



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2009 00120**

(22) Data de depozit: **05.02.2009**

(41) Data publicării cererii:

30.09.2010

BOPI nr. 9/2010

(71) Solicitant:

• INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE
DEZVOLTARE CHIMICO-FARMACEUTICĂ -
ICCF, CALEA VITAN, NR. 112, SECTOR 3,
COD 031299, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

• PINTILIE GABRIELA VIORICA,
STR. SACHELARIE VISARION, NR. 16,
BL. 118A, AP. 27, BUCUREȘTI, B, RO;
• PÎRVU LUCIA CAMELIA,
CALEA VĂCĂREȘTI, NR. 338, BL. 15, SC. 2,
ET. 4, AP. 43, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,
RO;
• ALEXANDRU NICOLETA,
CALEA CRÂNGAȘI, NR. 23, BL. 13, SC. 2,
ET. 2, AP. 22, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;
• NICULESCU MIHAI, BD CAMIL RESSU,
NR. 54, BL. C17, SC. 1, AP. 10, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;

• ALBULESCU MIHAELA,

STR. ROȘIA MONTANĂ, NR. 6, BL. 07,
SC. C, ET. 2, AP. 125, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;

• BĂNICĂ ELENA, STR. RIPICENI, NR. 4,
BL. 11, AP. 42, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B,
RO;

• ARMATU ALICE ELENA, BD UVERTURII,
NR. 43, BL. 1, SC. D, ET. 2, AP. 131,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;

• BUBUEANU ELENA CORINA,
STR. CERNIȘOARA, NR. 43, BL. 012,
SC. A, AP. 19, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;

• DRĂGHICI ELENA,
STR. ALEEA FIZICIENILOR, NR. 8, BL. 3D,
SC. 2, AP. 73, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,
RO;

• COLCERU MIHUL SVETLANA GABRIELA,
STR. RÂMNICU-SĂRAT, NR. 29, BL. 11A1,
ET. 10, AP. 42, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,
RO

(54) PRODUS DE ORIGINE VEGETALĂ CU ACȚIUNE ANTIOXIDANTĂ ȘI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTUIA

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un produs utilizat ca aditiv anti-oxidant, în produse alimentare, și la un procedeu pentru obținerea acestuia. Produsul conform invenției este constituit dintr-un complex de compuși polifenolici cu conținut de 25-30% m/m, exprimat în rutozidă, flavonoide, și 25-30% m/m acizi polifenolcarboxilici, exprimat în acid cefeic, izolați din amestecul *Crataegi sp. flores et folium*, *Salviae sp. herba* și *Cichorii herba* în proporție de 1 : 1 : 1 m/m/m, prezentând un indice de protecție antioxidantă de 160% *in vitro* și 82-97% *in vivo*. Procedeu conform invenției constă din supunerea materialului vegetal extracției cu alcool metilic în raport material vegetal/alcool de 1/12 m/v, timp de 3 h la

reflux, după care extractul este separat și concentrat la presiune redusă până la un volum de 1 : 1 v/m față de materia primă, extractul metanolic se diluează cu apă și alcoolul metilic se distilează la presiune redusă, soluția apoasă rezultată se menține timp de 24 h la 5-10°C, reziduu clorofilian se separă, soluția apoasă se spală sub agitare cu solvenți nepolari și se extrage de 3 ori cu solvenți selectivi în raport 1 : 1 v/v, și extractele organice se concentrează la presiune redusă sau se atomizează, rezultând un produs bioactiv antioxidant.

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 DE ORIGINE VEGETALA CU ACTIUNE ANTIOXIDANTA SI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTUIA

Inventia se refera la un produs de origine vegetala cu actiune antioxidanta utilizabil ca supliment alimentar sau ca aditiv antioxidant in produsele alimentare si in produsele cosmetice, precum si la procedeul de obtinere a acestuia.

Este cunoscut ca speciile de *Crataegus* (*C. monogyna*, *C. oxyacantha*) contin polifenoli (vitexina, hiperozida, rutina, acid clorogenic), compusi ce manifesta proprietati antioxidante de intensitati diferite [1], [2], [3].

Este cunoscut ca speciile de *Salvia* (*S. sclarea*, *S. officinalis*) au in compozitia chimica constituinti polifenolici (carnosol, acid carnosic, apigenina, luteolina, derivati de acid cinamic) – constituinti a caror actiune antioxidanta a fost dovedita experimental [4], [5], [6].

Este cunoscut ca *Cichorium intybus* contine flavonoide [7], [8] – substante ce prezinta activitate antioxidanta.

Problema pe care o rezolva inventia este realizarea unui produs cu actiune antioxidanta ridicata datorita efectului sinergic manifestat de compusii prezenti in materia prima vegetala alcatuita din amestecul format din *Crataegi* sp. flores et folium, *Salviae* sp. herba si *Cichorii* herba (1:1:1 m/m/m).

Produsul obtinut in conformitate cu prezenta inventie se prezinta sub forma unei pulberi de culoare galben-brun, solubila in alcoolii, cu un continut de compusi polifenolici alcatuit din acizi polifenolcarboxilici (25-30% m/m exprimat in acid cafeic) si flavonoide (24-30% m/m exprimat in rutozida).

Procedeul de obtinere a produsului consta in extractia materialului vegetal alcatuit din *Crataegi* sp. flores et folium, *Salviae* sp. herba si *Cichorii* herba in proportie de 1:1:1 m/m/m cu alcool metilic (raport material vegetal/solvent extractie 1:12 m/v), la reflux, timp de 3 ore, separarea solutiei extractive, concentrarea ei sub presiune redusa pana la un volum corespunzator raportului 1:1 v/m fata de materialul vegetal, diluarea solutiei metanolice concentrate cu un volum egal de apa, eliminarea alcoolului metilic prin distilare la presiune redusa, mentinerea la temperatura de 5 -10°C timp de 24 ore a solutiei apoase concentrate, separarea reziduului clorofilian, spalarea solutiei apoase prin agitare cu solventi nepolari (clorura de metilen, cloroform) (raport 1:1 v/v) urmata de extractia lichid-lichid cu solventi selectivi (acetat

de etil, alcool n-butilic) in raport de 1:1 v/v de 3 ori succesiv si obtinerea produsului prin concentrarea sub presiune redusa, pana la reziduu, a extractelor organice reunite, sau prin atomizare.

Inventia prezinta urmatoarele avantaje:

- permite obtinerea unui produs de origine vegetala lipsit de toxicitate, cu o foarte buna actiune antioxidanta, indicele de protectie evaluat "in vitro" pe culturi de hepatocite fiind 161.7% comparativ cu 120%, 131.4% si 118.5% pentru produsele obtinute din *Salvia* sp., *Cichorium intybus*, respectiv *Crataegus* sp.;

- materia prima vegetala este constituita din amestecul a 3 plante usor accesibile din flora indigena;

- procedeul de obtinere a produsului poate fi transpus la nivel industrial pe o instalatie de prelucrare a plantelor fara a necesita investitii deosebite.

Exemple de realizare a inventiei

Exemplu 1

Materialul vegetal utilizat consta din flori cu frunze de paducel (*Crataegi* sp. flores et folium) (continut 2.16% flavonoide, 0.57% acizi polifenolcarboxilici), iarba de salvie (*Salviae herba*) (continut 2.57% flavonoide, 0.41% acizi polifenolcarboxilici) si iarba de cicoare (*Cichorii herba*) (continut 1.83% flavonoide, 0.30% acizi polifenolcarboxilici) amestecate in proportia de 1:1:1 m/m/m, in stare uscata si macinate (sita I).

Fazele tehnologice sunt urmatoarele:

a) Extractia materialului vegetal

3Kg material vegetal se extrag prin agitare la reflux, timp de 3 ore, cu 36L alcool metilic. Se raceste amestecul si se separa solutia extractiva prin filtrare la presiune normala. Se obtin 30L solutie extractiva metanolica.

b) Obtinerea extractului apos decolorat

Solutia extractiva metanolica (30L) se concentreaza la presiune redusa pana la volumul de cca. 3L. Se adauga 4L apa si se continua concentrarea la presiune redusa pana la obtinerea unui volum de 3L solutie apoasa concentrata. Solutia se mentine la temperatura de 5-10°C timp de 24 ore. Se separa reziduuul clorofilian prin centrifugare timp de ½ ora la turatia 2400 rot/min. Se obtin circa 2.8L solutie apoasa. Solutia apoasa se spala prin agitare cu 1.2L clorura de metilen. Se separa fazele.

Rezulta cca. 2.8L extract apos declorofilat.

c) Obținerea produsului bioactiv

Extractul apos declorofilat se extrage prin agitare, succesiv, de 3 ori, cu câte 3L acetat de etil (saturat în prealabil cu apă)(timp de agitare ½ ora, timp de separare 1 ora). Se separa fazele. Extractele organice se reunesc și se concentrează sub presiune redusă (20 mm.col.Hg) până la eliminarea solventului și obținerea reziduului uscat. Reziduul se dizolvă în 0.5L alcool etilic. Solutia se concentrează sub presiune redusă până la eliminarea solventului. Se obțin cca. 38g produs sub formă de reziduu uscat, de culoare brun deschis cu un conținut de 25% m/m flavonoide (exprimat în rutozida) și 26.55% m/m acizi polifenolcarboxilici (exprimat în acid cafeic).

Exemplu 2

Se utilizează același material vegetal ca în exemplul 1. Fazele a) și b) se realizează la fel cu cele descrise în exemplul 1.

c) Obținerea produsului bioactiv

Extractul apos declorofilat se extrage prin agitare, succesiv, de 3 ori, cu câte 3L acetat de etil (saturat în prealabil cu apă)(timp de agitare ½ ora, timp de separare 1 ora). Se separa fazele. Extractele organice se reunesc și se concentrează sub presiune redusă (20 mm.col.Hg) până la eliminarea solventului și obținerea reziduului uscat. Reziduul se dizolvă în 1L alcool etilic 20%. Solutia se supune atomizării în următoarele condiții: temperatura de intrare 125°C, temperatura de ieșire 60-62°C. Se obțin circa 35g produs sub formă de pulbere de culoare brun deschis cu un conținut de 25% m/m flavonoide (exprimat în rutozida) și 26.55% m/m acizi polifenol carboxilici (exprimat în acid cafeic).

Rezultatele testărilor privind inocuitatea produsului bioactiv atestă lipsa de toxicitate a acestuia demonstrată în experiment acut prin administrare orală la soareci albi Swiss a dozei de 5g/Kg.

Rezultatele testărilor privind activitatea antioxidantă a produsului, efectuate "in vitro" pe culturi de hepatocite și "in vivo" pe sobolari Wistar au demonstrat că acțiune antioxidantă a acestuia, produsul dovedind un indice de protecție de 161.7% în experimentul "in vitro", respectiv un procent de protecție cuprins între 82 și 97% dependent de doza administrată în experimentul "in vivo".

Revendicari

1. Produs de natura vegetala cu actiune antioxidanta **caracterizat prin aceea ca** contine un complex de compusi polifenolici cu continut de flavonoide (25-30% m/m exprimat in rutozida) si acizi polifenolcarboxilici (25-30% m/m exprimat in acid cefeic) izolati din amestecul Crataegi sp. flores et folium, Salviae sp. herba si Cichorii herba in proportie 1:1:1 m/m/m, este lipsit de toxicitate, demonstreaza un indice de protectie de circa 160% in experimentul "in vitro", respectiv un procent de protectie cuprins intre 82 si 97%, dependent de doza administrata, in experimetul "in vivo".

2. Procedeu de obtinere a produsului antioxidant **caracterizat prin aceea ca** materialul vegetal constituit din Crataegi sp. flores et folium, Salviae sp. herba si Cichorii herba (1:1:1 m/m/m) se extrage cu alcool metilic (raport material vegetal/solvent extractie 1/12 m/v) la reflux, timp de 3 ore, se separa solutia extractiva, se concentraza sub presiune redusa pana la un volum corespunzator raportului 1:1 v/m fata de materialul vegetal, se dilueaza solutia metanolica concentrata cu un volum egal de apa, se elimina alcoolul metilic prin distilare sub presiune redusa, se mentine solutia apoasa concentrata la temperatura de 5-10°C timp de 24 de ore, se separa reziduul clorofilian, se spala solutia apoasa prin agitare cu solventi nepolari (clorura de metilen, cloroform) (raport 1:1 v/v), se extrage solutia apoasa prin agitare cu solventi selectivi (acetat de etil, alcool n-butilic) in raport de 1:1 v/v de 3 ori succesiv, se concentreaza sub presiune redusa extractele organice reunite pana la reziduu sau se atomizeaza.