



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

DOMANDA DI INVENZIONE NUMERO	102009901729508
Data Deposito	06/05/2009
Data Pubblicazione	06/11/2010

Classifiche IPC

Titolo

INDICATORI DI PH IN VIVO CONTENENTI ANTOCIANI E LORO USO

INDICATORI DI PH IN VIVO CONTENENTI ANTOCIANI E LORO USO.

Campo dell'invenzione

La presente invenzione si riferisce a degli indicatori per la determinazione del pH in vivo in particolare in organismi eucarioti.

Stato dell'arte

Gli antociani (o antocianine) sono una classe di pigmenti idrosolubili appartenente alla famiglia dei flavonoidi e rappresentano uno dei più importanti gruppi di pigmenti presenti nei vegetali, una loro caratteristica peculiare è che il loro colore può variare dal rosso al blu a seconda del pH del mezzo in cui si trovano.

Come è noto la determinazione del pH può dare notevoli informazioni infatti variazioni del metabolismo comportano anche variazioni di pH che possono essere indicative sia di alterazioni patologiche che non patologiche, utili per studiare molteplici aspetti di un organismo.

In particolare, ad esempio, per quanto riguarda la coltura di *Drosophila Melanogaster*, noto organismo eucariota utilizzato in ricerca come organismo modello, è noto che durante l'accrescimento delle larve si verificano cambiamenti di pH (in particolare nei vari tratti del loro intestino) e quindi la determinazione del pH risulterebbe particolarmente utile quando si vogliono distinguere vari stadi larvali in linee aventi genotipi differenti.

In organismi superiori la determinazione del pH delle mucose (ad esempio intestinali, bronchiali, nasali, vaginali ecc. potrebbe essere utile ad esempio per identificare cambiamenti metabolici, stati infiammatori, trasformazioni pre tumorali e tumorali, contaminazioni da parte di altri organismi e tutti i cambiamenti monitorabili mediante alterazione del pH.

Alla luce di quanto suddetto è evidente l'utilità di poter disporre di indicatori capaci di permettere una rapida determinazione del pH nelle situazioni suddette.

Breve descrizione delle figure

La fig. 1 mostra la differenza di colorazione dell'intestino tra larve di *Drosophila* Df(1)w (wild type) a larve a 11,12 e 13 giorni dalla deposizione dell'embrione.

La Fig. 2 mostra la differenza di colorazione dell'intestino tra larve di mutanti ISWI¹/ISWI² in omozigosi.

La fig. 3 mostra l'incremento di resa di larve di *Drosophila* in terreni di coltura addizionati con vari antociani.

Sommario dell'invenzione

Sono descritti indicatori di pH in vivo comprendenti antociani ed eventualmente componenti commestibili e/o farmaceuticamente accettabili.

Descrizione dettagliata dell'invenzione

E' stato ora sorprendentemente trovato che composizioni contenenti antociani permettono di realizzare un metodo che consente una rapida determinazione del pH in vivo in microrganismi o organismi superiori eucarioti capaci di assimilare dette composizioni.

Secondo l'invenzione per composizioni contenenti antociani si intendono composizioni atte a costituire terreno di coltura per organismi eucarioti e/o capaci di essere somministrate agli organismi stessi secondo le necessità, ad esempio per via orale o per inalazione o aerosol o in forma di soluzioni per lavaggi interni ecc..

Una composizione secondo l'invenzione può essere ad esempio un terreno di coltura tradizionale, normalmente costituito essenzialmente da acqua, farina di mais, saccarosio, lievito di birra, agar, conservanti, nelle proporzioni abitualmente utilizzate per la coltivazione di organismi eucarioti.

Analogamente una composizione secondo l'invenzione è una composizione adatta per la somministrazione orale in organismi eucarioti superiori ed è costituita da antociani preferibilmente in combinazione con uno o più componenti commestibili o farmaceuticamente accettabili, detta composizione essendo, ad esempio, in forma di: soluzioni acquose o di altri liquidi commestibili, compresse, pillole, sciroppi, aerosol, lavande, lavaggi ecc..

Esempi di organismi eucarioti coltivabili secondo l'invenzione sono: *Drosophila*, Nematodi, *Xenopus*, mentre per organismi eucarioti superiori, secondo l'invenzione, si intendono in particolare i mammiferi.

Nel caso di terreni di coltura addizionati di antociani, va considerato anche che essi non producono scarti tossici né presentano particolari condizioni di smaltimento alle concentrazioni utilizzate inoltre l'uso degli antociani nel terreno di coltura aumenta in modo significativo la resa della coltura.

Inoltre l'aggiunta di antociani ai terreni di coltura tradizionali, consente di ottenere un notevole incremento di deposizione e schiusa delle larve.

Fra le antocianine utili come indicatori di pH, utilizzabili secondo l'invenzione, possiamo ricordare: la cianidina, enocianina, E163 (black carrot) e gli altri analoghi composti la cui colorazione varia al variare del pH.

Normalmente la quantità di antocianina aggiunta è compresa fra 0.02 - 10% in peso sul peso totale della composizione, preferibilmente 0.3 - 5%.

L'invenzione viene ora meglio illustrata con i seguenti esempi.

Esempio 1

Preparazione del terreno di coltura

Il terreno per la coltivazione di *Drosophila Melanogaster* è stato preparato aggiungendo al tradizionale terreno, preparato secondo il protocollo: 1,3L acqua, 8gr agar, 100gr farina di mais, 100gr saccarosio, 50gr lievito di birra, 3 gr conservante, da 1 a 2gr di antociani in polvere (a seconda del tipo di antociano, se cianidina o enocianina ed E163)

Esempio 2

Uso del terreno di coltura secondo l'esempio 1

L'esperimento è stato condotto su due stock differenti di *Drosophila Melanogaster*, uno wild type e l'altro mutante. I due differenti stock sono stati allevati in terreno per la propagazione di detto organismo addizionato di antociani. E' stato possibile visualizzare, mediante colorazione, sia differenti stadi nell'accrescimento delle larve (diversa colorazione dell'intestino a 11, 12 e 13 giorni dalla deposizione dell'embrione) sia differenze nella colorazione dell'intestino tra larve wild type e larve mutanti al terzo stadio. Le larve sono state analizzate al microscopio e mediante dissezione (vedi figure 1 e 2).

Si è inoltre notato un deciso aumento della popolazione di larve a seguito dell'aggiunta di antociani (vedi Fig. 3).

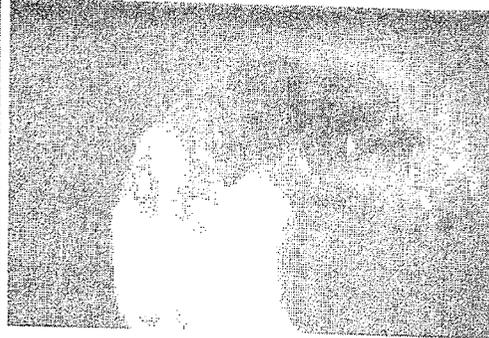
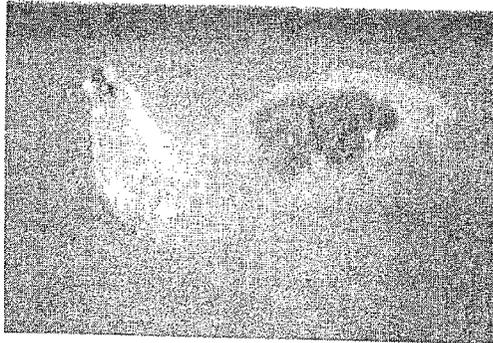
Rivendicazioni

1. Indicatori di pH in vivo comprendenti uno o più antociani eventualmente in combinazione con composti commestibili e/o farmaceuticamente accettabili.
2. Indicatori in vivo secondo la rivendicazione 1 in forma adatta per la somministrazione orale ad organismi eucarioti superiori.
3. Indicatori secondo la rivendicazione 2 in cui detti organismi eucarioti superiori sono mammiferi.
4. Indicatori secondo le rivendicazioni 1 e 2 in cui detti antociani sono scelti fra: cianidina, enocianina, E163 (black carrot) e gli altri analoghi composti la cui colorazione varia al variare del pH.
5. Indicatori secondo le rivendicazioni 1 - 3 in cui detti antociani sono presenti in quantità compresa fra 0.02 – 10% in peso sul peso totale della composizione.
6. Indicatori secondo le rivendicazioni 1 - 3 in cui detti antociani sono presenti in quantità compresa 0.3 -5%.
7. Terreno di coltura per organismi eucarioti comprendente indicatori di pH secondo le rivendicazioni 1 5.
8. Composizioni diagnostiche per la determinazione del pH in mucose interne di organismi eucarioti comprendenti indicatori secondo le rivendicazioni 1 – 6.
9. Metodo diagnostico per la determinazione del pH in vivo in organismi eucarioti superiori in cui si somministrano a detti organismi composizioni contenenti indicatori secondo le rivendicazioni 1 – 5.

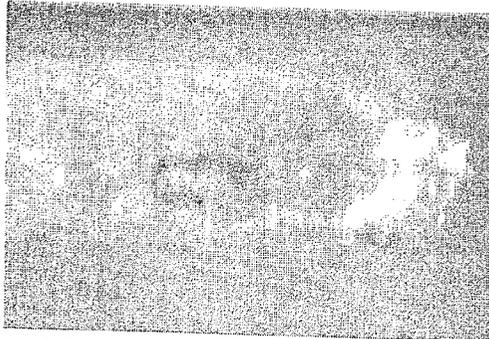
Fig. 1

Colorazione di larve di *Drosophila* con antociani

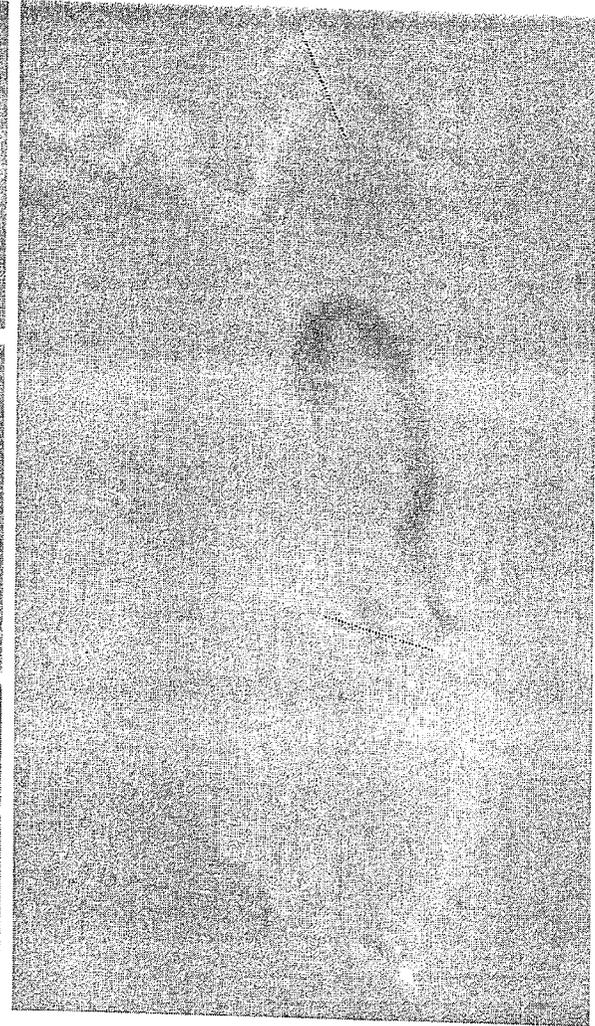
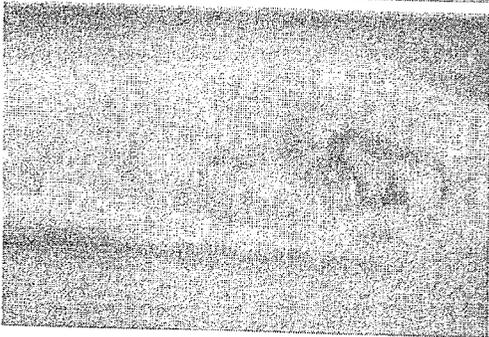
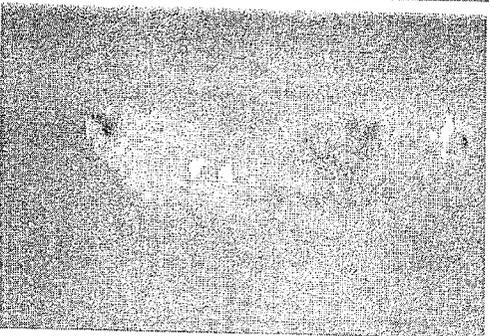
11
giorni



12
giorni



13
giorni

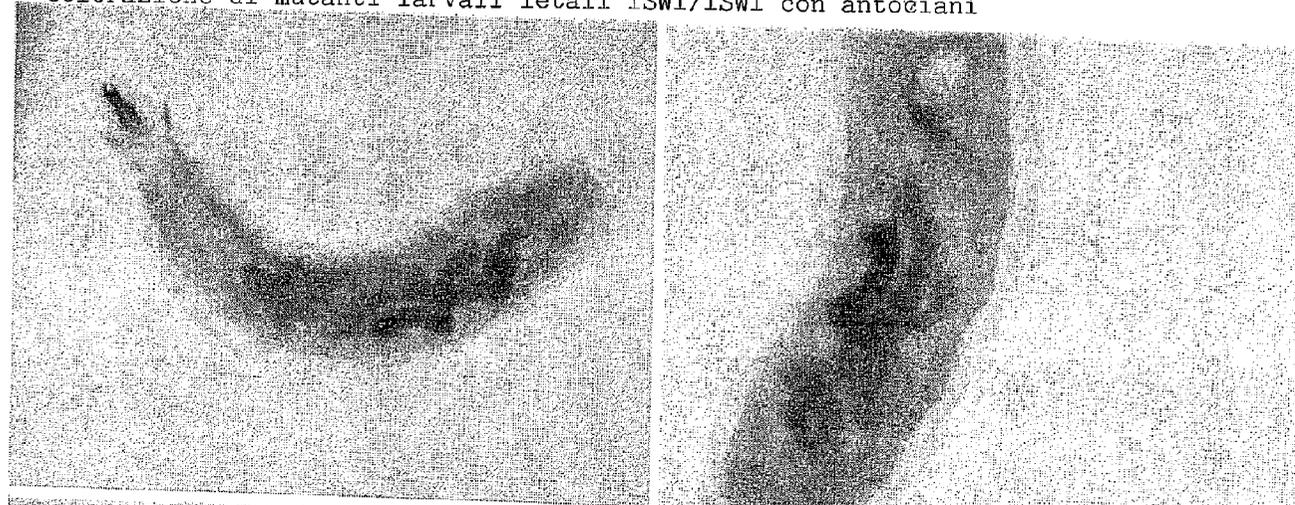


Df(1)w
3rd instar larvae

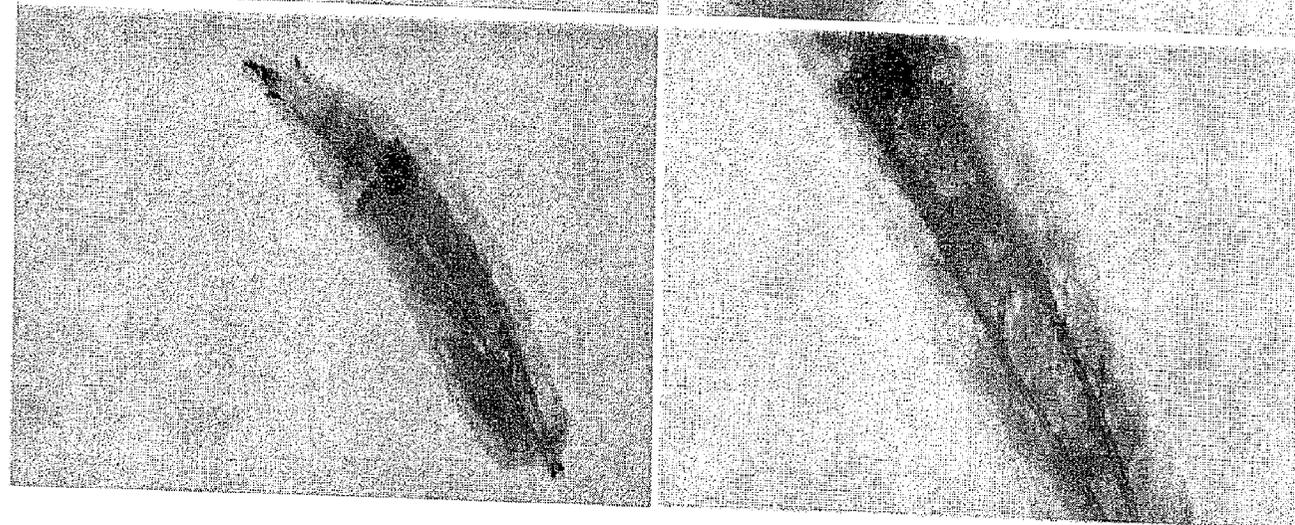
Fig. 2

Colorazione di mutanti larvali letali ISWI¹/ISWI² con antociani

Df(1)w



ISWI¹
ISWI²



3rd instar larvae (13d)

