



MD 130 Y 2010.01.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **130** ⁽¹³⁾ **Y**
(51) Int. Cl.: *C07F 9/10* (2006.01)
C12N 1/12 (2006.01)
B01D 11/00 (2006.01)
A61K 36/05 (2006.01)
A61K 31/66 (2006.01)
A61K 31/683 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ**

În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție de scurtă durată, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: s 2009 0200 (22) Data depozit: 2009.10.22	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2010.01.31, BOPI nr. 1/2010
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	
(72) Inventatori: RUDI Liudmila, MD; MISCU Vera, MD; CEPOI Liliana, MD; CHIRIAC Tatiana, MD; BULMAGA Valentina, MD; RUDIC Valeriu, MD; IAȚCO Iulia, MD	
(73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	

(54) **Procedeu de obținere a complexului de fosfolipide din biomasă de *Spirulina platensis***

(57) **Rezumat:**

1
Invenția se referă la ficobiotehnologie, în special la un procedeu de obținere a fosfolipidelor din biomasa microalgelor care pot fi folosite în industria farmaceutică pentru producerea remediilor anti-aterogene.

Procedeu, conform invenției, include înghețarea-dezghetarea și omogenizarea biomasei de *Spirulina platensis*, extragerea acesteia cu alcool

2
5 etilic de 96% într-un raport de volum respectiv de (1...2):10, la temperatura de 60°C timp de 60 min, distilarea alcoolului, dizolvarea extractului cu un amestec de clorofom și etanol luate în raport de volum de 95:5 și sedimentarea fosfolipidelor cu acetonă la temperatura de 0°C.

10
Revendicări: 1

MD 130 Y 2010.01.31

MD 130 Y 2010.01.31

3

Descriere:

Invenția se referă la ficobiotehnologie, în special la un procedeu de obținere a fosfolipidelor din biomasa microalgelor care pot fi folosite în industria farmaceutică pentru producerea remediilor antiaterogene.

5 Cianobacteria *Spirulina platensis* este un obiect biotehnologic binecunoscut, utilizându-se pe larg pentru obținerea diferitor substanțe bioactive. *Spirulina* atrage atenția oleobiotehnologilor nu atât prin cantitatea lipidelor în componența biomasei, cât prin calitatea lor. Astfel, *spirulina* conține în componența fracțiilor sale lipidice acidul γ -linolenic, fosfatidilcolina și fosfatidilinozitolul. Din acest punct de vedere biomasa de *spirulina* devine atractivă în scopul obținerii complexului de fosfolipide, care poate fi utilizat în producerea preparatelor cu efect antiaterogenic, datorită capacității lor de a restabili membranele celulare, de a micșora gradul de rigiditate și de a micșora viscozitatea lor; de a bloca procesul de adeziune și agregare a trombocitelor și eritrocitelor, cauzată de acumularea colesterolului și a produselor oxidării lipidice; de a activa lipoproteinlipaza, care provoacă scindarea chilomicronilor și lipoproteinelor cu densitate deosebit de joasă.

15 Este cunoscut procedeu de obținere a complexului de fosfolipide din creier de bovine, care include omogenizarea materiei prime în acetonă răcită, extragerea complexului cu cloroform, filtrarea extractului și resuspendarea sedimentului în acetonă, filtrarea repetată, apoi solubilizarea sedimentului în amestec de cloroform cu etanol. La amestecul obținut se adaugă acetonă în concentrație de (1,5...2,0):1 pentru sedimentarea fosfolipidelor din extract [1].

20 Dezavantajele acestui procedeu sunt durată îndelungată a executării lui (20 ore), și consumul mare de reagenți, în special cel de acetonă (11 L de amestecuri de solvenți la 1000 g materie primă din care se obține 10 g produs activ).

25 Mai este cunoscut procedeu de obținere a complexului de fosfolipide din peliculele de inserare a icrelor de sturion (în calitate de cea mai apropiată soluție), care include înghețarea-dezghetarea biomasei, omogenizarea ei, extragerea cu alcool etilic, prelucrarea extractului cu hexan, filtrarea și uscarea produsului final, în care pentru a mări randamentul și a scădea cantitatea de impurități extragerea se face la început cu apă fierbinte (60...80°C) în proporție de (1:2)...3 timp de 1...2 ore, iar după răcire până la 2...8°C extragerea se repetă cu alcool etilic răcit (4...8°C) și acidulat până la pH 3,0...3,5 [2].

30 Dezavantajul acestui procedeu constă în aceea că el poate fi utilizat numai pentru extragerea din biomasa cu un conținut înalt de lipide (cel puțin 10%), în timp ce biomasa de *spirulina* conține maxim 7% lipide, fosfolipidele constituind până la 5% din lipidele totale.

35 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui procedeu eficient de extragere a fosfolipidelor din biomasa de *Spirulina platensis*, care ar asigura extragerea fosfolipidelor din materie primă caracterizată printr-un conținut scăzut de lipide.

40 Esența invenției constă în aceea că procedeu, conform invenției, include înghețarea-dezghetarea și omogenizarea biomasei de *Spirulina platensis*, extragerea acesteia cu alcool etilic de 96% într-un raport de volum respectiv de (1...2):10, la temperatura de 60°C timp de 60 min, distilarea alcoolului, dizolvarea extractului cu un amestec de cloroform și etanol luate în raport de volum de 95:5 și sedimentarea fosfolipidelor cu acetonă la temperatura de 0°C.

45 Rezultatul tehnic al invenției constă în obținerea unui complex de fosfolipide din biomasa de *spirulina*, care se caracterizează printr-un conținut scăzut de lipide generale și fosfolipide, față de prototip, care prevede extragerea fosfolipidelor din materie primă cu un conținut înalt de lipide generale.

50 Rezultatul tehnic obținut se datorează utilizării pentru extragere a solventului în combinație cu temperatura înaltă, ceea ce asigură extragerea eficientă a lipidelor polare din biomasa de *spirulina*. De asemenea utilizarea pentru sedimentare a acetonei răcite la temperatura de 0°C asigură obținerea unui complex fosfolipidic practic lipsit de alte ingrediente, inclusiv pigmenții, care se extrag cu etanol.

Exemple de realizare a invenției

50 Exemplul 1

55 Biomasa de *Spirulina platensis* se separă prin filtrare de mediul de cultivare, se îngheață în congelator la -18°C, după 24 ore se dezghetă și se omogenizează într-un omogenizator cu cuțite de inox. La 10 g (recalcul la biomasă absolut uscată) de biomasă omogenizată se adaugă 100 ml de alcool etilic 96% într-un raport de volum respectiv de 1:10, se pune la baie de apă și se menține timp de 60 min la temperatura de 60°C, agitându-se periodic. După aceasta extractul se filtrează cu ajutorul unei pompe cu vid, apoi alcoolul se distilează la un rotavapor cu vid. Sedimentul obținut se dizolvă în 5 ml de amestec de cloroform:etanol de respectiv 95:5. Pentru separarea fosfolipidelor din extractul obținut, la el se adaugă 40 ml acetonă răcită, amestecul se pune pentru 24 ore la frigider la regim de 0°C. Ca rezultat se obțin 25 mg fosfolipide. Componența lor este următoarea: 6,25 mg fosfatidilinozitol, 13,20 mg fosfatidilcolină, 5,25 mg fosfatidiletanolamină, 0,20 resturi de glicolipide.

60 Exemplul 2

65 Biomasa de *Spirulina platensis* se separă prin filtrare de mediul de cultivare, se îngheață în congelator la -18°C, după 24 ore se dezghetă și se omogenizează într-un omogenizator cu cuțite de inox. La 20 g de biomasă omogenizată se adaugă alcool etilic 96% într-un raport de volum respectiv de 1:3,5, se pune la baie de apă și se menține timp de 60 min la temperatura de 60°C, agitându-se

MD 130 Y 2010.01.31

4

5 periodic. După aceasta extractul se filtrează la pompa cu vid, apoi alcoolul se distilează la un rotavapor cu vid. Sedimentul obținut se dizolvă în amestec de cloroform:etanol de 95:5. Pentru separarea fosfolipidelor din extractul obținut, la el se adaugă acetonă răcită, amestecul se pune pentru 24 ore la frigider la regim de 0°C. Ca rezultat se obțin 48 mg fosfolipide, care constau din 13,00 mg fosfatidilinozitol, 25,50 mg fosfatidilcolină, 9,5 mg fosfatidiletanolamină.

(57) Revendicări:

10 Procedeu de obținere a complexului de fosfolipide din biomasă de *Spirulina platensis*, care include înghețarea-dezghetarea și omogenizarea biomasei, extragerea acesteia cu alcool etilic de 96% într-un raport de volum respectiv de (1...2):10, la temperatura de 60°C timp de 60 min, distilarea alcoolului, dizolvarea extractului cu un amestec de cloroform și etanol luate în raport de volum de 95:5 și sedimentarea fosfolipidelor cu acetonă la temperatura de 0°C.

15

(56) Referințe bibliografice:

1. RU 2192265 C2 2002.11.10
2. RU 2018318 C1 1994.08.30

Șef Secție:

COLESNIC Inesa

Examinator:

GORDIENCO Maria

Redactor:

LOZOVANU Maria

RAPORT DE DOCUMENTARE

pentru cerere de brevet de invenție de scurtă durată conform art.52(2) a Legii nr. 50/2008

(21) Nr. depozit: s 2009 0200	(85) Data fazei naționale PCT:	
(22) Data depozit: 2009.10.22	(86) Cerere internațională PCT:	
Prioritatea invocată: (31) nr.: 32) data: 33) țara: (51) IPC: Int. Cl.: C07F 9/10 (2006.01) C12N 1/12 (2006.01) B01D 11/00 (2006.01) A61K 36/05 (2006.01) A61K 31/66 (2006.01) A61K 31/683 (2006.01) Alți indici de clasificare: Titlul: Procedeu de obținere a complexului de fosfolipide din biomasa de <i>Spirulina platensis</i> (71) Solicitantul: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD		
I. Condiția de unitate a invenției <input checked="" type="checkbox"/> satisface <input type="checkbox"/> nu satisface. Notă:		
II. Minimul de documente consultate: MD, EA		
III. Domeniul de documentare: a) Indicii IPC (ultima redacție): C07F 9/10; C12N 1/12; B01D 11/00; A61K 36/05; A61K 31/66; A61K 31/683 b) Termeni caracteristici, cuvinte-cheie, sinonime: fosfolipide; biomasa de <i>Spirulina platensis</i>		
IV. Documente considerate a fi relevante		
Categoria	Date de identificare ale documentelor citate și, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Relevant față de revendicarea nr.
A	SU 957908 1982.09.15	1
A	SU 1080825 A 1984.03.23	1
A	RU 2018318 C1 1994.08.30	1
A	RU 2192265 C2 2002.11.10	1
A	FR 7822384 A1 1979.03.02	1
A	CA 1048408 1975.06.09	1
Categoriile de documente citate		
A - document care definește stadiul anterior în general	O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expunere etc.	
X - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă	P - document publicat înainte de data de depozit dar după data priorității invocate	
Y - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe alte documente de aceeași natură	T - document publicat după data de depozit sau a priorității invocate, citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria care fundamentează invenția	
E - document anterior dar publicat la data de depozit național reglementar sau după această dată	D - Document menționat în descrierea cererii de brevet	
Data finalizării documentării	2009.11.04	
Examinatorul	GORDIENCO Maria	