotenoizii inhibă în mod semnificativ producerea în exces a speciilor reactive ale oxigenului, iar licopenul reduce considerabil efectul citokinelor pro-inflamatorii [7].

iii. **Cimbrul** (*Thymus vulgaris*, fam. *Lamiaceae*) - abreviat **C1**, folosit mai ales sub formă de ulei esențial, reprezintă o bogată sursă de compuși bioactivi

aromatici precum timolul sau carvacrolul, care îndeplinesc rolul esențial de agenți antimicrobieni și antioxidanți. De asemenea, planta exercită și o activitate antiinflamatorie și imunomodulatoare remarcabilă [8]. Pe lângă timol și carvacrol, cimbrul conține și alte fracțiuni precum p-cymene, sau  $\gamma$ -terpinene. Totuși, pe lângă funcția sa antimicrobiană, s-a dovedit implicarea eficientă a timolului în controlul mecanismului inflamator și sinteza colagenului, precum și în intensificarea procesului de cicatrizare a plăgilor [9].

iv. **Salvia** (*Salvia officinalis*, fam. *Lamiaceae*) - abreviat **S**, considerată în mod oficial planta medicină datorită efectelor sale benefice asupra sănătății este recunoscută pentru proprietățile sale antiinflamatorii, antioxidante, antibacteriene, fungicide, virostatice și astringente. Activitatea antibacteriană a plantei vizează atât bacterii gram-pozitive (*S. aureus*, *S. enterica*, *B. subtilis*), cât și gram-negative (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. tumefaciens* și *P. aeruginosa*). *Salvia officinalis* reprezintă și o sursă considerabilă de polifenoli precum rutina, catechina, carvacrolul sau quercetina [10].

v. **Rostopasca** (*Chelidonium majus*, fam. *Papaveraceae*) - abreviat **R**, este o plantă recunoscută în special pentru activitatea sa virulicidă, dar și pentru numeroșii compuși naturali valoroși din punct de vedere medical pe care îi conține. Principalii astfel de constituenți sunt sanguinarina, chelidonina, cheliritrina, protoberberina, coptisina, protopina. Un grup important de compuși activi pe care planta îi posedă sunt acizii fenolici, reprezentați în special de acidul cafeic și esterii săi (acidul ferulic și p-cumarinic), precum și acidul chelidonic. Dintre funcțiile terapeutice pe care *Ch. majus* le poate îndeplini în organism, de menționat este funcția antiinflamatorie, antimicrobiană, antibacteriană, antivirală, antimicotică, imunomodulatoare, antineoplazică și analgezică [11].

vi. **Leurda** (*Allium ursinum*, fam. *Amaryllidaceae*) - abreviat **L**, reprezintă o importantă sursă de polifenoli, flavonoizi și substanțe pe bază de sulf. La nivelul frunzelor se concentrează acidul ferulic și vanilic, precum și acidul p-cumarinic.

*A. ursinum* este folosit în special datorita acțiunii sale antioxidante, citostatice, dar și antimicrobiene (mai ales asupra enterobacteriilor) [12].

vii. **Anghinarea** (*Cynara scolymus*, fam. *Asteraceae*) - abreviat **A** este utilizată în special pentru proprietățile sale anticancerigene, antioxidante și antibacteriene, datorate în special conținutului ridicat de compuși polifenolici. Aceștia includ acidul mono și 1,3-dicafeoylquinic precum și numeroși flavonoizi. Pe lângă derivații cafeici, acidul clorogenic reprezintă o componentă principală din structura plantei. Totalitatea acestor bioconstituenți asigură, pe lângă activitatea antioxidantă și proprietățile antiinflamatorii ale *C. scolymus* [12].

viii. **Cuișoarele** (*Syzygium aromaticum*, fam. *Myrtaceae*) - abreviat **C2**, sunt comercializate atât în industria cosmetică, cât și cea medicală pentru seria de funcții pe care le pot îndeplini. Studiile au demonstrat activitatea antimicrobiană remarcabilă a extractelor și uleiurilor de cuișoare, precum și cea antivirală, antifungică, anticancerigenă și nu în ultimul rând antioxidantă. Eficiența antimicrobiană și de inhibare a unor boli degenerative a cuișoarelor se datorează bioconstituenților din structura acestora, în special acidului hidrobenzoic, hidroxicinamic și gallic, acizilor fenolici (acid ferulic, cafeic, salicilic), flavonoizilor (quercetina și kaempferol) și eugenolului, compus principal al uleiului esențial de cuișoare, utilizat încă din antichitate ca analgezic și pentru tratarea plăgilor [14].

ix. **Vindeceaua** (*Betonica officinalis*, fam. *Lamiaceae*) - abreviat **V** este utilizată în medicina tradițională atât sub forma de ceai, cât și sub formă de comprese pentru tratarea leziunilor dermatologice. Planta conține polifenoli precum taninurile, acizi fenolici, flavonoizi, alcaloizi, stachidine, betaine și uleiuri volatile [15].

x. **Crăițele** (*Tagetes patula*, fam. *Asteraceae*) - abreviat **C3** au fost utilizate încă din antichitate pentru tratarea durerilor musculare, a plăgilor și a inflamațiilor. Bioconstituenții cheie din structura plantei sunt terpenele,

flavonoizii, benzofuranii și carotenoizii. Un compus important conținut de *T. patula* este patuletina, implicat în asigurarea funcției antioxidante, antispastice, antiinflamatorii și antimicrobiene. Extractele de *T. patula* testate pe tulpini bacteriene au indicat o activitate considerabilă asupra *Sarcina lutea*, *Bacillus megaterium*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Shigella boydii*, *Staphylococcus aureus*, *Sh. dysenteriae*, *E. coli*, *Vibrio mimicus* și *Vibrio parahaemolyticus* [16].

**xi. Untul pământului** (*Dioscorea communis*, fam. *Dioscoreaceae*) - abreviat **U** este cunoscut pentru activitatea anticolinesterazică, antiinflamatorie și de intensificare a fluxului sangvin, aceste proprietăți fiind asigurate de bioconstituenții de la nivelul tuturor organelor plantei. Datele din literatura de specialitate au descris ca principali constituenți ai speciilor de *Dioscorea* derivații fenantrenici, flavonoizii, acizii fenolici, furanocumarinele și saponinele steroidice [17].

**xii. Morcovul** (*Daucus carota* - fam. *Apiceae*)- abreviat **M** este folosit în special pentru prezenta în compoziția sa a precursorilor vitaminei A, vitamina implicată în procesul de regenerare dermică. Peste 600 de caroteni au fost identificați în structura sa, chiar dacă  $\alpha$ - și  $\beta$ -carotenii sunt formele cele mai importante implicate în sinteza vitaminei A. Alți carotenoizi semnificativi din punct de vedere cantitativ sunt  $\gamma$ - și  $\delta$ -carotenii, licopenul și zeacarotenu. De asemenea, unele studii au indicat capacitatea compușilor poliacetilenici reprezentați de falcarinol (caratoxina) și falcarindiol, exercită acțiuni citotoxice împotriva celulelor tumorale. Pe lângă compușii de mai sus, aproximativ 20 de aminoacizi (principalii fiind acidul aspartic,  $\alpha$ -alanina, serina, acidul glutamic, glucozamina, arginina, valina și treonina), precum și acizii organici (malic, citric, piroglutamic și succinic acizi) au fost identificați în structura morcovului (12). Uleiul de morcov este recunoscut pentru capacitatea crescută de regenerare dermică.

**xiii. Germenii de grâu** (*Triticum vulgare* -fam. *Poaceae*) - abreviat **GG**, conțin aproximativ 10–15% lipide, 26–35% proteine, 17% zaharuri, 1,5–4,5% fibre și 4% minerale, precum și cantități semnificative de compuși bioactivi precum tocoferoli, fitosteroli, carotenoizi, tiamină și riboflavină. Uleiul de germeni de grâu este bogat în trigliceride, în principal acid linoleic, palmitic și oleic, iar principalii săi constituenți minerali sunt potasiul, magneziul, calciul, zincul și manganul (10). Uleiul are un efect benefic asupra sistemului imun, stimulează și accelerează procesul de vindecare a plăgilor și arsurilor (11).

**xiv. Propolisul** – abreviat **P**, este cunoscut în medicina tradițională pentru numeroasele sale proprietăți farmacologice precum cea antibacteriană, antifungică, antivirală, antioxidantă, antitumorală, antiinflamatorie, imunomodulatorie și citotoxică. Peste 500 de substanțe au fost identificate în compoziția propolisului. Acesta conține în special rășini (45-55%), ceară (până la 25-35%), uleiuri esențiale și aromatice (5-10%), polen (5%), vitamine, microelemente, zaharuri, acizi grași flavonoizi, terpene (monoterpene, sesquiterpene, diterpene și triterpene), acizi fenolici (acid cafeic, p-cumaric, trans-ferulic, trans-cinamic), aminoacizi, cumarine și alcani. Din categoria compușilor flavonici se numără în special flavonele (luteolina, apigenina, crisina și derivații acestora), flavonolii (macarangina, derivații de quercetină, kaempferolul, galangina) și flavanonele (propolina A, propolina B, propolina E, 2S-naringenina, pinocembrina). Acești compuși au o contribuție semnificativă în exercitarea activității farmacologice a propolisului. De-a lungul timpului a fost demonstrată capacitatea propolisului de a inhiba creșterea unor tulpini bacteriene precum *Staphylococcus aureus*, *Enterococ spp.*, *Bacillus cereus* și a unor drojdii precum *Candida spp.* Se presupune faptul că mecanismul de realizare a activității antimicrobiene este complex și ar putea fi atribuit efectului sinergic dintre substanțele fenolice, în special flavonoizi și esterii acizilor fenolici. Extractul de propolis stimulează efectul și mărește semnificativ eficacitatea antibioticelor, inclusiv a vancomicinei și oxacilinei împotriva



microorganismelor rezistente (MRSA, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*).

Deși s-a testat și demonstrat efectul mai multor specii de plante asupra mamitelor, exista încă o nevoie continuă de identificare a unor combinații de fitoconstituenți cu eficiență curativă împotriva acestor infecții bacteriene, care să nu exercite efecte adverse asupra sănătății animalelor și a calității laptelui.

**Problema tehnică a invenției** constă în realizarea unor preparate cu efecte curative ridicate, având costuri reduse și fără efecte secundare, obținute prin asocierea unor produse naturale care au la bază asocieri de componente multiple pe bază de fitoextracte, uleiuri și adjuvanți, utilizabile ca soluție alternativă în tratarea mastitei la specia bovină.

Prezenta invenție se referă la prepararea unor noi produse pe baza de fitoconstituenți, adjuvanți naturali și grăsimi de origine animală, cu efecte potențate în tratarea mamitelor cu etiologie bacteriană.

Preparatele din produse naturale în tratarea mamitelor cu etiologie bacteriană utilizează niște fitoconstituenți ca busuioc, galbenele, cimbru, salvie, rostopască, leurdă, anghinare, cuișoare, vindecea, crăițe, uleiul pământului, morcov, germeni de grâu, propolis, adjuvanți naturali și grăsimi de origine animală în care fitoconstituenții sunt asociați în trei tipuri de complexe:

- complexul I din extracte de busuioc și de gălbenele având raportul masic de 1:2;

- complexul II din extracte de salvie, rostopască, leurdă și anghinare având raportul masic de 1:1:1:1;

- complexul III din extracte de galbenele, leurdă, anghinare, vindecea și crăițe având raportul masic de 3:1:1:1:1, complexe I, II și III fiind combinate cu extracte de propolis și untul pământului, uleiuri esențiale volatile de cimbru, de cuișoare, ulei de morcov și ulei de grâu toate având lanolina ca baza de

incorporare astfel că pe baza efectului sinergic determinat de rapoartele optime de combinare să se asigure o creștere a efectului antimicrobian, a celui antiinflamator și o regenerare la nivel epitelilor.

Preparatele din produse naturale utilizate în tratarea mamitelor cu etiologie bacteriană conform invenției **prezintă următoarele avantaje:**

- variantă alternativă de tratare a mamitelor de natura bacteriana, în raport cu produse farmaceutice convenționale precum antibioticele.
- efecte farmacologice superioare produselor dintr-un singur constituent
- conduite terapeutice ușor de realizat de către medicul veterinar

Se dau în continuare mai multe **exemple de realizare a invenției**. Un aspect important prezentei invenției este compoziția unor unguente care cuprinde un amestec de extracte din plante și uleiuri, cu o gama mult mai largă de funcții terapeutice decât cele asociate unei singure surse de fitocomponenți bazate pe sinergismul optim dintre bioconstituenții fiecărei surse vegetale. Efectul terapeutic al unguentelor rezultate se datorează sinergiei dintre proprietățile antibacteriene, antiinflamatorii, regenerative și calmante ale unor specii de plante din familia *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Amaryllidaceae*, *Papaveraceae*, *Myrtaceae*, respectiv *Dioscoreaceae* și cele ale uleiurilor naturale, dar și capacității lanolinei de a străbate barieră dermică, facilitând astfel difuziunea principiilor terapeutice la nivelul focarului inflamator.

Pe lângă materialul vegetal reprezentat de extracte alcoolice și uleiuri naturale s-a folosit **lanolina** ca bază de încorporare. Aceasta reprezintă un material semisolid, purificat din grăsime animală, extrasă de la nivelul firului de lână de la specia ovina. Lanolina conține un amestec complex de alcooli cu greutate moleculară mare și aproximativ 36 de acizi grași, inclusiv colesterol. Cea mai importantă proprietate a lanolinei este aceea de a încorpora până la 25-30% apă. Fiind un bun emolient, lanolina este utilizată în industria cosmetică tocmai datorită capacității sale de a străbate bariera dermică și de a se canaliza în mod direct la nivel tisular.

Extractele vegetale au fost obținute din plante recoltate din flora spontană autohtonă, respectând perioadele de recoltare în vederea obținerii unei compoziții optime în principiile bioactive. După recoltare, plantele au fost tratate și uscate în conformitate cu metode standardizate aplicabile materialului vegetal. Consecutiv uscării, materialul vegetal a fost măcinat în vederea obținerii unor pulberi fine.

Procedeele de obținerea ale fitoextractelor urmăresc obținerea unei compoziții optime în flavonoizi și polifenoli, proporțiile utilizate fiind stabilite în urma evaluării *in vitro* a proprietăților antioxidante și antimicrobiene prin metode analitice recunoscute (metoda FRAP, metoda IC 50-DPPH, metoda diluțiilor multiple). Eficacitatea tratamentului cu produsele obținute a fost evaluată *in vivo* prin aplicarea produsului pe modele experimentale murine.

Pentru prepararea extractelor s-au folosit 15 g din fiecare plantă (**B, G, S, R, L A, V, C3, U**), iar solventul ales a fost etanolul (70%), într-un raport *plantă : solvent* de 1:10. Complexul planta-etanol a fost omogenizat (30' la 200 rpm) prin utilizarea unui agitator orbital de tip *Panasonic MIR-S100-PE*, apoi filtrat printr-o hârtie de filtru (*Whatman, Grade 1*) cu diametrul porilor de 90 mm. Extractele etanolice au fost liofilizate (5mTorr, -54°C ) utilizând un liofilizator *Ilshin FD 5512*, produsele solide obținute cu un randament cuprins între 1,15 ÷ 3,35%. Compoziția extractelor a fost evaluată utilizând tehnica HPLC MS (*Shimadzu LC-MS 2010 detectors, EC 150/2 NUCLEODUR C18 Gravity*).

Extractul de propolis a fost obținut în aceleași condiții ca în cazul extractelor de plante.

Uleiurile esențiale volatile (**C1, C2**) s-au obținut prin antrenare cu vapori de apă (metoda Clevenger) cu randament de extracție cuprinse între 1,0 ÷ 3,5%, compoziția lor fiind caracterizată prin tehnica GC-MS (*GC MS 7820A, MSD 5975 Agilent Technologies*).

Uleiul de morcov și cel de grâu au fost achiziționate de la producători naționali certificate ca producători ecologici.

Extractele alcoolice au fost utilizate în elaborarea a trei variante de complexe active analiza datelor experimentale permițând selectarea următoarelor rapoarte masice de combinare în potențarea efectului antimicrobian și antioxidant și anume:

- Complexul I - conține extract de busuioc și de gălbenele, **B:G** - 1:2
- Complexul II - conține extract de salvie, rostopască, leurdă și anghinare **S:R:L:A** – 1:1:1:1
- Complexul III - conține extract de galbenele, leurda, anghinare, vindecea și crăițe **G:L:A:V:C3** – 3:1:1:1:1

Evaluarea rapoartelor optime de combinare în cadrul acestor complexe s-a efectuat prin metoda spectrofotometrică cu DPPH (2, 2-difenil-1-picrilhidrazil) de determinare a  $IC_{50}$  (cantitatea de extract care asigură un procent de inhibiție de 50% a reducerii radicalului DPPH) și reprezintă o evaluare a acțiunii antioxidante/antiradicalice. S-a evaluat  $IC_{50}$  pentru fiecare component al complexului activ cât și pentru amestecurile propuse, testându-se diverse rapoarte de combinare, pentru o plajă de concentrații care au variat de la 10-200ul/ml.

Testele microbiologice realizate atât pe extractele de plante individuale cât și în amestec au demonstrat efectul antimicrobian potențat al amestecurilor, sinergia compușilor conținuți fiind evidențiată printr-o eficacitate mărită a produsului final sugerat spre utilizare. La utilizarea amestecurilor de extracte se observă efecte sinergice generate între principiile active constituente, care determină o creștere a capacității de inhibare a dezvoltării celulare. Toate amestecurile analizate au determinat un efect de inhibare, care a crescut direct proporțional cu doza de extract aplicată exercitând un efect de inhibare maxim la cantități de 50 - 100 microlitri amestec de extracte aplicat.

Invenția asigură realizarea a trei variante de combinare a complexelor active prezentate cu celelalte componente care asigură pe lângă o creștere a efectului antimicrobian (în cazul uleiurilor esențiale), a celui antiinflamator (extractele de propolis și untul pământului) și o regenerare la nivel iilor. Rezultatele diagnosticului / examenului microbiologic (care oferă informații certe privind etiologia mamei – mamei cauzată de bacterii cu grad mare de contagiozitate sau mamei cauzată de microbi din mediu) și gradul acesteia (mamei acută, mamei subacută sau mamei cronică) indică medicului modalitatea abordării intervenției terapeutice. Practic, dependent de faza preponderentă observată se utilizează: varianta I cu rol preponderent regenerativ, varianta II cu rol preponderent antimicrobian sau varianta a III-a cu rol preponderent antiinflamator.

**Varianta I** are următoarea structură compozițională a preparatului unguent:

1. Complexul activ I	0,5÷1,5%
2. Extract propolis	0,1 ÷0,5%
3. Ulei esențial de cimbru	0,1÷0,15%
4. Ulei de morcov	0,2÷ 0,5%
5. Ulei de germeni de grâu	0,2÷0,5%
6. Lanolina –	ad 100%

**Varianta II** are următoarea structură compozițională a preparatului unguent cu aplicare locală:

1. Complexul activ II	0,5÷1,4%
2. Ulei esențial de cuișoare	0,1÷0,25%
4. Ulei de morcov	0,2÷0,5%
5. Ulei de germeni de grâu	0,2÷0,5%
6. Lanolina	ad 100 %

**Varianta III** are următoarea structură compozițională a preparatului unguent cu aplicare locală:

1. Complexul activ III	0,5÷2,8%
2. Extract Untul pământului	0,1÷0,4%
4. Ulei de morcov	0,2÷0,5%
5. Ulei de germeni de grâu	0,2÷0,5%
6. Lanolina	ad 100 %

### **Bibliografie:**

1. Nadăș, George Cosmin, Cristiana Ștefania NOVAC, Cosmina Maria BOUARI, Ioana Adriana MATEI, and Nicodim Iosif FIȚ. 2021. "Antimicrobial Susceptibility Profile of Bacteria in Mastitis Cow Milk Samples." *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine* 78 (1): 96. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-vm:2021.0005>.
2. Cheng WN, Han SG. Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments—A review. *Asian- Australasian Journal of Animal Sciences*. 2020 Nov;33(11):1699.
3. Abdi RD, Gillespie BE, Ivey S, Pighetti GM, Almeida RA, Kerro Dego O. Antimicrobial Resistance of Major Bacterial Pathogens from Dairy Cows with High Somatic Cell Count and Clinical Mastitis. *Animals*. 2021 Jan;11(1):131.
4. Shahrajabian, Mohamad Hesam, Wenli Sun, and Qi Cheng. 2020. "Chemical Components and Pharmacological Benefits of Basil (*Ocimum Basilicum*): A Review." *International Journal of Food Properties* 23 (1): 1961–70. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1828456>.

5. Purushothaman, Balakrishnan, Ramalingam Prasannasrinivasan, Purushothaman Suganthi, Balu Ranganathan, Jolius Gimbun, and Kumaran Shanmugam. 2018. "A Comprehensive Review on *Ocimum Basilicum*." *Journal of Natural Remedies* 18 (3): 71–85.  
<https://doi.org/10.18311/jnr/2018/21324>.
6. Givol, Or, Rachel Kornhaber, Denis Visentin, Michelle Cleary, Josef Haik, and Moti Harats. 2019. "A Systematic Review of *Calendula Officinalis* Extract for Wound Healing." *Wound Repair and Regeneration* 27 (5): 548–61. <https://doi.org/10.1111/wrr.12737>.
7. Saini, Ishan, Jyoti Chauhan, and Prashant Kaushik. 2020. "Medicinal Value of Domiciliary Ornamental Plants of the Asteraceae Family." *Journal of Young Pharmacists* 12 (1): 03–10. <https://doi.org/10.5530/jyp.2020.12.2>.
8. Homaidan Shmeit, Yamen, Eloy Fernandez, Pavel Novy, Pavel Kloucek, Michal Orosz, and Ladislav Kokoska. 2020. "Autopolyploidy Effect on Morphological Variation and Essential Oil Content in *Thymus Vulgaris* L." *Scientia Horticulturae* 263 (December 2019): 109095.  
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109095>.
9. Aljabeili, H. S., Barakat, H., & Abdel-Rahman, H. A. (2018). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of Thyme essential oil (*Thymus vulgaris*). *Food and Nutrition Sciences*, 9(05), 433.
10. Mocan, Andrei, Mihai Babotă, Anca Pop, Ionel Fizeșan, Alina Diuzheva, Marcello Locatelli, Simone Carradori, et al. 2020. "Chemical Constituents and Biologic Activities of Sage Species: A Comparison between *Salvia Officinalis* L., s. *Glutinosa* L. and s. *Transsylvanica* (Schur Ex Griseb. & Schenk) Schur." *Antioxidants* 9 (6). <https://doi.org/10.3390/antiox9060480>.
11. Nawrot, Joanna, Małgorzata Wilk-jędrusik, Sylwia Nawrot, Krzysztof Nawrot, Barbara Wilk, Renata Dawid-pać, Maria Urbańska, Iwona Micek, Gerard Nowak, and Justyna Gornowicz-porowska. 2020. "Milky Sap of Greater Celandine (*Chelidonium Majus* L.) and Anti-Viral Properties."

- International Journal of Environmental Research and Public Health* 17 (5): 1–8. <https://doi.org/10.3390/ijerph17051540>
12. Shahrajabian, Mohamad Hesam. 2021. “Spear Thistle ( *Cirsium Vulgare* L .) and Ramsons ( *Allium Ursinum* L .), Impressive Health Benefits and High-Nutrient Medicinal Plants” 11 (3): 168–71. <https://doi.org/10.5530/pc.2021.3.32>.
  13. Bekheet, S., & Sota, V. (2019). Biodiversity and medicinal uses of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) plant. *Journal of Biodiversity Conservation and Bioresource Management*, 5(1), 39-54.
  14. Batiha, Gaber El Saber, Luay M. Alkazmi, Lamiaa G. Wasef, Amany Magdy Beshbishy, Eman H. Nadwa, and Eman K. Rashwan. 2020. “*Syzygium Aromaticum* l. (Myrtaceae): Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, Pharmacological and Toxicological Activities.” *Biomolecules* 10 (2). <https://doi.org/10.3390/biom10020202>
  15. Paun, G., Neagu, E., Moroeanu, V., Ungureanu, O., Cretu, R., Ionescu, E., ... & Radu, G. L. (2017). Phytochemical analysis and in vitro biological activity of *Betonica officinalis* and *Salvia officinalis* extracts. *Romanian Biotechnological Letters*, 22(4), 12751-12761.
  16. Riaz, Muhammad, Rizwan Ahmad, Najm Ur Rahman, Zahid Khan, Deqiang Dou, Gabriela Sechel, and Rosana Manea. 2020. “Traditional Uses, Phyto-Chemistry and Pharmacological Activities of *Tagetes Patula* L.” *Journal of Ethnopharmacology* 255 (March 2019): 112718. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112718>.
  17. Boudjada, Amina, Ahmed Touil, Chawki Bensouici, Hamdi Bendif, and Salah Rhouati. 2019. “Phenanthrene and Dihydrophenanthrene Derivatives from *Dioscorea Communis* with Anticholinesterase, and Antioxidant Activities.” *Natural Product Research* 33 (22): 3278–82. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1468328>.



## REVENDICARI

1. Preparate din produse naturale în tratarea mamitelor cu etiologie bacteriană utilizând niște fitoconstituenți ca busuioc (**B**), galbenele (**G**), cimbru (**C1**), salvie (**S**), rostopască (**R**), leurdă (**L**), anghinare (**A**), cuișoare (**C2**), vindecea (**V**), crăițe (**C3**), uleiul pământului (**U**), morcov (**M**), germeni de grâu (**GG**), propolis (**P**), adjuvanți naturali și grăsimi de origine animală **caracterizate prin aceea ca** fitoconstituenții sunt asociați în trei tipuri de complexe:

- complexul I din extracte de busuioc (**B**) și de gălbenele (**G**) având raportul masic de 1:2;

- complexul II din extracte de salvie (**S**), rostopască (**R**), leurdă (**L**) și anghinare (**A**) având raportul masic de 1:1:1:1;

- complexul III din extracte de galbenele (**G**), leurda (**L**), anghinare (**A**), vindecea (**V**) și crăițe (**C3**) având raportul masic de 3:1:1:1:1, complexe I, II, și III fiind combinate cu extracte de propolis (**P**) și untul pământului (**U**), uleiuri esențiale volatile de cimbru (**C1**), de cuișoare (**C2**), ulei de morcov (**M**) și ulei de grâu (**GG**) toate având lanolină ca bază de incorporare astfel ca pe baza efectului sinergic determinat de rapoartele optime de combinare să se asigure o creștere a efectului antimicrobian, a celui antiinflamator și o regenerare la nivel dermic.

2. Preparate din produse naturale în tratarea mamitelor cu etiologie bacteriana conform revendicării 1 **caracterizata prin aceea că** în cazul utilizării complexului I structura compozițională de optimă de combinare în procente masice ale preparatului unguent este:

- Complexul activ I 0,5÷1,5%
- Extract propolis 0,1 ÷0,5%
- Ulei esențial de cimbru 0,1÷0,15%

- Ulei de morcov 0,2÷0,5%
- Ulei de germeni de grâu 0,2÷0,5%
- Lanolina – ad 100%

3. Preparate din produse naturale în tratarea mamitelor cu etiologie bacteriană conform revendicării 1 **caracterizată prin aceea că** în cazul utilizării complexului II structura compozițională de optimă de combinare în procente masice ale preparatului unguent este:

- :Complexul activ II 0,5÷1,4%
- Ulei esențial de cuișoare 0,1÷0,25%
- Ulei de morcov 0,2÷0,5%
- Ulei de germeni de grâu 0,2÷0,5%
- Lanolina ad 100 %

4. Preparate din produse naturale în tratarea mamitelor cu etiologie bacteriană conform revendicării 1 **caracterizată prin aceea că** în cazul utilizării complexului III structura compozițională de optimă de combinare în procente masice ale preparatului unguent este:

- Complexul activ III 0,5÷2,8%
- Extract Untul pământului 0,1÷0,4%
- Ulei de morcov 0,2÷0,5%
- Ulei de germeni de grâu 0,2÷0,5%
- Lanolina ad 100 %