



MD 4904 B1 2024.10.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4904** (13) **B1**
(51) Int.Cl: *A61K 36/23* (2006.01)
C11B 3/08 (2006.01)
A61K 131/00 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2023 0004 (22) Data depozit: 2023.04.11	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2024.10.31, BOPI nr. 10/2024
(71) Solicitant: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: CIOCÂRLAN Alexandru, MD; POPESCU Violeta, MD; LUPAȘCU Lucian, MD; DRAGALIN Ion, MD; LUNGU Lidia, MD; BLAJA Svetlana, MD; ARÎCU Aculina, MD (73) Titular: INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

(54) Formă oxidată a uleiului volatil de coriandru cu proprietăți antifungice și antibacteriene

(57) Rezumat:

Invenția se referă la uleiuri volatile modificate chimic, și anume la o formă oxidată a uleiului volatil de coriandru, care poate fi utilizată în calitate de remediu cu proprietăți antifungice și antibacteriene.

Forma oxidată a uleiului de coriandru este obținută la fotooxidarea sensibilizată cu oxigen, la temperatura camerei în clorură de metilen, a uleiului volatil nativ, obținut din plante verzi cu fructe imature.

Forma oxidată a uleiului de coriandru manifestă proprietăți antifungice și antibacteriene pronunțate la valori ale concentrației minime inhibitorii respectiv de 8 $\mu\text{g/mL}$ și 35 $\mu\text{g/mL}$.

Revendicări: 2

MD 4904 B1 2024.10.31

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

5 Invenția se referă la uleiuri volatile modificate chimic, și anume la o formă oxidată a uleiului de coriandru, care poate fi utilizată în calitate de remediu cu proprietăți antifungice și antibacteriene.

Bolile infecțioase cauzate de fungi și bacterii au cunoscut o răspândire largă în ultimii ani, devenind una dintre preocupările de maximă importanță în majoritatea țărilor din lumea întreagă. Majoritatea preparatelor antimicrobiene existente nu asigură vindecarea stabilă și completă a afecțiunilor. Tratamentele existente, ca regulă, nu conduc la dispariția definitivă a infecției, ci doar ameliorează temporar

10 starea generală a pacienților, aceasta recidivând frecvent cu manifestări clinice mai pronunțate.

Dintre preparatele frecvent utilizate în practica medicală este bine cunoscută nistatina, caspofungina, kanamicina ș.a.

Preparatele menționate însă au și un șir de dezavantaje, ce constau în:

- 15 - eficiența redusă a preparatului;
- provoacă reacții alergice și iritații în locul aplicării;
- tulburări renale și ale căilor urinare;
- intoleranță gastro-intestinală etc.

Prin urmare, există o necesitate stringentă de noi structuri moleculare cu proprietăți antimicrobiene, care ar putea servi pentru obținerea unor preparate medicinale noi și eficiente în tratamentul

20 infecțiilor provocate de fungi și bacterii. Produsele naturale reprezintă o sursă importantă de compuși noi biologic activi. Originea naturală a acestora presupune biocompatibilitate, activitate biologică selectivă și toxicitate redusă.

Uleiurile volatile sunt tocmai astfel de remedii naturale, cu o aplicare largă în medicină, farmaceutică, cosmetică și industria alimentară. Un loc aparte le revine uleiurilor volatile chimic modificate

25 care manifestă bioactivitate superioară față de medicamentele cunoscute.

Este cunoscut faptul că uleiul volatil de coriandru prezintă o gamă largă de activități biologice precum cea antibacteriană, antifungică, antioxidantă, insecticidă și, în plus, include și unele activități farmacologice, cum ar fi cea antiinflamatoare sau anxiolitică [1]. Uleiul este utilizat pe scară largă în medicina populară ca agent carminativ, spasmolitic, digestiv și antimicrobian, fără a prezenta semne de

30 toxicitate [2]. Activitatea antimicrobiană a uleiului de coriandru se manifestă atât împotriva bacteriilor Gram-pozitive (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus* sp.), cât și a bacteriilor Gram-negative (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pneumonia klebsiella*, *Proteus mirabilis*). Recent s-a confirmat că uleiul volatil provenit din planta verde cu semințe imature este activ și împotriva tulpinilor *Candida* [3].

În calitate de cea mai apropiată soluție este cunoscut uleiul volatil nativ de coriandru cu proprietăți biologice [4]. Conform analizei GC-MS în uleiul volatil de coriandru au fost detectate treizeci și două de componente, ceea ce reprezintă 99,32% din compoziția sa totală. Frația terpenică (26,42%) include hidrocarburi monoterpenice (3,07%) și derivați oxigenați ai acestora (23,35%). Cea mai abundentă și variată este fracția compușilor alifatici (71,91%). Ea se compune din alcani (0,57%), alcoolii saturați (4,96%), alcoolii nesaturați (15,86%) și ambele grupuri de aldehide saturate (8,43%) și nesaturate (42,09%).

40 De asemenea, uleiul volatil de *Coriandrum sativum* conține o cantitate mică de compuși heterociclici (~1%).

Anterior au fost efectuate teste microbiologice ale probelor de ulei volatil de coriandru de origine moldovenească pentru evaluarea activității antibacteriene a acestuia pe tulpinile de bacterii non-patogene Gram-pozitive și Gram-negative de *Bacillus subtilis* CNMN BB-01 și *Pseudomonas fluorescens* CNMN-PFB-01, și respectiv, pe tulpinile de bacterii fitopatogene *Xanthomonas campestris*, *Erwinia amylovora* și *Erwinia carotovora*, și fungi filamentoși *Drechslera sorokiniana*, *Fusarium oxysporum* și *Fusarium sporotrichiella* var. *tricinctum*. Pentru testarea activității antimicrobiene a fost utilizată metoda diluțiilor succesive duble și a înregistrării diametrelor coloniilor în evoluția creșterii și dezvoltării fungilor [4].

Conform autorilor, uleiul volatil de coriandru a prezentat activitate bactericidă în concentrație de 50 0,0035% pentru speciile *P. fluorescens*, *X. campestris* și 0,007% pentru *B. subtilis*, *E. amylovora*, *E. carotovora*, deci la concentrații scăzute, ceea ce confirmă activitatea antibacteriană înaltă a acestuia și oferă oportunități mari de a crea preparate eficiente împotriva bacteriozei produse de *X. campestris*, *E. amylovora*, *E. carotovora*. Acțiunea antibacteriană, probabil, se datorează prezenței în extract a linaloolului, *n*-decanalului, (*E*)-dec-2-en-1-olului și a altor componente care își manifestă activitatea prin mecanisme probabile care includ: deteriorări structurale ale membranei citoplasmatică, dezmembrarea proteinelor membranice și perturbarea procesului de transport ionic [4]. Uleiul volatil nativ de coriandru, obținut din plante verzi cu fructe imature, manifestă o activitate antifungică și antibacteriană ridicată în raport cu preparatele medicamentoase existente.

Reieșind din proprietățile biologice și componența sa chimică, uleiul nativ de coriandru, obținut din plante verzi cu fructe imature, poate fi selectat în calitate de analog proxim.

Dezavantajul analogului proxim, constă în activitatea antifungică și antibacteriană redusă.

5 Problema pe care o rezolvă invenția constă în lărgirea gamei de remedii de origine naturală cu activitate antifungică și antibacteriană înaltă, reieșind din materie primă de bază autohtonă, renovabilă și ușor accesibilă, reprezentând uleiurile volatile native.

Problema se rezolvă printr-o formă nouă de ulei volatil de coriandru oxidat, care poate fi utilizată pentru tratarea unor afecțiuni de natură fungică și bacteriană.

10 Uleiul volatil nativ de coriandru, obținut din plante verzi cu fructe imature, a fost modificat chimic prin intermediul reacției de fotooxidare sensibilizată. Proba de ulei oxidată a fost analizată prin metode cromatografice și spectrale (cromatografie de gaze, spectrometrie de masă, spectroscopie în infraroșu), care au confirmat modificările calitative și cantitative ale acesteia.

15 Forma oxidată de ulei de coriandru a fost obținută la fotooxidarea sensibilizată prin barbotarea oxigenului și iradierea cu becuri fluorescente în prezența unei cantități catalitice de *mezo*-tetrafenilporfirină a unei soluții de ulei de coriandru nativ, obținut din plante verzi cu fructe imature, în clorură de metilen, la temperatura camerei timp de 6...8 ore și eliminarea solventului prin distilare, totodată produsul obținut se caracterizează prin prezenta în spectrul IR a unei benzi intense în jurul 3360 cm^{-1} , iar în gaz-cromatogramă prin absența hidrocarburilor monoterpene cu masa moleculară 136.

20 Uleiul de coriandru chimic modificat prin fotooxidare poate fi utilizat în calitate de remediu cu proprietăți antifungice și antibacteriene pronunțate, fapt confirmat de testările biologice a acestuia *in vitro* pe speciile de microorganisme *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aurantiaca* și *Candida utilis*.

Avantajele formei revendicate constau în:

25 1. Activitate antimicrobiană mai ridicată a uleiului volatil de coriandru oxidat în raport cu analogul proxim sau cu preparatele comerciale existente.

2. Accesibilitatea formei revendicate sub aspect eficiență/preț.

3. Accesibilitatea materiei prime și originea ei locală.

4. Procedul de obținere a uleiului de coriandru oxidat prin fotooxidare sensibilizată este accesibil, ieftin și ecologic.

30 Este necesar de menționat că uleiul volatil de coriandru oxidat revendicat, dar și rezultatele testărilor biologice ale acestui compus nu au fost descrise anterior în literatura de specialitate.

În calitate de materie primă pentru obținerea formei revendicate a fost utilizat uleiul volatil nativ de coriandru, care a fost obținut industrial prin antrenare cu vapori de apă din plantele verzi cu fructe imature.

35 Exemplu de realizare a invenției

Obținerea formei oxidate a uleiului de coriandru. La soluția formată din ulei de coriandru nativ, obținut din plante verzi cu fructe imature, în diclorometan anhidru (1,0 g/100 mL) s-a adăugat o cantitate catalitică de *mezo*-tetrafenilporfirină (10 mg), soluția la agitare, a fost iradiată timp de 7 ore la temperatura camerei cu trei becuri de 60 W, care emană relativ puțină radiație termică, de exemplu de tip LED sau CFL, totodată prin sistem s-a barbotat oxigen pe toată durata reacției, la o rată de 1 mL/min. Solventul a fost distilat la presiune redusă, obținându-se forma oxidată a uleiului de coriandru (1,30 g), ce prezintă un produs uleios galben, care a fost folosit în continuare pentru analize spectrale, cromatografice și testări biologice.

Spectroscopie în IR (ν , cm^{-1}): 3364, 3089, 2955, 2926, 2856, 2734, 1686, 1638, 1457, 1413, 1377, 1144, 1104, 995, 975, 920, 723 cm^{-1} .

45 Rezultatele analizei gaz-cromatografice (GC)

În rezultatul analizei gaz-cromatografice a formei oxidate a uleiului de coriandru au fost identificate 7 semnale cu timpii de retenție și conținutul procentual indicate în Tabelul 1.

Tabelul 1

Compoziția chimică a formei oxidate a uleiului volatil de coriandru							
No.	TR* (min)	Component, Masa moleculară	%	No.	TR (min)	Component	%
1	9,33	[152]	2,47	5	15,02	[168]	1,97
2	10,87	[156]	8,24	6	17,56	[182]	13,21
3	12,37	[154]	51,80	7	22,336	[210]	6,51
4	12,54	[156]					

50 *TR – timpii de retenție.

De menționat că, spre deosebire de forma nativă a uleiului volatil de coriandru, obținut din plante verzi cu fructe imature, în care au fost identificați 32 de constituenți, picurile 1-4 din cromatograma formei oxidate au timpii de retenție mai mari, ceea ce confirmă ca aceștia sunt compuși de oxidare care sunt mai

<i>Bacillus subtilis</i> CNMN BB-01 (4.8 x 10 ⁸ CFU/mL)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Pseudomonas fluorescens</i> CNMN-PFB-01 (4.8 x 10 ⁸ CFU/mL)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Pseudomonas aurantiaca</i> CNMN PsB-08 (4.8 x 10 ⁸ CFU/mL)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Candida utilis</i> (3.0 x 10 ⁷ CFU /mL)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

- Lipsa creșterii microorganismului
+ Prezența creșterii microorganismului

Concluzie: Uleiul nativ de coriandru, obținut din plante verzi cu fructe imature, manifestă proprietăți antibacteriene și antifungice în concentrațiile de 0,007 și 0,0035%, respectiv.

5

Tabelul 3

Rezultatele testării activității antimicrobiene a uleiului de coriandru oxidat

Microorganismele testate	Diluții succesive duble (%)									
	0,25	0,12	0,06	0,03	0,015	0,007	0,0035	0,0017	0,0008	
Proba nr.2 UV 17-1 Coriandru oxidat - 0,5 %										
<i>Bacillus subtilis</i> CNMN BB-01 (4.8 x 10 ⁸ CFU/mL)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>Pseudomonas fluorescens</i> CNMN-PFB-01 (4.8 x 10 ⁸ CFU/mL)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>Pseudomonas aurantiaca</i> CNMN PsB-08 (4.8 x 10 ⁸ CFU/mL)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>Candida utilis</i> (3.0 x 10 ⁷ CFU /mL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- Lipsa creșterii microorganismului
+ Prezența creșterii microorganismului

10 Concluzie: Uleiul de coriandru oxidat manifestă proprietăți antimicrobiene (antibacteriene și antifungice) amplificate în concentrațiile de 0,0035 și 0,0008%, respectiv.

Rezultatele testării activității antimicrobiene exprimate în valori CMB (concentrație minimă bactericidă) și CMF (concentrație minimă fungicidă) (μg/mL) sunt prezentate în Tabelul 4.

Tabelul 4

15 Datele comparative ale proprietăților antimicrobiene pentru uleiul nativ de coriandru, forma lui oxidată și a solventului utilizat

Preparate	CMB și CMF (μg/mL)			
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Pseudomonas aurantiaca</i>	<i>Candida utilis</i>
Ulei (nativ)	70	70	70	35
Ulei (forma oxidată)	35	35	35	8
Etanol	1200	1200	1200	1200

Deoarece etanolul utilizat în calitate de solvent pentru uleiurile cercetate prezintă atât proprietăți antibacteriene cât și antifungice în forma lui pură, a fost necesară și testarea antimicrobiană a lui pentru a confirma că proprietățile antimicrobiene ale uleiurilor studiate cu certitudine nu interferează cu nivelul de inhibiție al alcoolului etilic.

- 5 În conformitate cu datele obținute, forma oxidată a uleiului volatil de coriandru a manifestat o activitate antimicrobiană înaltă la valori CMB și CMF de 8...35 μg/mL, în comparație cu forma nativă la valori de 35...70 μg/mL.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Shahwar M. K., El-Ghorab A. H., Anjum F. M., Butt M. S., Hussain S. Nadeem M., Characterization of coriander (*Coriandrum sativum* L.) seeds and leaves: volatile and non volatile extracts. International Journal of Food Properties, 2012, 15, p. 736-747, regăsit în Internet la 2024.05.23, URL: <<https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/10942912.2010.500068>>
2. Mandal S., Mandal M. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: Chemistry and biological activity. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2015, 5(6), p. 421-428, regăsit în Internet la 2024.05.23, URL: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169115000647>>
3. Bogavac M., Karaman M., Janjušević Lj., Sudji J., Radovanović B., Novaković Z., Simeunović J., Božin B. Alternative treatment of vaginal infections - in vitro antimicrobial and toxic effects of *Coriandrum sativum* L. and *Thymus vulgaris* L. essential oils. Journal of Applied Microbiology, 2015, 19(3), p. 697-710, regăsit în Internet la 2024.05.23, URL: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26109513/>>
4. Lupașcu G., Ciocarlan A., Dragalin I., Lupașcu L. Antimicrobial activity of the Coriander oil (*Coriandrum sativum* L.). Romanian Journal of Biology, 2019, 64, nr. 1-2, p. 31-42, regăsit în Internet la 2024.05.23, URL: <<https://www.ibiol.ro/plant/Volume%2064/Articolul%204.pdf>>

(57) Revendicări:

1. Formă oxidată a uleiului volatil de coriandru, obținută la fotooxidarea sensibilizată prin barbotarea oxigenului și iradierea cu becuri fluorescente în prezența unei cantități catalitice de *mezo*-tetrafenilporfirină a unei soluții de ulei de coriandru nativ, obținut din plante verzi cu fructe imature, în clorură de metilen, la temperatura camerei timp de 6...8 ore și eliminarea solventului prin distilare, totodată produsul obținut se caracterizează prin prezența în spectrul IR a unei benzi intense în jurul 3360 cm⁻¹, iar în gaz-cromatogramă prin absența hidrocarburilor monoterpene cu masa moleculară 136.

2. Formă, conform revendicării 1, care manifestă proprietăți antifungice și antibacteriene.