



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2018 00723**

(22) Data de depozit: **26/09/2018**

(41) Data publicării cererii:
30/03/2020 BOPI nr. **3/2020**

(71) Solicitant:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE
CHIMICO-FARMACEUTICĂ - ICCF
BUCUREȘTI, CALEA VITAN NR.112,
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **PÎRVU LUCIA CAMELIA, STR.BĂCIA
NR.11 A, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **NIȚĂ SULTANA, STR.BĂRBAT VOIEVOD
NR.21, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **BÂZDOACĂ CRISTINA,
BD. DIMITRIE CANTEMIR NR. 13, BL. 11,
SC. A, AP. 29, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,
RO;**
• **BEJANARU IONICA NARGHITA,
STR.TOPORAȘI, NR.66, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO;**

• **DONCIU ROXANA ELENA,
STR.PLT.MAJ.MARIN PAZON, NR.3,
GL.G14, SC.C, ET.2, AP.28, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **BUBUEANU CORINA ELENA,
STR.CETATEA DE BALTĂ, NR.11-39,
BL.31, SC.3, ET.2, AP.50, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **GRIGORE ALICE ELENA, BD.UVERTURII
NR.43, BL.1, AP.131, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **ALBU BUJOR, STR.TIMPULUI NR.33,
POPEȘTI-LEORDENI, IF, RO;**
• **SHA ' AT FAWZIA, STR.LIVIU
REBREANU, NR.5, BL.52, SC.2, ET.3,
AP.58, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **PĂVĂLOIU RAMONA DANIELA,
ALEEA BARAJULUI BICAZ, NR.11B,
BL.M 32B, SC.1, ET.7, AP.86, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **HLEVCA CRISTINA, STR. LIZEANU
NR. 19, ET. II, AP. 4, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, RO**

(54) **EXTRACTE VEGETALE DE UZ DERMATO-COSMETIC.
PROCEDEU DE OBTINERE PENTRU TREI TIPURI
DE EXTRACTE STANDARDIZATE DIN SPECII DE NALBĂ
(MALVA SP.)**

(57) **Rezumat:**

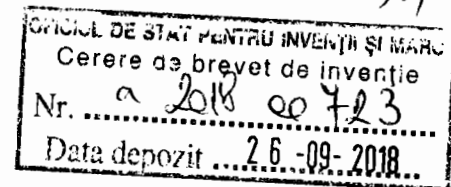
Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor extracte vegetale de uz dermato-cosmetic din specii de nalbă (*Malva sp.*). Procedeu conform invenției constă în extracția directă a materiei prime vegetale în propilen glicol 50% la temperatura camerei, eventual extracția în etanol 70% la temperatura camerei/temperatura de reflux, urmată de trecerea în propilen glicol 50%, în raport de extracție plantă uscată și măcinată:solvent de extracție 1:10 (g/v), separarea extractului, analiza chi-

mică, decantarea sau filtrarea extractului intermediar, analiza cantitativă a extractului finit în vederea realizării corecțiilor pentru extractul final standardizat având un conținut de 1 mg flavone totale, exprimate în Rutin, per 1 ml extract în solvent propilen glicol 50% vol.

Revendicări: 3
Figuri: 2



BREVET DE INVENȚIE



Extrakte vegetale de uz dermato-cosmetic.

Procedeu de obținere pentru trei tipuri de extrakte standardizate din specii de nalba (*Malva sp.*).

AUTORI: Pîrvu Lucia Camelia, Niță Sultana, Băzdoacă Cristina, Bejănaru Ionica Narghita, Donciu Roxana Elena, Bubueanu Corina Elena, Grigore Alice Elena, Albu Bujor, Fawzia Sha'at, Păvăloiu Ramona Daniela, Cristina Hlevca

A) Domeniul tehnic la care se referă invenția

1. Invenția se referă la 3 procedee (variante tehnologice) de obținere a unor extrakte vegetale de uz dermato-cosmetic cu un conținut standardizat de 1 mg flavone totale exprimate în Rutin per 1 mL extract în solvent propilen glicol 50% (v/v).
2. Extraktele vegetale de uz dermato-cosmetic, subiect al prezentei invenții sunt:
 - 3 extrakte standardizate din flori de nalbă de pădure (*Malva sylvestris* L. - flores) și
 - 3 extrakte standardizate din frunze de nalbă mică (*Malva neglecta* L. - folium).

B) Stadiul tehnicii

1. Este cunoscut faptul că sistemul tegumentar este un organ activ în menținerea integrității și funcționării corpului la mamifere, dar în același timp este și în relație cu multiple alte organe ale corpului, în plus cu o suprafață de absorbție relativ mare, prin urmare produsele de igienă și cosmetică trebuie să țină cont de aceste aspecte metabolice, structurale și funcționale ale pielii, întrucât aplicarea acestora pe suprafețe mari poate avea nu doar efecte locale, ci și efecte sistemice, considerabile; pielea este cel mai greu organ al corpului omenesc având o pondere de 15-20% din greutatea totală a corpului și o suprafață cuprinsă între 4.5 și 6 metri pătrați (1).

2. Astfel, epidermul, sau stratul superficial al pielii, este definit de starea celulelor dominante, keratinocitele, responsabile de HIDRATAREA, PROSPEȚIMEA și LUMINOZITATEA pielii; dermul, sau stratul din mijloc al pielii, este definit de starea fibroblastelor producătoare de collagen și elastină, responsabile de FERMITATEA, ELASTICITATEA și SĂNĂTATEA pielii în general; hipodermul, sau stratul adânc al pielii este constituit majoritar din celule grase cu funcție de suport subdermic, prin urmare deprecierea acestuia conduce la amplificarea ridurilor dermice și, în final, la aspectul caracteristic de bătrân.

3. De asemenea, este bine cunoscut faptul că: procesul cuperozic este în relație directă cu starea microcirculației din derm; procesul acneic este în relație directă cu starea glandelor sebacee și sudoripale din derm; glandele sudoripale sunt în relație directă, atât cu echilibrele hidroelectrice, cât și cu organele implicate în procesele de detoxifiere din organism (ex.: ficat, rinichi, colon); la nivelul epidermului există celule cu rol imunitar, respectiv celule Langerhans (a nu se confunda cu insulele Langerhans din pancreas) care sunt celule dendritice localizate în jurul vaselor de sânge cu rol de avanpost al sistemului imunitar, prin urmare aici are loc internalizarea agenților patogeni urmată de transformarea acestora în antigene și prezentarea pe suprafața celulei, pentru a putea fi identificate de către sistemul imunitar (1).

4. Ținând cont de toate aceste aspecte metabolice, structurale și funcționale ale pielii, menținerea unui status normal și sănătos al pielii, în contextul utilizării frecvente a produselor cosmetice și de igienă, necesită o abordare particulară, 4.1) funcție de tipul de ten (ex.: ten uscat, ten normal sau ten gras cu tendință acneică), 4.2) funcție de vârstă și 4.3) funcție de alte aspecte ale tenului cum sunt cuperoza, acneea, sensibilitatea la anumiți alergeni, etc.

5. Astfel, dacă pielea foarte tânără necesită în special ingrediente cosmetice capabile să elimine stratul de celule moarte de la suprafața epidermului, pentru a menține nivelul de hidratare al pielii, pe măsura înaintării în vârstă apare necesitatea adăugării unor ingrediente cosmetice care sporesc HIDRATAREA EPIDERMULUI, iar ulterior și

SINTEZA DE COLAGEN ȘI ELASTINĂ DIN DERM, la o vârstă mai înaintată fiind absolut necesar și aportul de SUBSTANȚE GRASE CU ROL DE CONSOLIDARE A HIPODERMULUI, cel mai profund strat al pielii care vizează mai ales zona ochiului.

6. În afară de aceste ingrediente cosmetice de bază în menținerea aspectului sănătos și plăcut al pielii, este unanim acceptat faptul că EXTRACTELE VEGETALE CU EFECT ANTIOXIDANT capabile să se opună proceselor de oxidare asociate fenomenului natural de îmbătrânire, ori celui indus de efectul nociv al radiației solare și poluării sunt ingredientele cosmetice foarte eficiente în menținerea sănătății și tinereții pielii pentru orice tip de ten și pentru orice vârstă (2).

C) Prezentarea problemei tehnice

1. Este bine știut faptul că polifenolii vegetali sunt antioxidanți puternici, cu efect *scavenger* de radicali liberi, de asemenea și cu un raport beneficiu risc bun, atât prin administrare internă, cât și prin aplicare topică, la om; explicația potențialului antioxidant crescut al (sub)claselor de polifenoli vegetali derivă din prezența unui număr mare de grupări -OH în moleculă, hidroxili care au capacitatea de a prelua electronii oxigenului și ai radicalilor liberi ai acestuia (reactive oxygen species/ROS), astfel conferind protecție antioxidantă, atât față de procesul normal de îmbătrânire (respirație celulară), cât și față de oxidarea indusă de radiația solară și poluarea atmosferică în general (3).

2. Polifenolii vegetali au și capacitatea de a realiza multiple legături dipol-dipol cu apa, astfel explicându-se efectul lor antioxidant, calmant și hidratant la nivelul epidermului.

3. De exemplu, *Malva sylvestris* L., cunoscută și sub numele de nălăbă de pădure, are o istorie lungă de utilizare, nu doar în medicina tradițională și populară, de uz intern și extern, ci și ca hrană pentru om și animale, dat fiind în special conținutul ridicat în polizaharide și proteine din rădăcina și frunze. În ceea ce privește proprietățile medicinale, produsele din nălăbă de pădure sunt recunoscute în special pentru activitatea antiinflamatorie, antioxidantă și anti-complementară, antialergică (4-5). În uz extern, planta a fost dovedită de asemenea cu efect antiinflamator, antiiritant și calmant asupra

pielii și mucoaselor la om, de asemenea cu potențial protector împotriva cancerului de piele (6). Din punctul de vedere al industriei cosmetice, bazele de date specializate descriu extractele de nalbă de pădure cu efect calmant și antioxidant ridicat, fiind recomandate în multiple formule și compoziții cosmetice (7).

4.1. Date fiind calitățile cosmetice deosebite ale nalbei de pădure, *Malva sylvestris* L. este patentată ca ingredient de uz cosmetic (8).

5. *Malva neglecta* L. are și ea o istorie lungă de utilizare medicinală, în unele părți ale lumii fiind consumată drept legumă; frunzele și lăstarii de nalbă mică sunt consumați în anumite regiuni din SUA fie gătite, fie ca salată, în timp ce semințele speciei se utilizează pentru condimentarea mâncărilor. În ceea ce privește utilizarea medicinală, nalba mică este de asemenea apreciată pentru efectul calmant, atât asupra leziunilor pielii, cât și asupra mucoaselor tractului digestiv superior (orofaringiene) și inferior (colite acute sau cronice), fiind dovedită cu un efect antiinflamator ridicat (9).

5.1. Date fiind beneficiile evidente asupra pielii, nalba mică/*Malva neglecta* L. este patentată ca ingredient de uz cosmetic (10).

6. În acest context problema tehnică pe care o rezolvă prezenta invenție se referă la realizarea a TREI PROCEDEE / VARIANTE TEHNOLOGICE de extracte vegetale de uz cosmetic, trei variante de extracte standardizate din flori de nalbă de pădure (*Malva sylvestris* L. - *flores*), respectiv trei variante de extracte standardizate din frunze de nalbă mică (*Malva neglecta* L. - *folium*), care pot fi utilizate ca ingrediente active naturale pentru obținerea de multiple produse de uz dermato-cosmetic sau de igienă.

7. Realizarea a trei variante de tehnologice pentru fiecare specie vegetală are drept argument posibilitatea realizării extractelor vegetale standardizate de uz cosmetic în contextul unei dotări/infrastructuri diferite, de la mai simpliste, la mai complexe.

8. Extractele vegetale rezultate în urma celor trei variante tehnologice de extracție au, fiecare, un conținut identic și standardizat de polifenoli vegetali, respectiv 1 mg flavone totale exprimate în Rutin per 1 mL extract în solvent propilen glicol 50% (v/v) (11).

10. Argumente în favoarea invenției:

- 10.1) speciile de nalbă sunt foarte bine reprezentate în flora României;
- 10.2) speciile de nalbă sunt foarte bine cotate în bazele de date de ingrediente naturale vegetale de uz dermato-cosmetic;
- 10.3) extractele de nalbă pot fi utilizate în multiple formule dermato-cosmetice sau de igienă, date fiind proprietățile certe de produs calmant, antioxidant și hidratant;
- 10.4) extractul de nalbă mică are efect dominat hidratant;
- 10.5) extractul de nalbă de pădure are efect dominat antioxidant;
- 10.6) prin combinarea celor două extracte se permite un baleaj extins al efectelor antioxidant-hidratant, funcție de proporțiile în care sunt utilizate;
- 10.7) cele trei variante tehnologice de extracție sunt simple și reproductibile, conduc la extracte identice, standardizate, fiind realizabile în contextul unor posibilități tehnologice diferite ale potențialilor utilizatori ai invenției.

D) Expunerea invenției

1. Procedeele de obținere pentru cele două categorii de extracte vegetale de uz dermato-cosmetic se referă la
 - a) trei extracte de uz cosmetic din flori de nalbă de pădure/*Malva sylvestris* și
 - b) trei extracte de uz cosmetic din flori de nalbă mică/*Malva neglecta*, fiecare cu un conținut chimic cantitativ standardizat de 1 mg flavone totale exprimate în Rutin per 1 ml extract în solvent propilen glicol 50% (v/v).
2. Cele două categorii de extracte de uz cosmetic (a și b) se pot combina în diferite rapoarte funcție de tipul de efect dorit, respectiv funcție de tipul pielii căreia se adresează, standardizarea lor permițând acest baleaj extins al efectelor antioxidant-hidratant.
3. Cele trei procedee/variante tehnologice pentru fiecare tip de extract vegetal sunt următoarele:

3.1. VARIANTA 1 - EXTRACTE VEGETALE DE UZ COSMETIC OBȚINUTE PRIN EXTRACȚIE DIRECTĂ ÎN PROPILEN GLICOL 50% (V/V) CU ULTRASUNETE

Etape de lucru:

- ^{a1)} extracția directă a materiei prime vegetale în propilen glicol 50% (v/v), raport de extracție plantă uscată și măcinată : solvent de extracție - 1 : 10 (g/v), la temperatura camerei (18-20°C), trei zile consecutiv, cu câte o repriză zilnică de 30 minute extracție accelerată pe baie de ultrasunete;
- ^{b)} separarea extractului de masa de materie primă vegetală și analiza extractului brut rezultat în ceea ce privește compoziția chimică calitativă și cantitativă;
- ^{c1)} dispunerea extractului provenit din prima extracție (^{a1}) peste o nouă șarjă de materie primă vegetală (în cantitate identică) în vederea concentrării extractului în compuși activi (polifenoli vegetali), astfel încât extractul intermediar rezultat să aibă o concentrație ușor superioară (+5%) celei propuse pentru standardizare (1 mg flavone totale exprimate în rutin per 1 mL extract);
- ^{d)} decantarea sau filtrarea extractului intermediar;
- ^{e)} analiza cantitativă a extractului finit rezultat în vederea realizării corecțiilor necesare și obținerii extractului final standardizat cu un conținut identic de 1 mg flavone totale exprimate în Rutin per 1 mL extract în solvent propilen glicol 50% (v/v);
- ^{f)} combinația extractelor standardizate în rapoarte riguroase în vederea realizării unui raport particular între efectul antioxidant și efectul hidratant, funcție de scopul produsului și caracteristicile pielii căreia se adresează.

3.2. VARIANTA 2 - EXTRACTE VEGETALE DE UZ COSMETIC OBȚINUTE PRIN EXTRACȚIE ÎN ETANOL 70% (V/V) LA TEMPERATURA CAMEREI URMATĂ DE TRECEREA ÎN PROPILEN GLICOL 50% (V/V)

Etape de lucru:

- ^{a2)} extracția directă a materiei prime vegetale în etanol 70% (v/v), raport de extracție plantă uscată și macinată : solvent de extracție - 1 : 10 (g/v), la temperatura camerei (18-20°C), 10 zile consecutiv, cu câte o repriză zilnică de 5-10 minute extracție accelerată prin agitare mecanică energetică.

- b) separarea extractului de masă de materie primă vegetală și analiza extractului brut rezultat în ceea ce privește compoziția chimică calitativă și cantitativă;
- c²) concentrarea extractului etanolic brut la un produs spiss și reluarea acestuia în soluție de propilen glicol 50 % (v/v) astfel încât extractul intermediar rezultat să aibă o concentrație ușor superioară (+5%) celei propuse pentru standardizare (1 mg flavone totale exprimate în rutin per 1 mL extract);
- d) decantarea sau filtrarea extractului intermediar;
- e) analiza cantitativă a extractului finit rezultat în vederea realizării corecțiilor necesare și obținerii extractului final standardizat cu un conținut identic de 1 mg flavone totale exprimate în Rutin per 1 mL extract în solvent propilen glicol 50% (v/v);
- f) combinația extractelor standardizate în rapoarte riguroase, alese de beneficiar/aplicant în vederea realizării unui anumit raport între efectul antioxidant și efectul hidratant, funcție de tipul de produs dorit și caracteristicile pielii căreia se adresează.

3.3. VARIANTA 3 - EXTRACTE VEGETALE DE UZ COSMETIC OBȚINUTE PRIN EXTRACȚIE ÎN ETANOL 70% (V/V) LA TEMPERATURA DE REFLUX URMATĂ DE TRECERE ÎN PROPILEN GLICOL 50% (V/V)

Etape de lucru:

- a³) extracția directă a materiei prime vegetale în etanol 70% (v/v), raport de extracție plantă uscată și măcinată : solvent de extracție, 1 - 10 (g/v), la temperatura de reflux a amestecului (70-72°C), 1 oră, cu agitare continuă, în sistem închis (extracție cu refrigerent);
- b) separarea extractului de masa de materie primă vegetală și analiza extractului brut rezultat în ceea ce privește compoziția chimică calitativă și cantitativă;
- c³) concentrarea extractului etanolic brut la un produs spiss și reluarea acestuia în soluție de propilen glicol 50 % (v/v) astfel încât extractul intermediar rezultat să aibă o concentrație ușor superioară (+5%) celei propuse pentru standardizare (1 mg flavone totale exprimate în rutin per 1 mL extract);
- d) decantarea sau filtrarea extractului intermediar;

- e) analiza cantitativă a extractului finit rezultat în vederea realizării corecțiilor necesare și obținerii extractului final standardizat cu un conținut identic de 1 mg flavone totale exprimate în Rutin per 1 mL extract în solvent propilen glicol 50% (v/v);
- f) combinația extractelor standardizate în rapoarte riguroase, alese de beneficiar/aplicant în vederea realizării unui anumit raport între efectul antioxidant și efectul hidratant, funcție de scopul produsului și caracteristicile pielii căreia se adresează.

E) AVANTAJE INVENȚIE

Prin aplicarea procedeelor, conform invenției, rezulta trei avantaje:

1. se obțin DOUĂ CATEGORII DE EXTRACTE VEGETALE DE UZ COSMETIC DIN DOUĂ SPECII DE NALBĂ RECUNOSCUTE PENTRU BENEFICIILE ADUSE PIELII, cu proprietăți antioxidante și hidratante recunoscute în literatura de specialitate, REPRODUCTIBILE ȘI STANDARDIZATE, cu un conținut de 1 mg flavone totale exprimate în Rutin per 1 ml extract în solvent propilen glicol 50% (v/v);
2. se oferă TREI VARIANTE DE EXTRACȚIE pentru fiecare categorie de extract, astfel încât să acopere diferitele posibilități tehnologice ale potențialilor beneficiari/ utilizatori/ aplicanți ai invenției;
3. prin combinarea celor două categorii de extracte, din cele două specii de nalbă, se poate realiza un BALEAJ EXTINS AL EFECTELOR ANTIOXIDANT-HIDRATANT, funcție de caracteristicile pielii căreia se adresează.

H) Mod de realizare

1. Procedeele de obținere se refera la TREI VARIANTELE TEHNOLOGICE de extracte/ingrediente active vegetale de uz dermato-cosmetic.
2. Cele trei variante de extracte/ingrediente active vegetale de uz dermato-cosmetic sunt: trei variante de extracte standardizate din flori de nalbă de pădure/*Malva sylvestris* și trei variante de extracte standardizate din flori de nalbă mică/*Malva neglecta*, fiecare cu un conținut chimic cantitativ identic de 1 mg flavone totale exprimate în Rutin per 1 ml extract în solvent propilen glicol 50% (v/v).

3. Descrierea operațiilor tehnologice:

3.1. VARIANTA 1 - EXTRACTIE DIRECTA IN PROPILLEN GLICOL 50% (v/v):

- a¹) Materia primă vegetală uscată și măcinată constituită din flori de nalbă de pădure/*Malva sylvestris* L., ori frunze de nalbă mică/*Malva neglecta* L. se extrage, fiecare separat, cu propilen glicol 50% (v/v) la temperatura camerei timp de trei zile consecutiv, cu câte o repriză zilnică de extracție accelerată pe baie de ultrasunete, raport 1 : 10 / greutate materie primă - volum solvent (g/v);
- b) Separarea extractului de masă de materie primă vegetală se poate realiza prin filtrare la presiune normală, ori la presiune redusă (pe pâlnie Buhner), iar extractul brut rezultat se analizează în ceea ce privește compoziția chimică calitativă (metoda HPTLC în sistem specific pentru polifenoli) și cantitativă (metoda standard cu clorură de aluminiu în mediu bazic recomandată de FR.X, respectiv flavone totale exprimate în Rutin per 1 mL extract);
- c¹) Operația de concentrare în compuși activi a extractului brut în propilen glicol 50% se realizează prin re-extractia unei noi șarje de materie primă vegetală (în cantitate identică cu prima extracție) cu extractul provenit din prima extracție (a¹), astfel încât extractul intermediar rezultat să aibă o concentrație ușor superioară (+5%), celei propuse pentru standardizare, 1 mg flavone totale exprimate în rutin per 1 mL extract;
- d) Extractului intermediar se decantează, sau se filtrează la presiune normală, ori la presiune redusă (pâlnie *Buhner*), pe un filtru de porozitate medie.
- e) Extractul finit astfel obținut se analizează dpdv al compoziției chimice cantitative, se realizează corecțiile necesare pentru stabilirea conformității în ceea ce privește conținutul în compuși activi, respectiv de 1 mg flavone totale exprimate în rutin per 1 mL extract în propilen glicol 50%.
- f) Rezultă în final un extract standardizat de uz cosmetic din flori de nalbă de pădure/*Malva sylvestris*, respectiv un extract standardizat de uz cosmetic din frunze de nalbă mică/*Malva neglecta* care se pot utiliza în combinații/rapoarte riguroase (1:1, 1:2, 2:1, etc.) astfel realizând un baleaj al efectelor antioxidant:hidratant pe o plajă extinsă, funcție de caracteristicile pielii căreia se adresează.

3.2. VARIANTA 2 - EXTRACȚIE ÎN ETANOL 70% (V/V) LA TEMPERATURĂ CAMEREI URMATĂ DE TRECEREA ÎN PROPILLEN GLICOL 50% (V/V)

- a²⁾ Materia primă vegetală uscată și măcinată constituită din flori de nalbă de pădure/*Malva sylvestris* L., ori frunze de nalbă mică/*Malva neglecta* L. se extrage, fiecare separat, cu etanol 70 % (v/v), la temperatura camerei, timp de zece zile consecutiv, raport identic 1 : 10 / greutate materie primă - volum solvent (g/v);
- b) Separarea extractului de masă de materie primă vegetală se poate realiza prin filtrare la presiune normală, ori la presiune redusă (pe pâlnie Buhner), iar extractul brut rezultat se analizează în ceea ce privește compoziția chimică calitativă (metoda HPTLC în sistem specific pentru polifenoli) și cantitativă (metoda standard cu clorură de aluminiu în mediu bazic recomandată de FR.X, respectiv flavone totale exprimate în Rutin per 1 mL extract);
- c²⁾ Operația de concentrare în compuși activi a extractului brut se realizează prin evaporarea solventului la vid, urmată de reluarea produsului spiss rezultat în propilen glicol 50% (v/v) astfel încât extractul intermediar rezultat să aibă o concentrație ușor superioară (+5%) celei propuse pentru standardizare (1 mg flavone totale exprimate în rutin per 1 mL extract);
- d) Extractului intermediar se decantează, sau se filtrează la presiune normală, ori la presiune redusă (pâlnie *Buhner*), pe un filtru de porozitate medie;
- e) Extractul finit astfel obținut se analizează dpdv al compoziției chimice cantitative, se realizează corecțiile necesare pentru stabilirea conformității în ceea ce privește conținutul în compuși activi, respectiv de 1 mg flavone totale exprimate în rutin per 1 mL extract în propilen glicol 50% (v/v);
- f) Rezultă în final un extract standardizat de uz cosmetic din flori de nalbă de pădure/*Malva sylvestris*, respectiv un extract standardizat de uz cosmetic din frunze de nalbă mică/*Malva neglecta* care se pot utiliza în combinații/rapoarte riguroase (1:1, 1:2, 2:1, etc.), astfel realizând un baleaj al efectelor antioxidant:hidratant pe o plajă extinsă, funcție de caracteristicile pielii căreia se adresează.

3.3. VARIANTA 3 - EXTRACȚIE ÎN ETANOL 70% (V/V) LA TEMPERATURA DE REFLUX URMATĂ DE TRECERE ÎN PROPILLEN GLICOL 50% (V/V)

- a³) Materia primă vegetală uscată și măcinată constituită din flori de nalbă de pădure/*Malva sylvestris* L. ori frunze de nalbă mică/*Malva neglecta* L. se extrage, fiecare separat, cu etanol 70 % (v/v), la temperatura de reflux a amestecului, timp de 1 oră, cu agitare mecanică, în sistem închis (cu refrigerent), raport identic 1 : 10 / greutate materie primă - volum solvent (g/v);
- b) Separarea extractului de masă de materie primă vegetală se poate realiza prin filtrare la presiune normală, ori la presiune redusă (pe pâlnie Buhner), iar extractul brut rezultat se analizează în ceea ce privește compoziția chimică calitativă (metoda HPTLC în sistem specific pentru polifenoli) și cantitativă (metoda standard cu clorură de aluminiu în mediu bazic recomandată de FR.X, respectiv flavone totale exprimate în Rutin per 1 mL extract);
- c³) Operația de concentrare în compuși activi a extractului brut se realizează prin evaporarea solventului la vid, urmată de reluarea produsului spiss rezultat în propilen glicol 50% (v/v), astfel încât extractul intermediar rezultat să aibă o concentrație ușor superioară (+5%) celei propuse pentru standardizare (1 mg flavone totale exprimate în rutin per 1 mL extract);
- d) Extractului intermediar se decantează, sau se filtrează la presiune normală, ori la presiune redusă (pâlnie *Buhner*), pe un filtru de porozitate medie.
- e) Extractul finit astfel obținut se analizează dpdv al compoziției chimice cantitative, se realizează corecțiile necesare pentru stabilirea conformității în ceea ce privește conținutul în compuși activi, respectiv de 1 mg flavone totale exprimate în rutin per 1 mL extract în propilen glicol 50% (v/v).
- f) Rezultă în final un extract standardizat de uz cosmetic din flori de nalbă de pădure/*Malva sylvestris*, respectiv un extract standardizat de uz cosmetic din frunze de nalbă mică/*Malva neglecta* care se pot utiliza în combinații/rapoarte riguroase (1:1, 1:2, 2:1, etc), astfel realizând un baleaj al efectelor antioxidant:hidratant pe o plajă extinsă, funcție de caracteristicile pielii căreia se adresează.

4. Prin aplicarea procedeelor/variantelor tehnologice descrise mai sus rezultă:

4.1. Trei extracte standardizate de uz dermato-cosmetic din flori de nalbă de pădure/*Malva sylvestris* cu următoarele caracteristici/proporții:

4.1.1. Din punct de vedere cantitativ, totodată ținând totodată cont și de aspecte de consum de energie, VARIANTA 2 este cea mai avantajoasă (vezi Tabelul nr. 1).

Tabel nr. 1- Compoziția chimică cantitativă a extractelor de *Malva sylvestris* în cele trei variante de extracție.

Varianta de extracție	g materie primă / mL solvent extracție	mL extract brut rezultat	Flavone totale exprimate în echivalenți de Rutin (mg / mL extract brut)	mL extract final standardizat rezultat (1 mg echivalenți Rutin / 1 mL extract standardizat)
V1	130 g / 1000 mL	680	1.08	710
V2	100 g / 1000 mL	800	0.97	760
V3	100 g / 1000 mL	760	0.52	390

4.1.2. Din punct de vedere calitativ (vezi Figura 1 - cromatogramele A, B și C) analiza HPTLC indică extractele din flori de nalbă de pădure ca fiind foarte bogate în derivați ai kaempferolului (spoturile fluorescente de culoare verde-albastru / s6, s7, s8, s9, s12) și quercetinului (spoturile fluorescente de culoare galben-portocaliu / s1, s4, s5), totodată conținând numeroși derivați cafeoilquinici (spoturile de culoare albastru fluorescențe), respectiv acid cafeic (s11), acid izoclorogenic (s10), totodată și derivați cu masa moleculară mare (s2, s3).

4.1.3. Compoziția chimică calitativă a extractelor de nalbă de pădure, foarte bogată în flavonozide cu grad de glicozilare scăzut indică în primul rând un potențial antioxidant crescut și, în al doilea rând, un potențial hidratant.

4.2. Trei extracte standardizate de uz dermato-cosmetic din flori de nalbă de pădure/*Malva neglecta* cu următoarele caracteristici/proporții:

4.2.1. Din punct de vedere cantitativ, totodată ținând totodată cont și de aspecte de consum de energie, VARIANTA 2 este cea mai avantajoasă (vezi Tabelul nr. 2).

Tabel nr. 2- Compoziția chimică cantitativă a extractelor de *Malva neglecta* în cele trei variante de extracție.

Varianta de extracție	g materie primă / mL solvent extracție	extract brut rezultat (mL)	Flavone totale exprimate în echivalenți de Rutin (mg / mL extract brut)	mL extract final standardizat rezultat (1 mg echivalenți Rutin / 1 mL extract standardizat)
V1	350 g / 1000 mL	250	1.04	240
V2	100 g / 1000 mL	770	0.35	250
V3	100 g / 1000 mL	770	0.37	260

4.2.2. Din punct de vedere calitativ (vezi Figura 2 - cromatogramele A, B și C), extractele din frunze de nalbă mică au un conținut mai redus de derivați flavonoidici, derivați quercetinului care apar mai vizibili (spoturile fluorescente colorate în galben / s4, s5, s6) fiind din categoria poliglicozide, așadar cu caracter antioxidant mult mai scăzut. Compoziția în derivați cafeoilquinici (spoturile fluorescente colorate în albastru) indică prezența unor cantități mari de acid cafeic (s10) și acid izoclorogenic (s9), de asemenea și derivați cu masă moleculară mare (s2, s8, s9).

4.2.3. Dat fiind numărul mare de grupări hidroxil provenite de la specii chimice cu masa moleculară mare (poliglicozidele quercetinului, respectiv derivații înalt esterificați ai acidului cafeic), extractele din frunze de nalbă mică au un potențial hidratant crescut și, în al doilea, rând un potențial antioxidant bun.

Notă: Prezentul brevet de invenție a fost realizat în cadrul lucrărilor ICCF București efectuate pe Contract subsidiar D nr. 38/08.11.2018 cu titlul TEHNOLOGII CADRU DE REALIZARE A UNOR PRODUSE DERMATO-COSMETICE CU EXTRACTE ACTIVE NATURALE, contract care se desfășoară pe proiect POC-A1-A1.2.3-G-2015 cu titlu NOI TEHNOLOGII ȘI PRODUSE PENTRU SĂNĂTATE, ID P_40_406, SMIS 105542, Contract nr. 60/05.09.2016 având ca beneficiar ICCF București, fiind indicator de realizare pe proiect.

Bibliografie

1. Prof. Dr. Alexandru Dimirescu. *Dermatologie*, 2012, Editura Național, cod NAT978-973-659-217-1;
2. Ribeiro A.S., Estanqueiro M., Oliveira M.B., Lobo J.M.S. Main benefits and applicability of plant extracts in skin care products. *Cosmetics*, 2015, 2:48-65;
3. Pirvu L., Nichita C., Giuginca M., Meghea A. - Corelații structura-activitate antioxidantă a unor polifenoli de origine vegetală – *Rev Chim Bucharest*, 2007, 58(9): 914-917;
4. Nehir El S., Karakaya S. Radical scavenging and iron-chelating activities of some greens used as traditional dishes in Mediterranean diet. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2004, 55:67–74;
5. Tomoda M., Gonda R., Shimizu N., Yamada H. Plant mucilages. XLII. An anti-complementary mucilage from the leaves of *Malva sylvestris* var. *mauritiana*. *Chem Pharm Bull.* 1989; 37:3029-3032;
6. Gasparetto J.C., Martins C.A., Hayashi S.S., Otuky M.F., Pontarolo R. Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L.: a millennial herbal medicine. *J Pharm Pharmacol.*, 2012, 64, (2):172-89;
7. <https://www.paulaschoice.com/ingredient-dictionary/skin-soothing/malva-sylvestris-extract.html>
8. <http://www.thegoodscentscompany.com/data/ex1614451.html>
9. <http://jan.ucc.nau.edu/plants-c/bio414/species%20pages/malva%20neglecta.htm>
10. <http://www.thegoodscentscompany.com/data/ex1091241.html>
11. *Farmacopeea Romana*, Editia a X^a, Ed. Medicala, Bucuresti 1993;
12. Reikh E., Schibli A. *HPTLC for the Analysis of Medicinal Plants*, Thieme, N.Y. Stuttgart, 2008;
13. Wagner H., Bladt S. *Plant Drug Analysis*, Second Ed., Springer, Berlin, 1996.

REVENDICARI

1. Procedeu de obținere pentru un extract vegetal standardizat de uz cosmetic cu un conținut de 1 mg flavone totale exprimate în Rutin per 1 mL extract în solvent propilen glicol 50% (v/v), caracterizat prin aceea ca materia primă vegetală uscată și măcinată se extrage cu propilen glicol 50% (v/v) la temperatura camerei timp de trei zile consecutiv, cu câte o repriză zilnică de extracție accelerată pe baie de ultrasunete, urmată de separarea, analiza chimică și concentrarea extractului brut în compuși activi (prin re-extractia unei noi șarje de materie primă vegetală cu extractul provenit din prima extracție), până la atingerea unei concentrații ușor superioare (+5%) celei propuse pentru standardizare (1 mg flavone totale exprimate în rutin per 1 mL extract), separarea extractului intermediar rezultat și obținerea unui extract finit care se corectează dpdv al conținutului chimic cantitativ, pentru ca în final să se obțină un extract standardizat cu un conținut de 1 mg flavone totale exprimate în rutin per 1 mL extract în propilen glicol 50% (v/v).

2. Procedeu de obținere pentru un extract vegetal standardizat de uz cosmetic cu un conținut de 1 mg flavone totale exprimate în Rutin per 1 mL extract în solvent propilen glicol 50% (v/v), caracterizat prin aceea ca materia primă vegetală uscată și măcinată se extrage cu etanol 70 % (v/v), la temperatura camerei, timp de zece zile consecutiv, urmată de separarea, analiza chimică și concentrarea extractului brut în compuși activi (se realizează prin evaporarea solventului la vid), urmată de reluarea produsului spiss rezultat în propilen glicol 50% până la atingerea unei concentrații ușor superioare (+5%) celei propuse pentru standardizare (1 mg flavone totale exprimate în rutin per 1 mL extract), separarea extractului intermediar rezultat și obținerea unui extract finit care se corectează dpdv al conținutului chimic cantitativ, pentru ca în final să se obțină un extract standardizat cu un conținut de 1 mg flavone totale exprimate în rutin per 1 mL extract în propilen glicol 50% (v/v).

3. Procedeu de obținere pentru un extract vegetal standardizat de uz cosmetic cu un conținut de 1 mg flavone totale exprimate în Rutin per 1 mL extract în solvent propilen glicol 50% (v/v), caracterizat prin aceea că materia primă vegetală uscată și măcinată se extrage cu etanol 70 % (v/v), la temperatura de reflux a amestecului de extracție, timp de 1 oră, urmată de separarea, analiza chimică și concentrarea extractului brut în compuși activi (se realizează prin evaporarea solventului la vid), urmată de reluarea produsului spiss rezultat în propilen

glicol 50% până la atingerea unei concentrații ușor superioare (+5%) celei propuse pentru standardizare (1 mg flavone totale exprimate în rutin per 1 mL extract), separarea extractului intermediar rezultat și obținerea unui extract finit care se corectează dpdv al conținutului chimic cantitativ, pentru ca în final să se obțină un extract standardizat cu un conținut de 1 mg flavone totale exprimate în rutin per 1 mL extract în propilen glicol 50% (v/v).

FIGURI

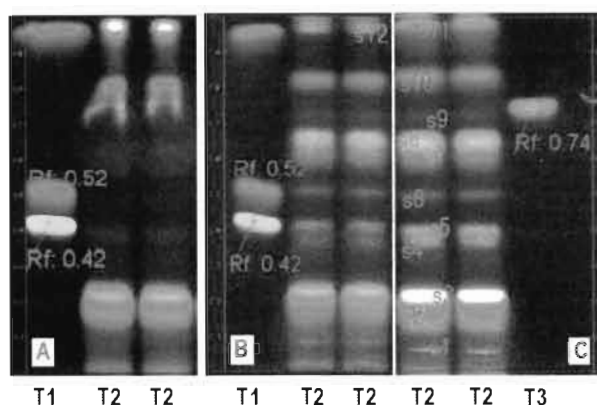


Figura nr. 1 - Compoziția chimică calitativă a extractelor de *M. sylvestris* în cele trei variante de extracție.

În care: Cromatograma A - Track T1 - substanțe de referință (Rutin/Rf~0.45, Acid clorogenic/ Rf~0.53,

Acid cafeic/Rf~0.96), Track T2 - extracte de nalbă de pădure în propilen glicol 50% varianta de extracție la temperatura camerei cu o repriză de extracție la ultrasunete (Varianta 1)/ probă duplicat; Cromatograma B - Track T1 - substanțe de referință (Rutin/Rf~0.45, Acid clorogenic/Rf~0.53, Acid cafeic/Rf~0.96), Track T2 - extracte de nalbă de pădure în etanol 70% varianta de extracție prin macerare la rece (Varianta 2)/ probă duplicat; Cromatograma C - Track T2 - extracte de nalbă de pădure în etanol 70% varianta de extracție la temperatură de reflux (Varianta 3)/ probă duplicat, Track T3 - substanțe de referință (Kaepferol-3-glucozida/Rf~0.74).

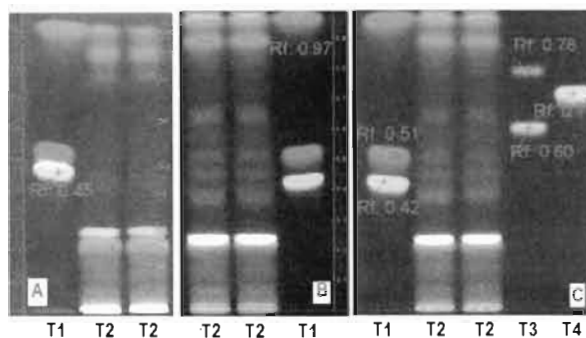


Figura nr. 2 - Compoziția chimică calitativă a extractelor de *M. neglecta* în cele trei variante de extracție.

În care: Cromatograma A - Track T1 - substanțe de referință (Rutin/Rf~0.45, Acid clorogenic/ Rf~0.53, Acid cafeic/Rf~0.96), Track T2 - extracte de nalbă mică în propilen glicol 50% varianta de extracție la temperatura camerei cu o repriză de ultrasunete (Varianta 1)/ proba duplicat; Cromatograma B - Track T2 - extracte de nalbă mică în etanol 70% varianta de extracție prin macerare la rece (Varianta 2)/ probă duplicat, Track T1 - substanțe de referință (Rutin/Rf~0.45, Acid clorogenic/ Rf~0.53, Acid cafeic/Rf~0.96); Cromatograma C - Track T1 - substanțe de referință (Rutin/Rf~0.45, Acid clorogenic/Rf~0.53, Acid cafeic/Rf~0.96), Track T2 - extracte de nalbă mică în etanol 70% varianta de extracție la temperatură de reflux (Varianta 3)/ probă duplicat, Track T3 - substanțe de referință (Hiperozida/Rf~0.62, Quercitrin/Rf~0.80), Track T4 - substanțe de referință (IzoQuercitrin/Rf~0.71).