



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

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

(22) Data de depozit: **14.07.2011**

(41) Data publicării cererii:
29.03.2013 BOPI nr. 3/2013

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

(72) Inventatori:
• **ICHIM MARIA, STR. HUȘI NR. 7, BL. PA,
SC. 2, ET. 3, AP. 26, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **ENACHE RAMONA, STR. APUSULUI
NR. 26-28, BL. N 29, SC. 2, ET. 4, AP. 37,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **ICHIM LIVIU-IONEL, STR. HUȘI NR. 7,
BL. P A 1, SC. 2, ET. 3, AP. 26, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **VIȘAN ADRIANA, STR. FELEACU NR. 6,
BL. 10I, SC. 2, ET. 2, AP. 21, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **GRIGORE ALICE ELENA, BD. UVERTURII
NR. 43, BL. 1, AP. 131, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **COLCERU-MIHUL SVETLANA
GABRIELA, STR. RÂMNICU SĂRAT NR. 29,
BL. 11A1, SC. 1, AP. 42, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;**

• **PARASCHIV ILEANA CĂTĂLINA,
CALEA VICTORIEI NR. 155, BL. D1, SC. 3,
ET. 10, AP. 101, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B,
RO;**
• **NIȚĂ SULTANA, STR. BĂRBAT VOIEVOD
NR. 21, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **IUKSEL RASIT, BD. DINICU GOLESCU
NR. 37, BL. 4, SC. B, AP. 40, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **DRĂGHICI ELENA,
STR. ALEEA FIZICIENILOR NR. 8, BL. 3 D,
SC. 2, AP. 73, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,
RO;**
• **IONESCU DANIELA,
STR. ÎMPĂRATUL TRAIAN NR. 3, BL. B12,
SC. 3, ET. 2, AP. 82, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **POPA OVIDIU, CALEA GRIVIȚEI NR. 206,
BL. K, SC. D, ET. 6, AP. 26, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **BABEANU NARCISA, ȘOS. VIRTUȚII
NR. 5, BL. R2, SC. D, ET. 5, AP. 50,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(54) PRODUS FITOTERAPEUTIC CU UTILIZARE ÎN TERAPIA INFECȚIILOR MICROBIENE ȘI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTUIA

(57) Rezumat:

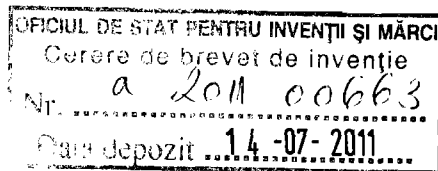
Invenția se referă la un produs fitoterapeutic, cu utilizare în terapia infecțiilor microbiene, și la un procedeu de obținere a acestuia. Produsul conform invenției cuprinde 2 părți ulei volatil din părțile aeriene de *Thymi herba*, 2 părți ulei volatil din frunze de *Salviae folium* și 2 părți ulei volatil de *Millefolii flores*, părțile fiind exprimate în volum, înglobate în 100 părți în greutate extract atomizat, obținut prin prelucrarea soluției extractive apoase din *Thymi herba*, produsul conținând timol, linalol, tuionă, limonen, 4,882% acizi polifenolcarboxilici exprimați în acid rosmarinic, și 2,821% flavone exprimate în rutozid, și se prezintă sub formă de pulbere

fină, de culoare galben-brun, cu gust amar aromat și miros caracteristic. Procedeu conform invenției constă în antrenarea cu vapori de apă, în circuit închis, a uleiului volatil din fiecare dintre plantele respective, la un raport plantă/solvent de 1/10 m/v, la temperatura de fierbere, timp de 2...4 h, concentrarea extractului apos din *Thymi herba* la un volum de 1, 5/1 v/m față de cantitatea de material vegetal, atomizarea soluției concentrate și înglobarea în 100 părți în greutate extract atomizat a câte 2 părți în volum de ulei volatil, urmată de omogenizarea, pulverizarea și cernerea produsului.

Revendicări: 2

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 invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art. 23 alin. (1) - (3).





PRODUS FITOTERAPEUTIC CU UTILIZARE IN TERAPIA INFECTIILOR MICROBIENE SI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTUIA

Autori: Ichim Maria, Enache Ramona, Ichim Liviu-Ionel, Visan Adriana, Grigore Alice,
Colceru-Mihul Svetlana, Paraschiv Ileana, Nita Sultana,
Rasit luksel, Draghici Elena, Ionescu Daniela, Popa Ovidiu, Babeanu Narcisa.

Inventia se refera la un produs fitoterapeutic cu utilizare in terapia infectiilor microbiene si la procedeul de obtinere a acestuia.

Este cunoscut ca partile aeriene ale speciei *Thymus vulgaris* L. (Thymi herba) au actiune antiinfectioasa, respectiv actiune antiseptica si antifungica prin constituentii fenolici ai uleiului volatil si a taninului. Uleiul volatil care contine in principal timol si carvacrol, geraniol, linalol, p-cimen precum si alte hidrocarburi monoterpene, alcooli monoterpene si esterii demonstreaza activitate antimicrobiana fata de un spectru larg de bacterii, actiune antifungica datorata in special timolului, antivirala, paraziticida, antispastica, anestezic locala, etc.

Este cunoscut ca uleiul din frunzele speciei *Salvia officinalis* L. (Salviae folium) continand hidrocarburi mono- si sesquiterpenice, alcooli diterpenici, fenoli, oxizi, aldehide si cetone, esterii derivati ai acidului abietic, cumarine, eteri, trans lactone demonstreaza actiune mucolitica, lipolitica, reglatoare a circulatiei sanguine, colagog-coleretica, antibacteriana fata de *Staphylococcus aureus* si streptococul β -hemolitic grupa A si moderata fata de *Klebsiella* sp., *Pseudomonas* sp., *Escherichia coli*, activitate antifungica fata de *Candida albicans*, antivirala, cicatrizanta (V. Istudor – Farmacognozie, fitochimie, fitoterapie, vol. 2, Ed. Medicala, Bucuresti, 2001).

Este cunoscut ca uleiul volatil din somitatile florale provenite de la specia *Achillea millefolium* L. (Millefolii flores) continand hidrocarburi mono- si sesquiterpenice si oxizi terpenici demonstreaza activitate stomahica, astringenta, antiinflamatoare, calmanta, usor antiseptica si tonic amara (D.Gr.Constantinescu, E. Hatieganu, F. Busuricu – Plante



medicinale utilizate in terapeutica – Ed. Medicala, Bucuresti, 2004).

Este cunoscut un produs fitoterapeutic antimicrobian care contine 4,927...6,022% substanta uscata, 0,051...0,062% flavone exprimate in rutozid si 12,746...15,579% alcool sub forma de solutie orala, de culoare bruna, cu densitatea d_{20}^{20} 0,950...1,009 si pH 5,35...5,55 si procedeul de obtinere a acestuia care consta in aceea ca se extrag principiile active din materialul vegetal uscat si macinat din *Mori radix*, cu solvent hidroalcoolic 70% v/v, raport material vegetal/ solvent 1/15 m/v, la temperatura de fierbere a amestecului, cu refluxarea solventului, timp de 2h, cu agitare, dupa care solutia extractiva se concentreaza la un raport material vegetal/ solutie concentrata 1/2 m/v, apoi se lasa in repaos timp de 48h, la temperatura de 6...8°C, substantele insolubile se indeparteaza prin filtrare si volumul se completeaza cu alcool etilic de 20% v/v, la un raport material vegetal/ produs fitoterapeutic 1/2m/v (RO 122182).

Este cunoscut un produs fitoterapeutic utilizat in tratamentul afectiunilor cutaneo-mucoase sub forma de emulsie de culoare bruna obtinut prin prelucrarea solutiilor extractive din speciile *Melissa officinalis*, *Origanum vulgare*, *Lychnis coronaria*, 1 parte ulei volatil din specia *Thymus vulgaris*, 4 parti emulgatori si 45 parti apa deionizata, partile fiind exprimate in greutate, cu un continut de 0,05...0,10% flavone exprimate in rutozid si 0,55...0,95% ortodihidroxifenoli exprimate in acid cafeic, si la un procedeu de preparare a produsului fitoterapeutic, ce consta in aceea ca se omogenizeaza 50 parti produs bioactiv, rezultat prin extractia succesiva a principiilor active din 30 parti de *Melissae herba*, 35 parti de *Origanum herba* si 35 parti de *Lychnis herba*, cu alcool etilic 30%, raport 1/5-1/20 material vegetal/ml solvent, la temperatura de reflux, timp de 30...120 min, cu agitare, se indeparteaza deseul de planta prin filtrare si se omogenizeaza solutiile extractive obtinute, se concentreaza solutia pana la un continut de 0,25...0,50% flavone exprimate in rutozid si 1,50...2,80% ortodihidroxifenoli exprimate in acid cafeic, se purifica solutia extractiva prin adaugare de alcool etilic pana la o concentratie de 30%, se indeparteaza substantele insolubile prin filtrare la presiune redusa si se completeaza volumul la 1/2g planta/ml produs bioactiv, 1 parte ulei volatil din *Thymi herba*, 4 parti emulgatori si 45 parti apa deionizata, partile fiind exprimate in greutate (RO 122125).

Problema pe care o rezolva inventia consta in realizarea unui produs fitoterapeutic cu utilizare in terapia infectiilor microbiene prin asocierea uleiului volatil din partile aeriene ale speciei *Thymus vulgaris*, uleiul volatil din frunzele speciei *Salvia officinalis* si uleiul volatil



din florile speciei *Achillea millefolium*, inglobate in extract atomizat din partile aeriene ale speciei *Thymus vulgaris*, astfel incat componentele din cele trei specii sa se potenteze reciproc.

Produsul fitoterapeutic conform inventiei este constituit din 2 parti in volum ulei volatil obtinut din Thymi herba, 2 parti in volum ulei volatil din Salviae folium si 2 parti in volum ulei volatil din Millefolii flores inglobate in 100 parti in greutate extract atomizat obtinut prin prelucrarea solutiei extractive apoase din Thymi herba si se prezinta sub forma de pulbere omogena continand timol, linalol, cineol, tuiona, limonen, 4,882% acizi polifenolcarboxilici exprimati in acid rosmarinic si 2,821% flavone exprimate in rutozid.

Procedeul de obtinere a produsului fitoterapeutic conform inventiei consta din extractia uleiurilor volatile din Thymi herba, Salviae folium si Millefolii flores prin antrenare cu vapori de apa in circuit inchis, raport planta/ solvent = 1/10m/v la temperatura de fierbere a amestecului timp de 2-5 ore, colectarea uleiului volatil, indepartarea deseului de planta prin filtrare si presare, prelucrarea solutiei extractive apoase din Thymi herba prin concentrare la un volum de 1,5/ 1 v/m fata de cantitatea de material vegetal, centrifugare pentru indepartarea substantelor insolubile, atomizarea solutiei concentrate si inglobarea a cate 2 parti in greutate ulei volatil din fiecare specie in extract atomizat.

Inventia prezinta urmatoarele avantaje:

-Se diversifica gama de produse cu utilizare in terapia infectiilor microbiene cu un produs natural, de origine vegetala, care poate fi administrat si in cazul bacteriilor rezistente la tratamentul clasic;

-Produsul are o toxicitate redusa;

-Se utilizeaza o materie prima vegetala accesibila, plantele fiind obtinute din cultura;

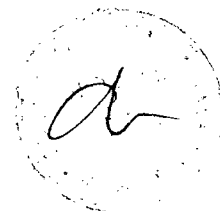
-Tehnologia are un numar redus de faze;

-Tehnologia este nepoluanta, nu rezulta deseuri toxice sau ape reziduale.

Exemplu de realizare a inventiei

Se da in continuare un exemplu de realizare a inventiei:

Materialul vegetal utilizat consta in partile aeriene ale speciei *Thymus vulgaris* (Thymi herba), uscate si macinate sita III, frunzele speciei *Salvia officinalis* (Salviae folium), uscate si



macinate sita III si somitatile florale ale speciei *Achillea millefolium* (Millefolii flores), uscate si macinate sita III.

Fazele tehnologice parcurse pentru obtinerea a 1kg produs fitoterapeutic sunt urmatoarele:

Obtinerea uleiului volatil din Thymi herba

Intr-un vas de inox de capacitate 250l prevazut cu manta de incalzire, refrigerent de sticla, sistem de colectare a uleiului volatil in circuit inchis din sticla, sistem de agitare si stut de evacuare, se introduc 12kg material vegetal constand din partile aeriene ale speciei *Thymus vulgaris* si 120 l apa distilata (raport planta/solvent=1/10 m/v) si se incalzeste amestecul la fierbere timp de 2 ore cu agitare continua. Dupa racirea vaporilor de apa, la trecerea prin refrigerent se obtine uleiul volatil in sistemul de colectare iar apa se recircula. Rezulta 48ml ulei volatil de culoare galbena cu miros caracteristic, gust iute-arzator, insolubil in apa/ solubil in alcool etilic.

La analiza gaz-cromatografica se observa ca uleiul volatil contine in special timol, p-cimen, linalol, carvacrol.

Obtinerea uleiului volatil din Salviae folium

Intr-un vas de inox de capacitate 250 l prevazut cu manta de incalzire, refrigerent de sticla, sistem de colectare a uleiului volatil in circuit inchis din sticla, sistem de agitare si stut de evacuare, se introduc 2,5kg material vegetal constand din frunzele speciei *Salvia officinalis* si 25 l apa distilata (raport planta/solvent=1/10 m/v) si se incalzeste amestecul la fierbere timp de 5 ore cu agitare continua. Dupa racirea vaporilor de apa la trecerea prin refrigerent se obtine uleiul volatil in sistemul de colectare iar apa se recircula. Rezulta 21ml ulei volatil de culoare slab galbuie cu miros caracteristic, gust arzator, insolubil in apa/ solubil in alcool concentrat.

La analiza gaz-cromatografica se observa ca uleiul volatil contine in special tuiona, camfor, cineol.

Obtinerea uleiului volatil din Millefolii flores

Intr-un vas de inox de capacitate 250 l prevazut cu manta de incalzire, refrigerent de sticla, sistem de colectare a uleiului volatil in circuit inchis din sticla, sistem de agitare si stut de evacuare, se introduc 10kg material vegetal constand din inflorescentele speciei *Achillea millefolium* si 100 l apa distilata (raport planta/solvent=1/10 m/v) si se incalzeste amestecul la



fierbere timp de 5 ore cu agitare continua. Dupa racirea vaporilor de apa la trecerea prin refrigerent se obtine uleiul volatil in sistemul de colectare iar apa se recircula. Rezulta 21ml ulei volatil de culoare albastra cu miros aromat specific, gust amar, insolubil in apa/ solubil in alcool concentrat.

La analiza gaz-cromatografica se observa ca uleiul volatil contine in special azulene, cineol, tuina, borneol.

Obtinerea extractului atomizat din Thymi herba

Solutia extractiva apoasa obtinuta dupa antrenarea uleiului volatil in circuit inchis din 12kg material vegetal, dupa indepartarea deseului de planta prin filtrare si presare (82 l) se concentreaza la 18 l (raport planta/ extract concentrat = 1/ 1,5 m/v) si solutia concentrata se lasa in repaos la temperatura de 4-6°C timp de 24 ore dupa care se centrifugheaza. Solutia concentrata limpede se introduce cu ajutorul unei pompe peristaltice in echicurent cu aer uscat prin racire cu ajutorul unui dezumidicator intr-un atomizor cu incalzire electrica. Se programeaza temperatura de intrare 130°C si temperatura de iesire la aproximativ 60°C. Produsul atomizat se colecteaza in vas cu ajutorul unui ciclon sub forma de pulbere fina. Se obtin 1040g extract atomizat de culoare bruna cu miros caracteristic si gust amar aromat. Extractul atomizat contine 7,16% acizi polifenolcarboxilici exprimati in acid rosmarinic si 3,257% flavone exprimate in rutozid.

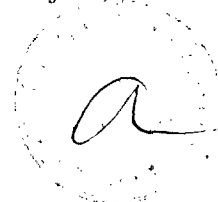
Obtinerea produsului fitoterapeutic

Intr-un vas de portelan de capacitate 5 l se omogenizeaza 1040g extract atomizat din Thymi herba cu 20,8ml ulei volatil din Thymi herba, 20,8ml ulei volatil din *Salviae folium* si 20,8ml ulei volatil din *Millefolii flores*. Dupa omogenizare produsul este pulverizat si cernut sita VIII. Se obtine 1,010 kg produs sub forma de pulbere fina de culoare bruna care este conditionat sub forma de capsule de 250mg. Se obtin 4000 capsule de uz oral.

Produsul contine timol, linalol, cineol, tuiona, limonen identificati gaz-cromatografic si 4,882% acizi polifenolcarboxilici exprimati in acid rosmarinic si 2,831% flavone exprimate in rutozid.

Componentii uleiului volatil demonstreaza activitate antimicrobiana. Astfel:

-timolul manifesta activitate asupra bacteriilor Gram-pozitive si Gram-negative ca *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae* si *Streptococcus pyogenes* dar si asupra drojdiilor

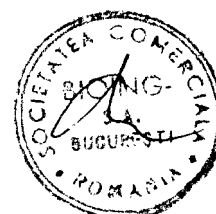


de tipul *Candida* (interfera cu formarea si viabilitatea hifelor inducand alterari morfologice ale membranei). De asemenea, inhiba cresterea miceliilor de *Aspergillus flavus* si *A. niger* si producerea de micotoxine in cazul *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. ochraceus* si *Fusarium moniliforme*.

-cineolul este frecvent activ pe *Staphylococcus aureus*.

La testarea activitatii antimicrobiene s-a demonstrat ca produsul manifesta activitate fata de tulpini bacteriene-test Gram-negative (*Escherichia coli* ATCC 8739 si *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027), Gram-pozitive (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923), levuri (*Candida albicans* ATCC10231) si fungi (*Aspergillus niger* ATCC 16404) la concentratii cuprinse intre 1-5mg/ml (0,1-0,5%). Tulpinile testate detin un potential patogen ridicat. Astfel, bacteria *E.coli* poate produce infectii digestive sau ale tractului urinar; infectiile cu *Pseudomonas aeruginosa* sunt o cauza frecventa de morbiditate si mortalitate a pacientilor spitalizati iar tratamentul a devenit complicat datorita rezistentei (intrinseci si dobandite) a acestei bacterii si de aceea foarte multe aspecte ale tratamentului raman controversate; *Staphylococcus aureus* poate produce infectii supurative sau chiar septicemii la om si animale, patogenitatea fiind exercitata atat de structura sa cat si de enzimele produse; *Candida albicans* poate determina atat infectii ale mucoaselor cat si sistemice, in special la persoanele imunocompromise la care evolutia devine severa; *Aspergillus niger* produce in special otomicoze sau infectii pulmonare.

La testarea toxicitatii produsului in experiment acut prin administrarea orala de 500-7500 mg/kgc la soarece nu sunt induse fenomene toxice sau letalitate. Doza 7500 mg/kgc la soarece este corespunzatoare dozei 5000 mg/kgc la sobolan – doza minima de incadrare in categoria substantelor practic netoxice.



PRODUS FITOTERAPEUTIC CU UTILIZARE IN TERAPIA INFECTIILOR MICROBIENE SI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTUIA

Autori: Ichim Maria, Enache Ramona, Ichim Liviu-Ionel, Visan Adriana, Grigore Alice,
Colceru-Mihul Svetlana, Paraschiv Ileana, Nita Sultana,
Rasit Iuksel, Draghici Elena, Ionescu Daniela, Popa Ovidiu, Babeanu Narcisa.

REVENDICARI

1. Produs fitoterapeutic cu utilizare in terapia infectiilor microbiene **caracterizat prin aceea ca** se prezinta sub forma de pulbere fina de culoare galben-brun, cu gust amar aromat, miros caracteristic si contine timol, linalol, tuiona, limonen identificate gaz-cromatografic, 3,906-5,858% acizi polifenolcarboxilici exprimati in acid rosmarinic si 2,265-3,397% flavone exprimate in rutozid.
2. Procedeu de obtinere a produsului fitoterapeutic definit in revendicarea 1 **caracterizat prin aceea ca** se antreneaza uleiul volatil din Thymi herba, Salviae folium si Millefolii flores cu vapori de apa in circuit inchis, raport planta/solvent=1/10 m/v la temperatura de fierbere timp de 2-5 ore cu agitare, se prelucreaza extractul apos din Thymi herba ramas dupa antrenarea uleiului volatil prin concentrare, repaos la 4-6°C timp de 24 ore si atomizare urmata de inglobarea in 100 parti in greutate extract atomizat a cate 2 parti in volum ulei volatil din fiecare specie, omogenizarea, pulverizarea si cernerea produsului.

