



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA LOTTA ALLA CONTRAFFAZIONE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

DOMANDA DI INVENZIONE NUMERO	102009901780710
Data Deposito	05/11/2009
Data Pubblicazione	05/05/2011

Classifiche IPC

Titolo

COMPOSIZIONE COMPRENDENTE RESVERATROLO E ALMENO UN POLIFENOLO DEL VINO
ROSSO E SUOI USI.

DESCRIZIONE del Brevetto per Invenzione Industriale
di **FUNCTIONAL POINT S.r.l.** di nazionalità italiana,
con sede a Bergamo, Via Pietro Paleocapa 19
e **GORI Zina** di nazionalità italiana, residente a
Lari (PI), Via Boccamariana 23

Inventori designati: **BERGAMINI Ettore**, **CAVALLINI
Gabriella**, **STRANIERO Sara**

Depositata il: **05 / 11 / 2009** N° Dom.

----- o -----

Forma oggetto del presente trovato una composizione
comprendente resveratrolo ed almeno un polifenolo
del vino rosso.

E' comunemente noto che le cellule e i tessuti
umani sono continuamente esposti agli effetti
dannosi di sostanze reattive quali i radicali
liberi, che possono essere endogeni (prodotti del
metabolismo cellulare) o derivati dal mondo esterno
(elevate concentrazioni di ossigeno, generatori di
radicali presenti nell'ambiente tra cui fumo, luce
solare e simili) e che risultano essere
responsabili di condizioni patologiche acute o
croniche, come, in particolare, l'invecchiamento,
rispettivamente: intrinseco (causato dai radicali
liberi generati dal normale metabolismo ossidativo
cellulare) ed estrinseco (prodotto da radicali
liberi generati da fattori ambientali esterni
all'organismo).

Il processo di invecchiamento è infatti un fenomeno
naturale, causato dall'accumulo, nelle cellule
vecchie, di molecole e organuli alterati, accumulo
che risulta nella conseguente riduzione del
metabolismo e delle funzioni di tutte le cellule e
di tutti i tessuti.



Tale riduzione è determinata dalla velocità del detto accumulo, la quale varia da persona a persona in relazione alle rispettive difese cellulari, e aumenta con l'età in tutti gli individui in quanto la generazione di radicali liberi aumenta con il numero di mitocondri e perossisomi alterati che, a loro volta, aumentano con l'età, mentre le difese cellulari declinano.

Il rallentamento delle funzioni della maggior parte delle cellule, che gioca un ruolo molto importante nel mantenimento dell'integrità della struttura dei tessuti comincia a manifestarsi, generalmente, intorno ai 30 anni, e può dipendere da molti fattori, quali la costituzione genetica, lo stato generale di salute, lo stile di vita, l'ambiente (e.g. Masoro E (ed) *Handbook of Physiology 11: Aging. 1995*).

E' anche noto che l'alimentazione e l'attività fisica possono esaltare (o deprimere) la funzionalità della autofagia, che costituisce il principale meccanismo di difesa delle cellule, e che gli antiossidanti dei cosiddetti cibi funzionali possono proteggere le membrane cellulari dagli effetti del calo delle difese antiossidanti in età avanzata.

La definizione di "cibi funzionali" si può applicare, tra gli altri, a derivati da piante che contengono naturalmente prodotti utili per la salute dell'uomo e capaci di prevenire malattie (Boue SM, Cleveland TE, Carter-Wientjes C, Shih BY, Bhatnagar D, McLachlan JM, Burow ME. *Phytoalexin-enriched functional foods.J Agric Food Chem. 2009 Apr 8;57(7): 2614-22*).




Tra queste sostanze sono noti gli stilbeni dei quali è stata recentemente dimostrata l'efficacia nel bloccare il processo di cancerogenesi, agendo sia a livello di iniziazione, sia di promozione e progressione (Pervaiz S, Holme AL. *Resveratrol: Its Biological Targets and Functional Activity. Antioxid Redox Signal.* 2009 May 11. [Epub ahead of print]).

Tra gli stilbeni è compreso il resveratrolo (trans-3,4',5-triidrossistilbene), un antiossidante naturale polifenolico, non flavonoide, derivato da molte piante, tra cui uva, bacche, arachidi e contenuto nel vino, soprattutto rosso.

Il resveratrolo è considerato una promettente molecola naturale bioattiva dotata di potenzialità fitoterapiche o farmacologiche (Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ *Modern Nutrition in Health and Disease*, 10th ed, p. 1796, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 2006).

Negli ultimi anni il resveratrolo è stato oggetto di molte indagini in vitro e in vivo rivolte alla comprensione delle attività biologiche, che includono attività antiossidanti e antiinfiammatorie, antiaggreganti, antiaterogene, fitoestrogene, inibitorie della proliferazione cellulare, immunomodulatrici (Pervaiz S, Holme AL. *Resveratrol: Its Biological Targets and Functional Activity. Antioxid Redox Signal.* 2009 May 11. [Epub ahead of print]). Il resveratrolo protegge dal diabete (Subramanian S *Resveratrol, a natural phytoalexin, normalizes hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide induced experimental diabetic rats. Biomed Pharmacother.* 2008 Nov;62(9):598-605) e dalle neurodegenerazioni




(Rocha-González HI, Ambriz-Tututi M, Granados-Soto V. Resveratrol: a natural compound with pharmacological potential in neurodegenerative diseases. *CNS Neurosci Ther.* 2008 Fall;14(3):234-47. Epub 2008 Jul 29).

Il resveratrolo può mostrare anche attività cardioprotettive e chemopreventive.

Il Resveratrolo e i suoi analoghi hanno ricevuto grandissima attenzione negli ultimi due decenni, attenzione risultata in un elevato numero di articoli che sottolineavano gli effetti benefici in molti modelli di malattie umane, nella cardio e neuroprotezione, nella regolazione immune e nella chemoprevenzione delle neoplasie (Pervaiz S, Holme AL. Resveratrol: Its Biological Targets and Functional Activity. *Antioxid Redox Signal.* 2009 May 11).

Nel 2003, David Sinclair e il suo gruppo di Harvard hanno aggiunto l'aumento della longevità all'elenco dei potenziali benefici della sostanza pubblicando su *Nature* che il resveratrolo aumenta la sopravvivenza delle cellule di lievito. Da allora anche studi su vermi, drosofile, pesci e topi hanno collegato il resveratrolo ad effetti sulla longevità. Altri studi hanno dimostrato effetti antitumorali e antinfiammatori. Altri studi recentissimi hanno dimostrato che il resveratrolo attenua in maniera riproducibile il danno ossidativo dei tessuti ad alto danno ossidativo età-correlato e riproduce gli effetti della restrizione calorica dei mammiferi (Wong YT, Gruber J, Jenner AM, Ng MP, Ruan R, Tay FE. Elevation of oxidative-damage biomarkers during aging in F2 hybrid mice: protection by chronic oral intake of



resveratrol. *Free Radic Biol Med.* 2009 Mar 15;46(6):799-809).

L'attribuire tutti i benefici al solo resveratrolo non è tuttavia possibile, e le valutazioni sui dosaggi di resveratrolo puro necessari per ottenere i vantaggi sopra descritti sembrano mettere in dubbio il collegamento.

Va anche sottolineato che gli effetti benefici del resveratrolo puro sono stati osservati *in vitro* a dosi enormemente più elevate (decine di milligrammi per Kg di peso corporeo) di quelle che si sono dimostrate utili se assunte con cibi funzionali.

Se si considera che un bicchiere di vino contiene microgrammi di resveratrolo e che il consumo giornaliero del vino assieme a tutti gli alimenti consente un apporto tra i 5 e i 10 mg/die, risulta evidente che quanto accade nella realtà della vita naturale è molto distante da ciò che si verifica alle dosi (centinaia di milligrammi) di resveratrolo puro usate nella maggior parte degli studi su animali.

L'uso di resveratrolo puro ad elevate concentrazioni aumenta, tuttavia, il rischio di tossicità del resveratrolo stesso in quanto ad elevate concentrazioni esso può mostrare proprietà pro-ossidanti a seconda dei dosaggi (de la Lastra CA, Villegas I. *Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications.* *Biochem Soc Trans.* 2007 Nov;35(Pt 5):1156-60).

A dosi elevate il resveratrolo può infatti potenziare i segnali di morte, deprimendo le proteine redox e potenziando le proteine apoptotiche (Dudley J, Das S, Mukherjee S, Das DK.

Resveratrol, a unique phytoalexin present in red wine, delivers either survival signal or death signal to the ischemic myocardium depending on dose. J Nutr Biochem. 2009 Jun;20(6):443-52).

Gli studi condotti hanno anche evidenziato che il resveratrolo è una fitoalessina, cioè una sostanza difensiva prodotta dalle piante in risposta a stress ambientali e infezioni da microrganismi patogeni; in condizioni basali il resveratrolo è assente o presente a concentrazioni bassissime, che possono aumentare rapidamente, in modo significativo, nell'ambito di una risposta difensiva più generale (Zamboni A, Gatto P, Cestaro A, Pilati S, Viola R, Mattivi F, Moser C, Velasco R. *Grapevine cell early activation of specific responses to DIMEB, a resveratrol elicitor BMC Genomics. 2009 Aug 6;10(1):363. [Epub ahead of print]*); ne consegue che il resveratrolo è una difesa aggiuntiva, che opera sempre in presenza di - e con ogni probabilità in collaborazione con - altre difese sempre presenti nelle cellule.

Si pone pertanto il problema tecnico di mettere a punto una composizione che comprenda resveratrolo con altri componenti atti a determinare una azione difensiva del corpo umano nei confronti dell'invecchiamento delle cellule e dei tessuti senza determinare effetti contrari di aumento delle degenerazioni da invecchiamento.

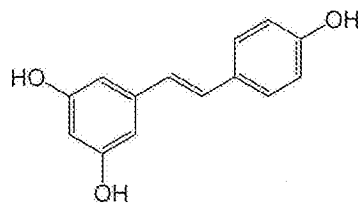
Tali risultati sono ottenuti secondo il presente trovato da una composizione comprendente resveratrolo e almeno un polifenolo del vino rosso e i suoi usi.

Secondo una forma preferita di attuazione il rapporto tra resveratrolo e detto almeno un

polifenolo del vino rosso è compreso tra 0,5:100 (peso/peso) e 10:100 (peso/peso).

Maggiori dettagli potranno essere rilevati dalla seguente descrizione di esempi non limitativi di attuazione della composizione secondo il presente trovato.

La composizione secondo il presente trovato comprende resveratrolo



in combinazione con almeno un polifenolo del vino rosso.

Per gli scopi del presente brevetto con l'espressione "almeno un polifenolo del vino rosso" si intendono uno o più polifenoli naturalmente presenti nel vino rosso e/o nell'uva rossa; rientrano in tale definizione sia i polifenoli prodotti naturalmente (ad esempio per estrazione dal vino rosso o dall'uva rossa) sia i polifenoli ottenuti per via sintetica .

Il rapporto tra resveratrolo e detto almeno un polifenolo del vino rosso nella composizione è compreso tra 0,5:100 (peso/peso) e 10:100 (peso/peso); preferibilmente tra 0,5:100 (peso/peso) e 2:100 (peso/peso).

Preferibilmente detto almeno un polifenolo dell'uva rossa presente nella composizione è scelto tra: quercitina, rutina, catechina, epicatechina e nel caso di due o più polifenoli essi possono essere miscelati in composizioni libere nel rispetto del citato rapporto con il resveratrolo.



Resveratrolo e detto almeno un polifenolo del vino rosso possono anche essere associati con ubiquinolo e/o ubiquinone e/o vitamine liposolubili ad azione antiradicalica quali la vitamina E e la vitamina F (Omega 3), che migliorano l'assorbimento e stabilizzano e prolungano gli effetti protettivi della composizione.

Nelle applicazioni per uso cosmetico e/o dermatologico le composizioni possono essere associate con dolicolo, e/o con poliprenoli vegetali da cui può essere sintetizzato il dolicolo, per migliorare la protezione della cute dai danni acuti e cronici prodotti dalla esposizione alla luce solare.

La composizione secondo il trovato può essere somministrata sia per via sistemica, preferibilmente per via orale, sia per via topica.

Preferibilmente detta forma orale può essere formulata in forma di capsula, compressa rivestita o non rivestita, granulato, emulsione; la forma topica può a sua volta essere preferibilmente formulata in crema, pomata, gel o unguento.

Forme preferite di attuazione della composizione sono di seguito descritte in esempi non limitativi della stessa in riferimento a differenti forme di somministrazione:

CAPSULE

Estratto polifenolico da uva rossa	g. 0,90
Resveratrolo	g. 0,01
Vitamina E	g. 0,04
Vitamina C	g. 0,05

CREMA

Gliceril monostearato	g 16
Alcol cetilico	g 1

Olio Minerale	g	10
Olio di sesamo	g	9
Glicerina	g	7
Vitamina E	g	==
Estratto polifenolico da uva rossa	g	2
Resveratrolo	g	0,05
Acqua	g	54,95

EMULSIONE PER CONDIMENTI

Olio extravergine di oliva	g	5
Olio di pesce e/o noci e/o lino	g	3
Vitamina E	g	0,05
Aceto di vino rosso	g	0,5
Alcool etilico	g	0,5
Estratto polifenolico da uva rossa/resveratrolo (1/100)	g	0,5
Vitamina C	g	0,05
NaCl	g	0,05
KCl	g	0,05
Acqua	g	0,3

I risultati ottenuti dalle prove sperimentali effettuate sono evidenziati dai sotto riportati esempi di applicazione della composizione secondo il trovato.

ESEMPIO 1

Protezione dalla fotolipoperossidazione con pre-caricamento di polifenoli estratti da vino rosso.

Gli epatociti di ratto isolati secondo Seglen (Seglen PO, Preparation of isolated liver cells. Methods Cell Biol 1976; 13: 29-83) furono incubati e irraggiati (per 20 o 40 min) come descritto in Parentini I, Bergamini E, Cecchi L, Cavallini G, Donati A, Maccheroni M, Tamburini I, Gori Z. The effect of carbon tetrachloride and ultravioletradiation on dolichol levels in liver cells isolated from 3- and 24-month-old male Sprague-Dawley rats. Biogerontology. 2003; 4:365-70) .

Il precaricamento fu effettuato incubando gli epatociti isolati (20 mg/ml) in 24 ml di soluzioni contenenti i polifenoli (RWP) alla concentrazione finale di 0, 50, 250 e 500 mg/100 ml per 10 minuti. Al termine, le cellule furono centrifugate, separate dal soprannatante e risospese alla concentrazione finale di 6 mg/ml.

50 ml della sospensione furono versati in piastre di Petri 12x12 cm in modo da ottenere per sedimentazione monostrati cellulari che furono fotoirraggiati per 20 o 40 min come descritto in Parentini I, Bergamini E, Cecchi L, Cavallini G, Donati A, Maccheroni M, Tamburini I, Gori Z. The effect of carbon tetrachloride and ultravioletradiation on dolichol levels in liver cells isolated from 3- and 24-month-old male Sprague-Dawley rats. Biogerontology. 2003; 4:365-70). Le cellule furono poi separate per centrifugazione e aliquote da 1 ml del mezzo di incubazione furono saggiate per il contenuto di malondialdeide (MDA) come descritto in Guarini M, Stabile A, Cavallini G, Donati A, Bergamini E. Effects of oxidative stress on the Dolichol content of isolated rat liver cells. Free Radic Res. 2007; 41:1283-8 e illustrati nella figura 1.

I risultati sono illustrati nel grafico ad istogrammi di fig.1 espressi come nmoli di MDA/mg cellule in funzione del tempo di irraggiamento.

E' riportata la media \pm l'errore standard della media di 5 casi. I risultati dimostrano che, nelle nostre condizioni sperimentali, la produzione di MDA è funzione lineare della durata dell'irraggiamento e che il precaricamento delle cellule con RWP (Red Wine Poliphenols) ha effetti di protezione che, a loro volta, sono funzione della concentrazione dei RWP usate nel precaricamento.

ESEMPIO 2

Effetti del precaricamento con resveratrolo puro di epatociti di ratto isolati, incubati e irraggiati per 40 minuti.

Le modalità del dosaggio della produzione di MDA sono analoghe a quelle descritte nell'esempio 1. Nel grafico di fig.2 in cui è riportata la media \pm l'errore standard della media di 8 casi, i valori di produzione di MDA ottenuti, riportati come descritto per la Figura 1, dimostrano che il precaricamento con resveratrolo puro a bassa concentrazione ($0,7 \times 10^{-6} M$) sorprendentemente aumenta in misura altamente significativa la produzione di MDA ($P < 0,001$) causata dal fotoirraggiamento, anziché inibirla come ci si poteva aspettare.

L'aumento della fotolipoperossidazione scompare a precaricamenti con concentrazioni di resveratrolo più elevate ($20 \times 10^{-6} M$).

ESEMPIO 3

Effetti del precaricamento con RWP (alla concentrazione di 250 mg/100 ml) e resveratrolo (alle concentrazioni di 0,7; 2; 6 e $20 \times 10^{-6} M$) per 10 min sulla produzione di MDA causata da fotoirraggiamento per 40 minuti.

Le tecniche di isolamento, precaricamento e irraggiamento delle cellule e di dosaggio della produzione di MDA sono ancora quelle descritte in relazione all'esempio 1.

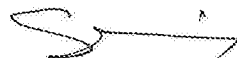
Come illustrato in fig. 3 in cui è riportata la media \pm l'errore standard della media di 8 casi, i valori di produzione di MDA ottenuti, espressi in nmoli/mg cellule, dimostrano che in presenza di polifenoli del vino rosso il resveratrolo dimostra sempre (sia alle basse che alle alte

concentrazioni) una significativa capacità di protezione dalla fotolipoperossidazione.

Risulta pertanto come la composizione secondo il presente trovato sia particolarmente attiva nei confronti della prevenzione degli effetti dannosi dei radicali liberi, della luce, dell'ossigeno, dell'invecchiamento in generale e delle malattie ad esso associate e particolarmente dell'invecchiamento della cute e dei tessuti.

Benché descritta nel contesto di alcune forme di realizzazione e di alcuni esempi preferiti di attuazione dell'invenzione si intende che l'ambito di protezione del presente brevetto sia determinato solo dalle rivendicazioni che seguono.

**FUNCTIONAL POINT S.r.l. e
GORI Zina
PER INCARICO**



**Dott.Ing.Paolo Stucovitz
Iscritto all'Albo con il n.328**

RIVENDICAZIONI

1. Composizione comprendente resveratrolo e almeno un polifenolo del vino rosso.
2. Composizione secondo rivendicazione 1 caratterizzata dal fatto che il rapporto tra resveratrolo e detto almeno un polifenolo del vino rosso è compreso tra 0,5:100 (peso/peso) e 10:100 (peso/peso).
3. Composizione secondo rivendicazione 2 caratterizzata dal fatto che detto rapporto tra resveratrolo e detto almeno un polifenolo del vino rosso è preferibilmente compreso tra 0,5:100 (peso/peso) e 2:100 (peso/peso).
4. Composizione secondo rivendicazione 1 caratterizzata dal fatto che detto almeno un polifenolo del vino rosso è scelto tra quercitina rutina, catechina, epicatechina.
5. Composizione secondo rivendicazione 1 caratterizzata dal fatto che comprende ubichinolo e/o ubichinone.
6. Composizione secondo rivendicazione 1 caratterizzata dal fatto che comprende vitamine liposolubili ad azione antiradicalica quali la vitamina E e/o la vitamina F (Omega 3).
7. Composizione secondo rivendicazione 1 caratterizzata dal fatto che comprende dolicolo, e/o poliprenoli vegetali da cui può essere sintetizzato il dolicolo.
8. Composizione secondo una delle rivendicazioni precedenti, caratterizzata dal fatto di essere somministrabile per via orale.
9. Composizione secondo la rivendicazione 8, caratterizzata dal fatto di essere formulata in



forma di capsula, compressa, rivestita o non rivestita, granulato o emulsione.

10. Composizione secondo una delle rivendicazioni da 1 a 7, caratterizzata dal fatto di essere somministrabile per via topica.

11. Composizione secondo la rivendicazione 10, caratterizzata dal fatto di essere formulata in forma di crema, pomata, gel o unguento.

12. Uso cosmetico della composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-11.

13. Uso secondo la rivendicazione 12, per il trattamento degli effetti dannosi dei radicali liberi, della luce e/o dell'ossigeno.

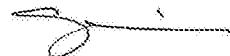
14. Uso secondo la rivendicazione 13, per il trattamento dell'invecchiamento.

15. Composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-11, per uso nel trattamento degli effetti dannosi dei radicali liberi, della luce e/o dell'ossigeno.

16. Composizione secondo la rivendicazione 15, per uso nel trattamento dell'invecchiamento.

17. Uso dietetico della composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-11.

**FUNCTIONAL POINT S.r.l. e
GORI Zina
PER INCARICO**



**Dott.Ing.Paolo Stucovitz
Iscritto all'Albo con il n.328**

Fig 1

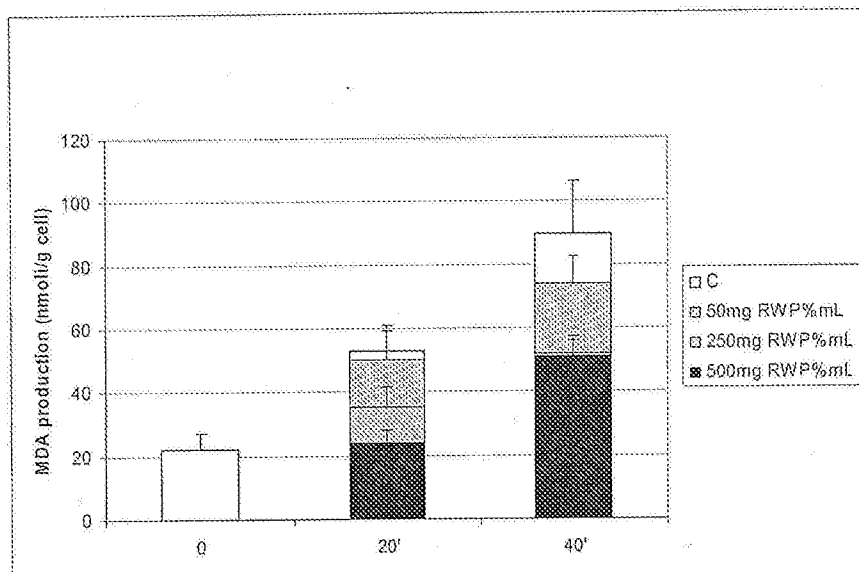


Fig 2

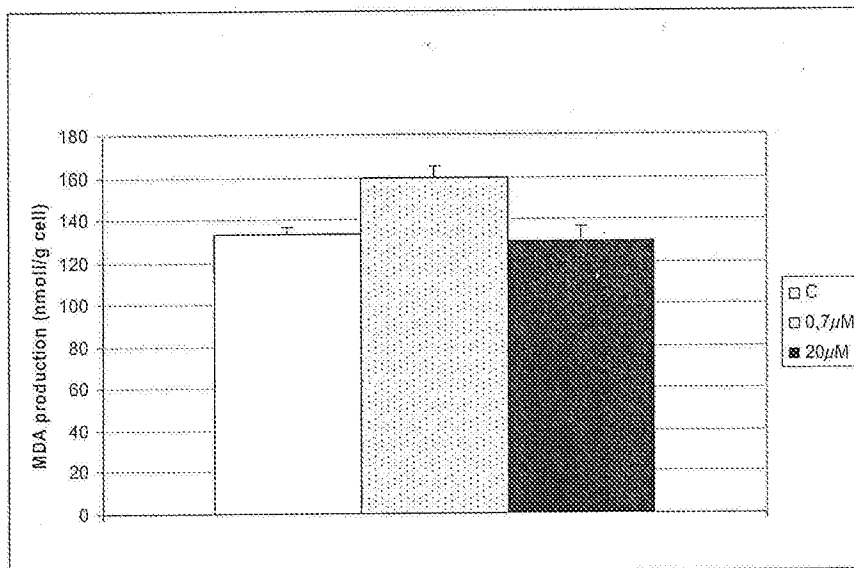


Fig 3

