



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 0808569-2 A2



(22) Data de Depósito: 06/03/2008
(43) Data da Publicação: 02/09/2014
(RPI 2278)

(51) Int.Cl.:
A61K 36/28
A61P 1/16
A61P 3/06
A61P 3/10

(54) Título: EXTRATOS DE CYNARA SCOLYMUS E
COMPOSIÇÕES CONTENDO A MESMA

(57) Resumo:

(30) Prioridade Unionista: 07/03/2007 EP 07425133.1,
07/03/2007 US 60/905,321

(73) Titular(es): Indena S.P.A.

(72) Inventor(es): Andrea Giori, Cesare Ponzzone, Ezio
Bombardelli, Gabriele Fontana, Paolo Morazzoni

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen, Bigler &
Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT EP2008001784 de
06/03/2008

(87) Publicação Internacional: WO 2008/107183de
12/09/2008

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"EXTRATOS DE CYNARA SCOLYMUS E COMPOSIÇÕES CONTENDO A MESMA".**

Campo da Invenção

A presente invenção refere-se a um extrato de *Cynara scolymus* (Alcachofra) com um alto conteúdo de ácidos cafeoilquínicos, e a composições contendo tal extrato, que são especificamente úteis na redução de obesidade, já que ele reduz colesterol, triglicerídeos, glicose sanguínea e apetite.

Antecedentes da Invenção

Sabe-se da literatura que extratos aquosos ou hidroalcoólicos de *Cynara scolymus* têm atividade hipocolesterolêmica, colerética e antidispéptica. A atividade hipocolesterolêmica, que foi reportada por muitos anos, é associada com duas classes de substâncias: cinarina, um ácido dicafeoilquínico, e flavonoides derivadas de luteolina, que foram demonstradas *in vitro* para inibir a síntese de colesterol no fígado. Parte da atividade é associada com a ação colerética específica de extratos de *Cynara scolymus*. Os extratos normalmente usados são preparados das folhas que são secas ao sol ou secas mecanicamente a altas temperaturas; a fim de obter uma resposta biológica significativa em humanos, esses extratos devem ser administrados em altas doses por períodos de tempo muito longos. De acordo com as Farmacopeias ou Monógrafos Oficiais, as quantidades de ácido cafeoilquínico e de flavonoides usadas são de aproximadamente 3,4% e de aproximadamente 25% respectivamente.

Um extrato de *alcachofra* com um alto conteúdo de cinaropicrina, obtenível por extração de *alcachofras* na presença de aminoácidos sulfatados é descrito em WO2007/006391.

Descrição da Invenção

Um extrato de alcachofra com um alto conteúdo de ácidos cafeoilquínicos e de glicosídeos de luteolina que tem uma atividade hipoglicêmica e hipolipidêmica foi agora encontrado; tal extrato é obtenível por extração das escamas ("heads") comestíveis não-secas com álcoois C₁-C₃ ou misturas dos mesmos com água.

Descrição Detalhada da Invenção

O extrato de *Cynara scolymus* pode ser obtido de acordo com a invenção por extração das escamas ("heads") comestíveis não-secas da planta com álcoois com até três átomos de carbono, preferivelmente etanol, ou com misturas de etanol/água, especialmente etanol/água na razão de 7:3 v/v. Após a purificação, um extrato que é diferente de extratos conhecidos devido a seu alto conteúdo de ácidos cafeoilquínicos e de flavonoides expressas como glicosídeos de luteolina é obtido. O extrato de acordo com a invenção também possui atividade hipoglicêmica. O extrato pode ser preparado de vários cultivos de alcachofra, preferivelmente da variedade espinhosa, e ainda mais preferivelmente, da variedade espinhosa Sardinian.

A preparação de biomassa vegetal é um aspecto importante para o propósito da invenção; imediatamente após a colheita, as escamas ("heads") frescas são cortadas grosseiramente e congeladas para reduzir a ação de oxidases e hidrolases naturalmente presentes nas plantas. A biomassa, congelada e mantida a -30°C, é moída criogenicamente e imediatamente imersa no solvente de extração alcoólico que completa a desativação das enzimas, permitindo, ao mesmo tempo, a extração completa dos constituintes ativos. Os extratos hidroalcoólicos obtidos são concentrados em temperaturas de entre 25 e 55°C, preferivelmente a 35°C a vácuo. Um precipitado de substâncias inertes pobremente solúveis em água (por exemplo, clorofilas, substâncias de lipídeos e alguns carotenoides normalmente presentes em materiais de plantas) é obtido durante a concentração; essas substâncias são eliminadas. A solução aquosa, após filtração e eliminação do solvente e de substâncias indesejadas, é concentrada sob vácuo a um volume correspondente daquele do material de planta extraído, e então é purificada em uma resina de absorção, como uma das resinas de poliestireno, Amberlite®, Duolite®, XAD7 ou XAD2; a resina usada é lavada extensivamente com água, e o extrato desejado é eluído com etanol a 85 a 95%, preferivelmente etanol a 90%, até que a resina esteja completamente exausta.

O eluído alcoólico é concentrado até a secagem. O extrato então obtido tem um conteúdo de ácido cafeoilquínico variando entre 30 e 60%,

preferivelmente por volta de 45%, e um conteúdo de flavonoide, expresso como glicosídeos de luteolina foi avaliado com os testes convencionais descritos por Tormo MA et al., Br. J. Nutr. 96, 539, 2006 e Schurr E.G. et al., T.M., Lipids 7, 68, 1972. Os resultados estão expostos nas tabelas 1 e 2.

5 Tabela 1

Efeito de extrato de *alcachofra* purificado em hiperlipemia induzida por Triton WR1339 em ratos Wistar.

Extrato de <i>alcachofra</i> purificado mg/kg p.o.	Triglicerídeos mg/100 ml	Colesterol total mg/100 ml
0	255,05 ± 38,78	175,53 ± 9,95
25	170,74 ± 47,03 (-33%)	96,93 ± 10,83* (-44%)

Número de animais/grupo: 14

*p<0,05 vs. controles

- 10 Tratamentos foram realizados subcutaneamente a 0, 9, 24 e 28 horas após injeção de Triton.

Animais foram sacrificados 32 horas após Triton.

Tabela 2

Efeito de extrato de *alcachofra* purificado em glicemia em ratos Wistar que foram dados uma quantidade restrita de alimentos com um acesso limitado de 1 hora/dia.

- 15

Extrato de <i>alcachofra</i> purificado mg/Kg p.o.	AUC de níveis de plasma de glicose (mg/dL)
0	31200 ± 800
10	27900 ± 600 (- 11%)
50	26100 ± 850 * (- 16%)
100	18700 ± 700 ** (- 40%)

Número de animais/grupo: 8

* p<0,05 **p<0,01 vs. controles

- 20 O extrato de acordo com a invenção é apropriado para ser incorporado em formulações farmacêuticas como comprimidos, drágeas, cápsulas de gelatina moles e duras e como cápsulas de celulose. O extrato é pre-

ferivelmente formulado em óleos ricos em ácidos $\omega 3/\omega 6$ poli-insaturados como óleo de *Oenothera biennis* (prímula). Essas composições são úteis no campo farmacêutico e nutracêutico como agentes hipoglicêmicos e hipolipidêmicos, e para tratamento de esteatose de fígado não-alcoólico.

5 Os mesmos resultados são observados em animais de laboratório e foram confirmados em seres humanos a doses de entre 50 e 1000 por dia.

O exemplo reportado abaixo ilustra a invenção em detalhes.

Exemplo – Preparação de extrato de *Cynara scolymus*, variedade espinhosa

10 Carregue 2 kg de escamas ("heads") de *Cynara scolymus*, de variedade espinhosa Sardinian, cortados e congelados no tempo de colheita, em um percolador com uma manta de aquecimento, e cubra com 4760 ml de EtOH a 95% para obter um conteúdo de álcool de aproximadamente 70% (assumindo um conteúdo de 85% de água na planta). Mantenha em contato
15 por 3 horas a 70°C, depois descarregue.

Em extrações sucessivas, extraia com EtOH a 70% v/v a 70°C, cobrindo a planta, com um tempo de contato mínimo de 3 horas. Realize um total de 5 extrações, usando aproximadamente 15 L de solvente.

Combine os percolatos e concentre sob vácuo a 35°C até aproximadamente 15% de resíduo seco.
20

Deixe resfriar à temperatura ambiente, separe a fração insolúvel, e carregue a solução aquosa transparente em uma coluna equipada com 530 ml de resina XAD-7 HP.

Lave a coluna, primeiro com 530 ml de água (eliminando o eluído) e então com 1325 ml de EtOH a 90%. Concentre o eluído hidroetanólico e seque a 50°C sob vácuo por 24 horas. 18,59 g do extrato purificado serão obtidos. Títulos de HPLC: 49,13% de ácidos cafeoilquínicos, 2,68% de flavonoides.
25

REIVINDICAÇÕES

1. Extrato de *Cynara scolymus* com um alto conteúdo de ácido cafeoilquínico obtível por extração de escamas ("heads") de alcachofra não-secas com álcoois com até três átomos de carbono.
- 5 2. Extrato de acordo com a reivindicação 1, em que a extração é realizada com uma mistura de etanol/água na razão de 7:3 v/v.
3. Extrato de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que a extração é realizada na variedade espinhosa e na variedade espinhosa Sardinian de *Cynara scolymus*.
- 10 4. Extrato de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 3, com um conteúdo de ácido cafeoilquínico de entre 30 e 60% e um conteúdo de glicosídeo de luteolina variando entre 2 e 5%.
5. Composição nutracêutica ou farmacêutica contendo o extrato de *Cynara scolymus* como definido nas reivindicações de 1 a 4.
- 15 6. Uso do extrato como definido nas reivindicações de 1 a 4 para a preparação de medicamentos com uma ação hipoglicêmica e hipolipidêmica, e para o tratamento de esteatose de fígado não-alcoólico.

RESUMO

Patente de Invenção: **"EXTRATOS DE *CYNARA SCOLYMUS* E COMPOSIÇÕES CONTENDO A MESMA"**.

5 A presente invenção refere-se a um extrato de *Cynara scolymus* com um alto conteúdo de ácido cafeoilquínico, obtenível por extração de escamas ("heads") de alcachofra não-secas com álcoois com até três átomos de carbono.