

**BREVET DE INVENȚIE**

(12)

Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată
în termen de 6 luni de la data publicării(21) Nr. cerere: **94-01064**(22) Data de depozit: **21.06.94**

(30) Prioritate:

(41) Data publicării cererii:
BOPI nr.(42) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:
30.07.96 BOPI nr. **7/96**(45) Data eliberării și eliberării și publicării brevetului:
BOPI nr.(61) Perfecționare la brevet:
Nr.(62) Divizată din cererea:
Nr.(86) Cerere internațională PCT:
Nr.(87) Publicare internațională:
Nr.(56) Documente din stadiul tehnicii:
RO 96913, 107800 B1(71) Solicitant: **Institutul de Cercetări Chimice, București, RO**

(73) Titular: (71)

(72) Inventatori: **Stilpeanu Daniela, Petcu Maria, Velea Sanda, Bacneanu George, Vija Marian, Brînzan Carmen, Dinulescu Tiberiu Constantin, Pană Maria, Trandafir Constantin, Preda Lidia, RO**

Mandatar:

(54) Extracte biologice active, din plante și procedeu de obținere a acestora

(57) **Rezumat:** Invenția se referă la extracte biologice active, din semințe de umbelifere, cu acțiune sinergică pentru piretrine naturale, piretroizi de sinteză și insecticide organofosforice, acțiune insecticidă și bactericidă și prezintă densitate: 0,670 ... 0,965; n_D^{20} : 1,3750 ... 1,5350; 5 ... 10% limonen; 10 ... 20% carvonă; 50 ... 60% anetol; sub 1% alți componenți ca α - pinen, linalool etc. Procedeu de obținere a acestora constă în aceea că se realizează o extracție, prin menținerea unei

suspensii de semințe de plante din familia umbelifere, în apă sau solvenți organici, de tipul hidrocarburilor alifatiche, fracții petroliere, alcooli, raportul semințe/solvent fiind de 1/3 până la 1/4, într-o baie generatoare de ultrasunete cu o frecvență cuprinsă între 20 și 40 KHz, timp de 10 ... 60 min, la temperatură ambiantă și presiune atmosferică.

Revendicări: 4

RO 111149 B1



Prezenta invenție se referă la extracte biologic active, din plante, și la un procedeu de obținere a acestora, din semințele unor plante din familia umbelifere (mărar și fenicul), utilizate ca siner-

giști și/sau insecticide. Este cunoscut faptul că extractele din flori de piretru au efect insecticid, acestea fiind de fapt primele insecticide naturale utilizate pe scară largă. Pe de altă parte, s-a observat că extractele de piretru din uleiul de sesam au o activitate biologică mai pronunțată decât cea corespunzătoare conținutului în substanțe active. Astfel, s-au izolat o serie de principii active cu caracter de siner-

giști pentru insecticide. De asemenea, se cunoaște că principiile active obținute din flora spontană sau cultivată, utilizate în multe domenii, de la produse farmaceutice și pesticide până la aditivi pentru industria alimentară, prezintă avantajul unui impact minim din punct de vedere al toxicității, acestea putând fi extrase prin următoarele tehnici: antrenare cu vapori de apă pentru obținerea uleiurilor volatile, macerare simplă, percolare, extracție continuă în extractor tip Soxhlet.

Aceste tehnici prezintă dezavantajele că extracția principiilor biologic active se realizează neselectiv, necesitând timpuri lungi de extracție și temperaturi ridicate care pot distruge unele din principiile biologice existente și necesită tehnici complicate pentru separarea ulterioară a extractelor.

Extractele biologic active, din semințele de umbelifere, conform invenției, înlătură dezavantajele de mai sus, prin aceea că au acțiune sinergică pentru piretrine naturale, piretroizi de sinteză și insecticide organofosforice, acțiune insecticidă și bactericidă și prezintă: densitate 0,670 ... 0,965, n_{D}^{20} 1,3750 ... 1,5359, 5 ... 10% limonen, 10 ... 20% carvonă, 50 ... 60% anetol; sub 1% alți componenți ca α - pinen, linalool.

Extractele biologic active, conform invenției, se pot obține din semințe de mărar, prezentând: densitate 0,670 ... 0,750 și n_{D}^{20} 1,3750 ... 1,3950 sau din semințe de fenicul: densitate 0,960

... 0,965; n_{D}^{20} 1,520 ... 1,535 și 1 ... 5% limonen.

Procedeu de obținere a extractelor biologic active, conform invenției, înlătură dezavantajele tehnicilor cunoscute până în prezent, prin aceea că, extracția se realizează prin menținerea unei suspensii de semințe de plante din familia *Umbeliferae* în apă sau solvenți organici de tipul hidrocarburilor alifaticice, fracții petroliere, alcoolii, raportul semințe/solvent fiind de 1/3 până la 1/4 într-o baie generatoare de ultrasunete cu o frecvență cuprinsă între 20 și 40 KHz timp de 10 ... 60 min, la temperatură ambiantă și presiune atmosferică.

Prin aplicarea invenției, se obțin următoarele avantaje:

- se asigură o selectivitate ridicată a extracției principiilor biologic active, din plante accesibile, aflate în cultura curentă;

- se asigură creșterea vitezei de extracție prin utilizarea ultrasunetelor, timp de extracție între 10 și 60 min față de 10 ... 20 h, în cazul tehnicilor clasice de extracție;

- se asigură temperaturi reduse de extracție care evită descompunerea componentelor;

- se reduce cantitatea de solvent utilizată;

- principiile active obținute au o toxicitate redusă și un impact mult mai mic asupra mediului.

Se dau, în continuare, trei exemple de realizare a invenției.

Exemplul 1. Se suspendă 100 g semințe de mărar în 250 hexan într-un pahar Erlenmayer. Se expun timp de 30 min la ultrasunete pe o baie ultrasonică de tip Quarck cu o frecvență de 25 KHz (200 W). Se filtrează, apoi lichidul se concentrează până la 10 g.

Se analizează prin cromatografie de gaze, cuplată cu spectroscopie de masă, identificându-se mai mulți componenți. Dintre acestea în cantități mai mari se găsesc limonenul și carvonă. Prin HPLC s-a găsit un conținut de 7,98% limonen și 10,64% carvonă.

Produsul se prezintă sub formă de lichid galben - verzui, cu densitate

$d=0,673$ și indice de refracție $n_D^{20} = 1,3790$.

Exemplul 2. Se suspendă 100 g semințe de mărar în 250 g apă într-un pahar Erlenmayer. Se supun la acțiunea ultrasunetelor, ca în exemplul 1, timp de 60 min. Se filtrează, apoi lichidul se concentrează până la 10 g.

Se obține un extract cu următoarele caracteristici: densitatea $d = 0,671$; $n_D^{20} : 1,3840$; conținut limonen: 6,5%; conținut carbonă: 10,5%.

Exemplul 3. Se suspendă 100 g semințe de fenicul în 250 ml alcool etilic și se expun la acțiunea ultrasunetelor

timp de 30 min. Se filtrează, apoi lichidul se concentrează până la 10 g.

Se obține un extract cu următoarele caracteristici: $d = 0,960$; $n_D^{20} = 1,5200$; componente principale: anetol, limonen, linalool.

Teste. Extractul din semințe de mărar a fost testat pentru evidențierea sinergismului prin metoda peliculei toxice cu testul *Tribolium confusum*. Rezultatele amestecurilor extract de mărar + Sumialpha sunt prezentate în tabelul 1. Se observă că toate probele au un pronunțat efect sinergic (CCM > 200).

Tabelul 1

Coeficientul de cotoxicitate (CCM) pentru amestecul Extract de mărar 30 + Sumialpha tehnic 84,5

Produsul	Proportia	Ecuatia dreptei de regresie	DL 50 ng/cm ²	DL 90 ng/cm ²
Extract de mărar 30	-	$y = -0,079 + 2,10 x$	262250	1067190
Sumialpha tehnic 84,5	-	$y = 3,97 + 5,33 x$	1,55	2,7034
Extract de mărar + Sumialpha teh. 84,5	1/9	$y = 4,3143 + 3,3906 x$	1,5931	3,8003
Extract de mărar + Sumialpha th. 84,5	3/7	$y = 4,07 + 2,23 x$	2,5941	9,6871
Extract de mărar + Sumialpha th. 84,5	5/5	$y = 4,10 + 1,50 x$	3,9467	27,9332
Extract de mărar + Sumialpha th. 84,5	7/3	$y = 4,26 + 1,78 x$	2,5768	13,4264
Extract de mărar + Sumialpha th. 84,5	9/1	$y = 4,10 + 1,48 x$	4,0261	29,2374

Au fost efectuate teste privind efectul insecticid al extractului de mărar pentru *Musca domestica* (hârtie de filtru cu diametrul de 10 cm îmbibată cu 2 ml substanță de testat, introdusă sub un

clopot cu $S = 78,5 \text{ cm}^2$).

Mortalitatea insectelor până la 48 h rezultă din media a 3 repetiții pe o singură probă de testat (tabelul 2).

Tabelul 2

Efectul insecticid al extractului de mărar

Substanță de testat	Mortalitatea (5%)		
	1 h	3 h	24 h
Extract de mărar	60	80	100

Revendicări

1. Extracte biologic active din semințe de umbelifere, **caracterizate prin aceea că** au acțiune sinergică pentru piretrine naturale, piretroizi de sinteză și insecticide organofosforice, acțiune insecticidă și bactericidă și prezintă: densitate: 0,670 ... 0,965, n_D^{20} : 1,370 ... 1,5350, 5 ... 10% limonen, 10 ... 20% carvonă, 50 ... 60% anetol; sub 1% alți componenți, ca α -pinen, linalool, etc.

2. Extract biologic activ, conform revendicării 1, din semințe de mărar, **caracterizat prin aceea că** are densitate: 0,670 ... 0,750 și n_D^{20} : 1,3750 ... 1,3950.

3. Extract biologic activ, conform

revendicării 1, din semințe de fenicul, **caracterizat prin aceea că** are densitate: 0,960 ... 0,965; n_D^{20} și 1 ... 5% limonen.

4. Procedeu de obținere a extractelor biologic active de la revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că**, extracția se realizează prin menținerea unei suspensii de semințe de plante din familia *Umbeliferae* în apă sau solvenți organici de tipul hidrocarburilor alifaticice, fracții petroliere, alcoolii, raportul semințe/solvent fiind cuprins între 1/3 și 1/4, într-o baie generatoare de ultrasunete, cu o frecvență cuprinsă între 20 și 40 KHz, timp de 10 ... 60 min, la temperatura ambiantă și presiune atmosferică.

Președintele comisiei de examinare: **farm. Pentelescu Elena**
 Examinator: **biochim. Crețu Adina**