



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2011 01121**

(22) Data de depozit: **08/11/2011**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/01/2018** BOPI nr. 1/2018

(41) Data publicării cererii:
29/06/2012 BOPI nr. 6/2012

(73) Titular:
• **INSTITUTUL DE CERCETĂRI ȘI
AMENAJĂRI SILVICE, BD.EROILOR
NR.128, VOLUNTARI, IF, RO**

(72) Inventatori:
• **ȚULUCA ELISAVETA,**
*STR.FRAȚII FĂGĂRĂȘANU NR.38,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;*
• **BIRIȘ IOVU- ADRIAN,** *STR.VIDIN NR.12,
BL.58 BIS, SC.A, ET.3, AP.13, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, RO;*
• **PASĂRE LILIANA VIORICA,**
*ȘOS.IANCULUI NR.19, BL.106 B, SC.A,
ET.1, AP.8, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B,
RO;*

• **LAZURCĂ DUMITRU,**
*BD.GEORGE MOROIANU NR.176,
SĂCELE, BV, RO;*
• **ȘERBĂNESCU OCTAVIAN-VALENTIN,**
*STR.IZVORUL OLTULUI NR.2, BL.25, SC.A,
ET.3, AP.12, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,
RO;*
• **VOICULESCU ION,** *ȘOS.ȘTEFĂNEȘTI
NR.128, VOLUNTARI, IF, RO;*
• **LECA LAURA ANDREEA,**
*STR.SLT.PETRE IONEL NR.5, BRĂNEȘTI,
IF, RO*

(56) Documente din stadiul tehnicii:
**RO 104368; RO 115599 B1;
RO 99-00414 A; RO 123136 B1**

(54) **CONCENTRAT NUTRACEUTIC FLAVONOIDIC,
CU POTENȚIAL REVIGORANT ȘI ANTIVIRAL,
ȘI PROCEDU DE OBTINERE A ACESTUIA**



RO 127493 B1

1 Invenția se referă la un concentrat nutraceutic flavonoidic, cu potențial revigorant și
antiviral, și la un procedeu de obținere a acestuia. Invenția se referă la obținerea flavo-
3 noidelor și a acizilor fenolcarboxilici din resurse primare, ușor accesibile, cu o largă răs-
pândire în flora spontană, cu înalt potențial antioxidant, și cu potențial bioprotectiv com-
5 plementar, reprezentativ pentru structurile de tip flavonoidic: de imunomodulare, antiinfla-
mator, antidiabetic, antiviral, protectiv cardiovascular și hepatoprotectiv.

7 Din cele mai vechi timpuri s-au dezvoltat practici empirice de revigorare și energizare,
bazate pe surse foliare dintre cele mai diverse. Efectele benefice, deși evidente, au fost mai
9 puțin exploatate sub aspectul identificării prezenței și structurii compușilor bioactivi.

11 Bioflavonoidele reprezintă o componentă de prim rang în potențarea acțiunilor
sanogene, fiind răspândite în frunze, flori și fructe, în prezent fiind individualizați peste 4000
13 de compuși cu această structură. Cele mai cunoscute bioflavonoide sunt luteolina, mircitina,
quercitina, naringenina, izorhamnetinul, galanginul, apigenina, kaempherolul, vitexinul etc.

15 Efectele bioprotective ale bioflavonoidelor se axează prioritar pe capacitatea
antioxidantă, respectiv, pe capacitatea de contracarare a speciilor radicalice reactive ale
17 oxigenului „R.O.S.” și ale azotului „R.N.S.”, precum și ale unor radicali nocivi, proveniți din
poluanții ambientali. Aceste specii nocive în exces nu mai pot fi anihilate prin reacțiile
19 normale de apărare a organismului, în special în etapele fiziologice în care activitatea unor
enzime ca superoxidismutaza sau glutatation peroxidaza înregistrează scăderi pe parcursul
înaintării în vârstă.

21 Medicina ayurvedică s-a bazat, cu precădere, pe extractele din frunze de cătină,
23 pentru retardarea fenomenelor de îmbătrânire. În prezent este dovedit științific faptul că în
frunzele de cătină, nu în fructele acesteia, se acumulează cel mai înalt nivel de
bioflavonoide. Acest aspect a fost confirmat și pentru frunzele altor specii de arbuști și arbori,
25 întrucât fructele prezintă per total un raport mai mare în glucide în substanța uscată, față de
frunze. Pe de altă parte, fructele sunt mai scumpe și pot fi recoltate numai în perioade
27 restrânse de timp, comparativ cu frunzele.

29 Lucrări științifice recente fundamentează în prezent importanța bioflavonoidelor ca
agenți naturali antioxidanți cu eficacitate antiradicalică deosebită. Lipsa nivelurilor
corespunzătoare de bioflavonoide din hrana zilnică afectează funcțiile locomotorii și ale
31 neurotransmițătorilor, însoțite de degradarea mitocondriilor și de minimizarea aportului
energetic la nivelul celulelor neuronale. **Amanda Lynn Perkins, 2005, “Testing the
33 Possible Synergistic Effects of a Combination of Ginkgo Biloba and R-[alpha]-lipoic
Acid on Morris Water Maze Performance in Middle-aged Mice”, University of Southern
35 Mississippi, Department of Biological Sciences, p. 38,** demonstrează eficiența
suplimentelor alimentare ce conțin bioflavonoide provenite din extractele de Ginkgo biloba
37 și din afin, în scăderea nivelului colesterolului seric, efectul benefic în această direcție
necesitând doze zilnice de 30 mg.

39 Frunzele arborelui Ginkgo biloba prezintă interes și sub aspectul unor însușiri puse
recent în evidență, respectiv, al identificării acidului Ginkgolic, care, conform cercetărilor
41 japonezi (**Isao Fukuda, Akihiro Ito, Go Hirai, Shinichi Nishimura, Hisashi Kawasaki,
Hisato Saitoh, Ken-ichi Kimura, Mikiko Sodeoka, Minoru Yoshida, 2009, “Ginkgolic
43 Acid Inhibits Protein SUMOylation by Blocking Formation of the E1-SUMO
Intermediate”, Chemistry and Biology, 16, 2:133-140**), demonstrează potențialul acestui
45 compus de inhibare a tumorigenezei, prin blocarea unui complex intermediar în modificarea
posttranslațională a proteinelor (SUMOs), respectiv, printr-o largă varietate de procese
47 biologice, ca, de exemplu, semnalizarea intracelulară, expresia genelor și controlul ciclului
celular.

RO 127493 B1

Vegetalele menționate, respectiv, frunzele de Ginkgo biloba, frunzele de zmeur, de păducel și năpraznic, alături de conținutul în bioflavonoide, care constituie baza de selectare pentru obținerea produsului conform procedurii invenției, includ în componența lor compuși naturali deosebit de importanți în potențarea protecției antioxidante, respectiv, acizii fenolcarboxilici cumaric, siringic, galic, elagic, cafeic, ferulic etc. Prezintă interes deosebit acidul elagic, cu puternice însușiri antivirale.	1
În procedeul conform invenției se urmărește utilizarea resurselor menționate, în sensul disponibilizării avansate a compușilor prioritari pentru efectul fitoterapeutic, comparativ cu utilizarea resurselor în mod tradițional.	3
Utilizările tradiționale se axează pe extracția realizată sub formă de infuzii, sau încapsularea pulberilor, ca atare sau în formă de macerate și/sau decocturi.	5
În toate aceste tipuri de prelucrare tradițională, alături de compușii bioflavonoidici se solubilizează nediferențiat și alți compuși fără relevanță sau cu relevanță redusă sub aspect bioprotectiv. Sub acest aspect se mai adaugă și faptul că, pentru a realiza solubilizarea direct din matricea vegetală, în cazul infuziilor sau a decocturilor, se impune un raport între biomasa organică și extractant (în majoritatea cazurilor apă), care se situează la valori înalte de 1:50...1:25, respectiv, 5...10 g pulbere uscată din structurile foliare la 250 ml apă. În acest caz, concentrația finală per unitatea de volum este foarte mică. De exemplu, considerând cazul unui substrat cu un conținut de 1500 mg bioflavonoide/kg, concentrația bioflavonoidelor la diluția de 1:50 ar reprezenta aproximativ valori de numai 7,5 mg/ml.	7
Pe de altă parte, și în extractele fluide globale, de obicei hidroetanolicе, raportul substrat:extractant se cifrează la valori cuprinse în intervalul 1:5...1:10, rezultând concentrații mai mari, dar și în acest caz este necesar să fie ingerate cantități importante pentru atingerea dozelor eficiente de bioprotecție, iar extracția nu este nici în acest caz selectivă, antrenându-se în extract și alți componenți cu mai puțină importanță în efectele de stopare și contracarare a speciilor radicalice.	9
În prezent, orientarea prioritară asupra flavonoidelor vizează definirea interrelațiilor dintre stereostructură și potențialul de implicare a acestora în promovarea efectelor benefice asupra sănătății pe multiple paliere de interes. Autorii demonstrează că acțiunile sanogene ale flavonoidelor, de exemplu, activitatea antioxidantă, cea antiinflamatoare, antitumorală, hepato și cardioprotectivă, antivirală, anxiolitică, sedativă etc., depind de numărul grupărilor active și poziționarea acestora în structura flavonoidică de bază.	11
Poziționarea substituenților în inelul benzenic (A), în inelul piranic (C) și în al doilea inel benzenic (B), respectiv, localizarea substituenților glicozidici, așezarea grupărilor hidroxilice și numărul acestora condiționează efectele terapeutice. Astfel, deși structura de bază este menținută integral, eficiența utilizării extractelor flavonoidice prezintă o mare variabilitate, în funcție de resursa primară în care sunt integrate. De exemplu, dacă se urmărește un anumit efect sanogen, cum ar fi efectul hepato-protectiv sau antiviral, se au în vedere resursele primare de flavonoide care prezintă structura adecvată pentru aceste însușiri. Pe de altă parte, se ia în considerare, pentru diferitele structuri compoziționale flavonoidice, concentrația la care aceste specii moleculare produc efecte de inhibiție, aspect cuantificat prin entitatea IC_{50} , respectiv, concentrația exprimată în micrograme/mililitru sau micromoli/gram la care se obține un nivel de inhibiție de 50%. Autorii menționați exemplifică unele tipuri de corelații structurale/tip de resursă primară/ IC_{50} după cum urmează: din frunzele de <i>Cymbopogon citratus</i> s-au izolat flavonoidele isoorientin și orientin, cu capacitatea antioxidantă exprimată (IC_{50}) de 31 micromoli, respectiv, IC_{50} de 38 micromoli, mai mare decât a vitexinului și a izovitexinului, respectiv, IC_{50} de 129 micromoli, și de 325 micromoli pentru izovitexin. Diferența capacității antioxidante la structura de bază flavonoidică depinde în acest caz de numărul grupărilor hidroxil din inelul (B).	13
	15
	17
	19
	21
	23
	25
	27
	29
	31
	33
	35
	37
	39
	41
	43
	45
	47
	49

RO 127493 B1

1 Efectele hepatoprotective s-au evidențiat pentru flavoidele extrase din *Montanov*
2 *bipinnatifida*; glicozilflavonoide ai căror agliconi sunt reprezentați de luteolină și apigenină.
3 Au fost izolate, de asemenea, patru C-glicozide trizaharidice din ceaiul verde cu un efect
4 similar de protecție a ficatului. Din *Susa borealis*, prin extracție în BuOH, s-a obținut o
5 flavonoidă cu efect protectiv asupra celulelor HepG₂, la o concentrație foarte scăzută, de
6 numai 1,1...0,8 micromoli.

7 Extractul flavonoidic în etanol din *Lespedeza spp.*, în doze de numai 20 μg/ml, reduce
8 semnificativ toxicitatea față de factorii stresanți a celulelor HepG₂.

9 Extractul flavonoidic din *Dendrobium spp.* (fam. *Orchidiaceae*), fracțiunea solubilă în
10 etanol și metanol, poate inhiba expresia factorului de necroză al tumorilor (TNF-α) și a altor
11 cytokine inflamatoare generate de către lipopolizaharide (LPS), la niveluri ale IC₅₀ de
12 18,5 micromoli. Analizele au indicat că prezența grupărilor glicozil îmbunătățește activitatea
13 antiinflamatorie.

14 Extractele din *Selaginella spp.* (fam. *Selaginellaceae*), la niveluri de 12,5...50 μg/ml
15 a IC₅₀, indică o inhibiție moderată a enzimei COX₂. Dintr-o specie de afine tropicale au fost
16 izolate flavonoide cu potențial de inhibare a interleukinei 8 (IL-8) și a matrixmetaloproteinazei
17 - 1 (MMP₁) cu activitate inhibitorie de 100 μg/ml. Se acționează prin inhibiția enzimelor COX₂
18 și a INOS. Mecanismele antiinflamatoare ale C-glicozilflavonoidelor sunt dependente de
19 grupul glucozil și de hidroxilii din pozițiile 3' și 4' ale inelului B.

20 Extractele naturale din *Pueraria lobata*, din boabe de fasole mung, fasole neagră și
21 soia prezintă o eficacitate de 85% la niveluri de 100 micromoli. Apigenin-6-C fucopiranozida,
22 izolată din *Oxalidaceae*, indică abilitatea de a reduce glucoza în sânge și de a îmbunătăți
23 secreția insulinei. De asemenea, stimularea *in vivo* a secreției de insulină s-a evidențiat și
24 prin C-glicozilflavonoide (vitexin-2'-O-glucozidă și vitexin-2'-O-rhamnozidă) izolate din frunzele
25 de păducel. În extractele respective s-a evidențiat o înaltă capacitate de inhibare a
26 α-glucozidazei, mai importantă ca a unor medicamente de sinteză.

27 Din scoarțele de *Ulmus spp.* s-au extras 6-C-flavonoidglucozide care stimulează
28 semnificativ osteoblastele, respectiv, activitatea osteogenică și a fosfatazei alcaline,
29 activitatea fiind influențată de poziționarea substituenților. Flavonoidele 6-C-glucozidice cu
30 tipuri de stoichiometrie 2S și 3S sunt cele mai importante pentru promovarea densității
31 osoase.

32 Brevetul **US 8394860 B2**, "**Methods and related compositions using**
33 **specific flavonoids and indanes to reduce weight and inhibit lipase, α-amylase and**
34 **α-glucozidase activity in mammals**" (Julius Enyong Oben, 2013), se referă la
35 capacitatea de inhibare a unor enzime ca lipaza, α-amilaza și α-glucozidaza prin aportul
36 unor flavonoide și indani, rezultând o scădere semnificativă în greutate. Procedul de
37 disponibilizare a acestor flavonoide din frunzele de *Cissus quadrangularis L.*, inițiat de autori,
38 se referă la extracția în etanol apos de 50%, timp de 24 h, la un raport de 2,3:10/frunze
39 deshidratate/etanol de 50%, filtrare și purificare pe o coloană cationică de schimbători de ioni
40 de 50H⁺, care nu reține compușii de inhibiție ai enzimelor, eluată consecutiv cu soluție de
41 metanol de 25% și de acetone de 10%. Frațiunea acetonică se trece pe o coloană de silice
42 KP-Sil⁷⁵⁸, care se eluează diferențiat cu heptan în acetat de etil în cinci fracțiuni în gradient
43 de concentrație a heptanului, respectiv, în raportul de hexan/acetat de etil, niveluri de 75%,
44 50%, 25% heptan în acetat de etil, 100% acetat de etil și 95% acetat de etil în metanol. Se
45 evaluează nivelul de inhibiție al fracțiunilor rezultate asupra enzimelor menționate anterior.

RO 127493 B1

Compușii flavonoidici activi, obținuți prin procedeul descris, au fost reprezentați de flavonoide ca 0-glicozilquercitină și 3-0'-rhamnopiranozikaemperol. Dozele eficiente de inhibare enzimatică sunt cuprinse în intervalul 10...400 mg zilnic, cantitatea efectivă recomandată fiind de 50...200 mg/zi. 1
3

În brevetul **US 8535735 B2** - "**Identification of free-B-ring flavonoids as potent COX-2 inhibitors**" (Qi Jia, Timothy C. Nichols, Eric E. Rhoden, Scott Waite, 2013), se demonstrează efectul de inhibiție asupra enzimei COX₂ (ciclooxygenaza 2), implicată în inflamații, a flavonoidelor în care inelul B este liber de substituenți. Sursa preferențială în acest caz este reprezentată de extractele organice din rădăcina de *Scutellaria baikalensis*, flavonoidele identificate fiind Baikalein și Galangin. Din 1230 resurse vegetale de bioflavonoide au fost selectate 625 pentru teste specifice și selective de inhibare a ciclooxygenazei COX₂. Extracția flavonoidelor s-a realizat din tulpini, scoarțe, rădăcini, lujeri, semințe, rizomi, frunze, flori. Structurile vegetale uscate și mărunțite s-au extras cu solvenți organici metanol:diclormetan în raport de 1:1, în două reprize consecutive. Extractele organice s-au reunit și solvenții s-au evaporat, rezultând extractul organic. După extracția în solvenți organici, biomasa a fost uscată la aer și extrasă consecutiv cu apă ultrapură. Soluția apoasă a fost filtrată și uscată menajant, pentru a obține extractul apos. Cele două extracte s-au testat diferențiat pentru determinarea nivelului de inhibiție asupra enzimelor COX₂ și COX₁ definite prin indicii IC₅₀. Pentru enzima COX₂ valoarea IC₅₀ a fost reprezentată de niveluri situate la 6...50 μg/ml. IC₅₀ pentru enzima COX₁ s-a situat la valori de 7...80 μg/ml. S-a demonstrat că valorile IC₅₀ de inhibiție a COX₂ și COX₁ sunt variate pentru fiecare tip de resursă și de enzimă. Ulterior, extractele pot fi încorporate pe un substrat natural cu rol de transport. Inhibiția COX₂ reprezintă o modalitate dezirabilă de prevenire a cancerului și de tratament al unor grave afecțiuni, ca artrita reumatoidă, lupus eritematos, inflamații intestinale, uremie, osteoartrite. Dozele zilnice de inhibiție se apreciază la 100...200 mg/kg corp. Activitatea de inhibiție a COX₂ este predominantă în extractul organic ce conține cele mai multe flavonoide cu polaritate medie. 5
7
9
11
13
15
17
19
21
23
25
27

În brevetul **US 8551537 B2**, "**Rhus verniciflua stokes extract having increased content of active flavonoid compound and method for preparing same**" (Sang-Jae Park, Kyung-Hee Kim, Myung-Jae Shin, Sang-Seok Lee, Byung-Sik Kang, Won-Cheol Choi, Sung-Pil Kwon, Less, 2013), se prezintă un procedeu extractiv al unor flavonoide din *Rhus verniciflua*, respectiv, din frunzele deshidratate, cu o concentrație importantă în fustin și fistein. Se au în vedere extracte prin care poate fi îmbunătățită circulația sanguină, aciditatea excesivă, cu utilizări în constipații, diabet, artrite, dureri menstruale, stomacale etc., iar mai nou ca preventiv anticancerigen, incluzând, de asemenea, un lot important de compuși antioxidanți. Extractele etanolice purificate pe o coloană de silice prezintă abilități de inhibare a tumorilor umane, precum și efecte antiobezogene. Extractanții includ apă și alcool, metanol, etanol, propanol, butanol, dar și acetonă, eter, benzen, cloroform, acetat de etil, hexan, acid clorhidric, acid acetic, acid formic, acid citric. O particularitate a procedurii se referă la transformarea fustinei cu un efect bioactiv mai scăzut în fisteină, care prezintă activități antioxidante și anticancerigene superioare. Această conversie se realizează printr-un procedeu de barbotare cu gaz în soluția de fustină. Pentru barbotare se utilizează oxigen de înaltă puritate (minimum 90%), durata de barbotare fiind cuprinsă în intervalul 5...12 h. Se realizează prin această metodă o proporție fisteină:fustină de două ori mai mare. Procedul vizează obținerea unui aliment funcțional din *Rhus verniciflua*, eficient în prevenirea cancerului sau pentru ameliorarea simptomelor canceroase. 29
31
33
35
37
39
41
43
45

RO 127493 B1

1 După cum rezultă din cercetările ultimilor ani, efectele și beneficiile sanogene ale
flavonoidelor prezintă un spectru extins al aplicațiilor potențiale, dependent de
3 amplasamentul și numărul grupărilor funcționale în inelele A, B și C, de substituie a
glicozidelor la atomul de carbon sau la atomul de oxigen în inelul C, sau de poziția în care
5 inelul B se leagă de inelul C, sau dacă inelul B este substituit sau este liber de substituenți.
S-a demonstrat că efectele fitoterapeutice sunt corelate stereostructural cu amplasarea și
7 numărul substituenților în inelele A, B și C, care pot prezenta variații după cum urmează:

i) numărul și natura substituenților din inelele A și B;

9 ii) legarea grupărilor glicozil la carbonul sau oxigenul din inelul C (tip catechinic sau
flavonoidic);

11 iii) legarea inelului B în poziția flavonoidică sau izoflavonoidică a inelului C;

iv) inelul B lipsit de substituenți.

13 Efectele fitoterapeutice ale flavonoidelor dependente de amplasamentele
stereostructurale pot fi maximizate și orientate în direcții prioritare, ca, de exemplu:

15 i) bioprotecție maximizată, de tip antioxidant în mediu hidrofilic;

17 ii) inhibarea inflamațiilor prin acțiunea lipooxigenazei (5-LOX) și asupra citokinelor
IL-18, NF_κB;

iii) protecția cardiovasculară și de optimizare a microcirculației sanguine.

19 În practicile empirice autohtone, extractele de păducel au reprezentat din timpuri
străvechi un remediu pentru ameliorarea afecțiunilor cardiovasculare și de stopare a
21 inflamațiilor, sub formă de infuzie sau decocturi.

În prezent, se consideră că însușirile de bază ale flavonoidelor converg în direcția
23 capacității înalte de bioprotecție antioxidantă, prioritar a stopării speciilor reactive ale
oxigenului (R.O.S.) de natură exogenă sau endogenă. Excesul radicalilor liberi ai oxigenului
25 (anionul superoxid sau oxigenul singlet), care nu mai pot fi stopați de către enzimele proprii
ale organismului, reprezintă principala cauză de degradare a genomului uman, generând
27 apariția cancerelor și a bolilor degenerative.

Pe cale de consecință, capacitatea antioxidantă a unui extract flavonoidic, alături de
29 conținutul individualizat al flavonoidelor din extractele hidrofilice, poate constitui un criteriu
de apreciere a valorii nutraceutice a diferitelor extracte, respectiv, a nivelului de optimizare
31 și eficiență ale procedeele utilizate pentru solubilizarea nedistructivă și concentrarea
flavonoidelor într-un preparat cu potențial bioprotectiv. Criteriile de comparare între remediu
33 farmaceutic de largă circulație în prezent, cu denumirea generică DETRALEX (Franța), și
extractul concentrat de păducel, obținut din structurile vegetale ale păducelului, se pot
35 justifica pe baza următoarelor similitudini:

i) firmele multinaționale cu impact major pe piața nutraceuticelor, de exemplu,
37 NATACTIV (SUA-Singapore), comercializează un extract concentrat din păducel
standardizat la un nivel de 1,8% flavonoide, reprezentat de vitexin și/sau din păducel cu
39 95...97% hesperidină;

41 ii) aceleași extracte din păducel, standardizate pentru 1...3% vitexin sau 96%
hesperidină, sunt comercializate și de firmele Theraplant (SUA) și Gonmisol (Spania).

43 Analiza structurilor vegetale deshidratate a extractelor hidrofilice brute și a extractelor
concentrate provenite din păducel autohton a evidențiat un nivel înalt al conținutului global
în flavonoide, cu precădere în vitexin, respectiv, la niveluri de 6742 mg/kg.

45 Întrucât extractul etanolic din păducel la un nivel de 80% etanol prezintă o capacitate
de inhibare integrată pentru toate structurile flavonoidice solubilizate, există posibilitatea ca,
47 alături de vitexin, să coexiste și hesperidina în extractul fluid, întrucât, conform cataloagelor
firmelor menționate, păducelul reprezintă resursa primară de obținere și concentrare a
49 hesperidinei.

RO 127493 B1

Pe de altă parte, cercetările recente atribuie resurselor flavonoidice reprezentate de vitexin un înalt potențial de protecție antioxidantă la niveluri ale IC_{50} de 129 micromoli pentru vitexin, și de 325 micromoli pentru isovitexin. 1
3

De menționat că nivelul capacității antioxidante este determinat mai ales de poziția grupărilor hidroxil din inelul B. În general activitatea antioxidantă este corelată cu nivelul total al fenolilor. 5

Problema propusă spre rezolvare prin invenție o reprezintă disponibilizarea avansată a flavonoidelor și a acizilor fenolcarboxilici din resurse primare, ușor accesibile, cu o largă răspândire în flora spontană, cu înalt potențial antioxidant și cu potențial bioprotectiv complementar, reprezentativ pentru structurile de tip flavonoidic - de imunomodulare, antiinflamator, antidiabetic, antiviral, protectiv cardiovascular și hepatoprotectiv. 7
9
11

Concentratul nutraceutic flavonoidic, cu potențial revigorant și antiviral, conform invenției, constă în aceea că structurile foliare de păducel, zmeur, ginkgo și năpraznic, extrase în etanol de 80% v/v, concentrate prin ultrafiltrare pe membrane și încorporate pe maltodextrine, se prezintă sub formă de comprimate de 5 g, cu o umiditate de 10...12%, cu un conținut în agliconi fenolici de 18,2...37,05 mg/comprimat, și un conținut în acid elagic de 31,44...53,5 mg/comprimat, un conținut total în compuși bioactivi antioxidanți de 68,4...71,7 mg/comprimat, având o capacitate antioxidantă de 986 micromoli Trolox/g produs, și un înalt potențial bioprotectiv în mediu hidrofilic. 13
15
17
19

Procedeele de obținere a concentratului flavonoidic, cu potențial revigorant și antiviral, conform invenției, constă în aceea că biomasa foliară recoltată pe vreme favorabilă se separă de impuritățile organice și minerale, se spală prin pulverizare cu apă și se scurge pe o sită, se usucă pe un uscător în trepte, prin ventilație graduală, se macină într-o moară cu micronizarea la dimensiuni de 40 meshi, se supune unei extracții printr-o macerare prealabilă într-un recipient cu agitare intermitentă, urmată de extracția într-un extractor cu șocuri de presiune și percolare la 8 bari, timp de 2,5...4 h, la temperatura mediului ambiant, cu adaos de 0,5% acid ascorbic, dispersia vegetală rezultată este presată într-o presă cu șnec, și apoi separată într-un separator centrifugal, extractul se dirijează spre o instalație de concentrare prin filtrare pe membrane cu dimensiuni ale porilor de 200...400 Daltoni, la 1,5...3 bari, retentatul rezultat după microfiltrare se distilează în vid la 45°C, concentrarea realizându-se în funcție de preferințele de utilizare, la niveluri ale conținutului în s.u. de 5...92%, după care extractul se trece în instalația de dozare și ambalare, în cazul utilizărilor în formă fluidă, în flacoane de 25...50 ml. 21
23
25
27
29
31
33

Extractul concentrat cu un conținut în s.u. mai mare de 50% se poate trece într-un omogenizator dacă produsul se preferă a se utiliza sub formă de gelule sau comprimate, pe suport de maltodextrine sau celuloză microcristalină. 35

În varianta în care se procesează frunzele de păducel și de zmeur, rezultă comprimate a 5 g, cu nivel mediu al bioflavonoidelor de 37 mg/comprimat, și cu nivel mediu al acidului elagic de 31,4 mg/comprimat, în total 68,4 mg compuși bioactivi/5 g produs. 37
39

În cazul variantei de prelucrare a frunzelor de Ginkgo biloba și năpraznic, nivelul mediu al flavonoidelor pentru 5 g este de 18,2 mg/comprimat, și al acidului elagic de 53,5 mg/comprimat, în total 71,7 mg, la care se mai adaugă un conținut variabil de terpene, la care se mai adaugă un conținut variabil de terpene lactone. 41
43

Avantajele invenției în raport cu stadiul actual al tehnicii sunt:

- produsul este constituit prin extracția solvolică a unor resurse foliare ce prezintă un cumul de flavonoide, deopotrivă C-glicozilflavonoidice și O-glicozilflavonoidice, respectiv, vitexin, quercitină, kaempferol, apigenină și izorhamnetin, astfel că, alături de acțiunea prioritar bioprotectivă de tip antioxidant, acumularea diferitelor flavonoide într-un singur produs concentrat poate prezenta și însușiri antiinflamatoare, antidiabetice, bioprotective pentru celulele hepatice, și bioprotective cardiovasculare; 45
47
49

RO 127493 B1

1 - prezența unor concentrații mari de acizi fenolcarboxilici, respectiv, acid elagic, acid
galic, acid cafeic, compuși cu înalt potențial antioxidant, mărește sinergic, alături de
3 flavonoide, eficiența de inhibare a speciilor radicalice nocive de origine endogenă sau
exogenă;

5 - concentrarea prin membrane filtrante, cu dimensiuni ale porilor adecvate cu masa
moleculară a flavonoidelor și a acizilor fenolcarboxilici, a permis o concentrare menajantă
7 la temperatura mediului ambiental;

9 - selectarea resurselor este orientată spre structuri foliare, care, pe de o parte pot fi
recoltate și condiționate consecutiv prelucrării pe tot cuprinsul anului, și prezintă avantaje
față de obținerea flavonoidelor din resurse cu un preț de cost mai ridicat, cum ar fi fructele
11 de pădure sau alte resurse vegetale mai puțin accesibile;

13 - extracția din resursele primare s-a realizat cu un extractant organic alimentar (etanol
de fermentație), concentratul flavonoidic final nu a mai necesitat fracționări complementare
de purificare, randamentele extractive fiind convenabile, iar integrarea pe suport de
15 maltodextrine oferă produselor flavonoidice stabilitate îndelungată în timp, sub formă de
comprimate tabletate de 5 g;

17 - întrucât evaluarea conținutului în flavonoide s-a realizat pentru agliconii ca atare (nu
pentru formulele glicozidate care măresc considerabil nivelul procentual), comparativ cu
19 produse similare în care conținutul în agliconii fenolici (ca atare) se situează la valori de
numai 0,5...2 mg/doză zilnică, produsul obținut conform procedurii invenției reprezintă un
21 potențial relevant și complementar ca însușiri sanogene.

Pe scurt, procedeul cuprinde următoarele etape:

23 - recoltarea și condiționarea unor resurse foliare cu largă răspândire, accesibile pe
o perioadă mai largă de prelucrare decât a fructelor;

25 - extracția menajantă, cu etanol de 80% cu adaos de antioxidant acid ascorbic de
0,5 %, într-un extractor la temperatura mediului ambiant, acționat prin percolare și șocuri de
27 presiune la 8 bari, pe o durată de 2,5...4 h;

29 - separarea fluidului de dispersia vegetală printr-o presă cu șnec și un separator
centrifugal;

31 - extractul brut se dirijează spre instalația de filtrare și concentrare prin membrane
cu dimensiuni ale porilor de 200...400 daltoni, acționat la o presiune de 1,5...3 bari;

33 - se concentrează flavonoidele și acizii fenolcarboxilici, se îndepărtează zaharurile
fermescentibile și moleculele solubilizate cu greutate moleculare mai mari, care ar putea
afecta stabilitatea în timp a produsului fluid;

35 - rezultă o fracțiune fluidă reținută prin microfiltrare, iar retentatul se distilează în vid,
pentru a îndepărta total sau parțial extractantul, și pentru obține o fază fluidă concentrată,
37 cu un conținut înalt în compuși antioxidanți hidrofili, care poate fi dozată ca atare în
recipiente de sticlă de culoare închisă, și depozitată anterior comercializării la temperaturi
39 cuprinse în intervalul 4...10°C. Concentratul flavonoidic fluid poate fi produs sub formă
pulverulentă, prin încorporare pe suport de maltodextrine în proporție de 2:3, care poate fi
41 ulterior comprimat sub formă de tablete de 5 g. Conținutul total de compuși bioactivi
flavonoidici și acizi fenolcarboxilici cu înalt potențial antioxidant se prezintă la niveluri de
43 68,4...71,7 mg/5 g comprimat.

Exemplul 1

45 O cantitate de 500 g frunze de păducel, condiționate prin spălare și uscare
menajante, cu un conținut mediu în celuloză brută de 12,2% și un conținut în proteină brută
47 de 16,2%, cu un conținut mediu global de agliconi flavonoidici de 7817 mg/kg s.u., se
introduc într-un recipient adecvat pentru o macerare inițială cu 4 l de etanol de 80% v/v,
49 acidulat cu 0,5% acid ascorbic. Extracția s-a realizat într-un miniextractor automatizat prin
percolare și șocuri sub presiune la 8 bari, pe o durată de 3 h. Dispersia vegetală s-a presat
51 și s-a centrifugat 20 min, la 2500 rot/min.

RO 127493 B1

Extractul fluid se transvazează în miniechipamentul de filtrare cu membrană, cu o dimensiune a porilor de 200...400 Daltoni, la o presiune de 1,5 bari, cu o viteză de filtrare de 444,5 l/m²/h. Retentatul rezultat este constituit din structuri care se încadrează în limitele greutateilor moleculare de 200...400 Daltoni, reprezentativă pentru bioflavonoide și acizi fenolcarboxilici. Monozaharidele prezintă greutatea moleculară mai mari de 200 Daltoni, iar oligomerii carbohidraților din categoria pectinelor și a fibrelor solubile prezintă greutatea moleculară mai mari de 400 Daltoni. Extractul brut a prezentat niveluri ale capacității antioxidante de 493 micromoli echivalenți TROLOX/ml (metoda ABTS), iar după concentrarea prin membrane, nivelul capacității antioxidante practic s-a dublat. De asemenea, s-a dublat nivelul flavonoidelor care, anterior concentrării, va reprezenta o medie de 6742 mg/kg kaempherol. În final nivelul global al flavonoidelor, raportat la cantitatea de substanță uscată, s-a cifrat la valori cuprinse în intervalul 9000...11000 mg/kg. Conform aceleași etape de procesare, s-au procesat și 500 g pulbere uscată din frunze de zmeur cu un conținut mediu inițial de bioflavonoide de 294 mg/kg quercetină, 2140 mg/kg de kaempherol și un conținut de acid elagic de 9433 mg/kg.

Extractele de păducel și de zmeur s-au reunit și s-au încorporat pe maltodextrină, după îndepărtarea reziduului apos, cu umidități cuprinse în intervalul 60...75%. Extractele fluide inițiale, după îndepărtarea reziduului insolubil, au prezentat concentrații în substanță uscată la valori de 3...5,5%. Etanolul s-a îndepărtat prin distilare la 45°C, iar extractele concentrate au prezentat un conținut în substanță uscată de 22...25%, și s-au încorporat prin omogenizare pe substraturi pulverulente de maltodextrină cu un adaus de 1% stearat de zinc, pentru a facilita obținerea de comprimate.

Concentratul dispersat în pulberea de maltodextrină a prezentat umidități de 10...12%, ceea ce a permis porționarea în comprimate într-un echipament de tabletare, obținându-se minitablete cu o greutate de 5 g. Conținutul în agliconi flavonoidici, în cazul prelucrării frunzelor de păducel și de zmeur, a fost de 37,05 mg/comprimat și de acid elagic de 31,44 mg/comprimat, total 68,4 mg/comprimat compuși bioactivi. Din prelucrarea a 1000 g frunze uscate (în proporții egale) de frunze de păducel și de zmeur, prin încorporare pe maltodextrine, s-au obținut 60 de comprimate a 5 g.

Exemplul 2

Produsul nutraceutic concentrat de bioflavonoide se constituie din frunzele de Ginkgo biloba și din frunzele de năpraznic (*Geranium robertianum*).

Frunzele de Ginkgo biloba prezintă un conținut mediu în flavonoide de 2892 mg/kg, compus din 818 mg/kg quercetină, 1632 mg kaempherol, 363 mg apigenină și 79 mg/kg izarhamnetin.

Frunzele de năpraznic prezintă un conținut mediu global în bioflavonoide de 6524 mg/kg, compus din 1932 mg/kg quercetină și 4592 mg/kg kampherol, precum și un conținut în acid elagic mediu de 16072 mg/kg.

Produsul a fost realizat din cantități egale de frunze de Ginkgo biloba și din frunze de năpraznic (respectiv, câte 500 g pulbere foliară uscată din fiecare).

Procesarea s-a realizat în etape identice, suplimentare efectelor energizante antioxidante și antivirale, potențate de bioflavonoide și de acidul elagic. Extractia solvolică a frunzelor de Ginkgo biloba s-a realizat și în direcția disponibilizării avansate a terpenolactonelor, foarte importantă pentru stimularea capacităților cognitive și a microcirculației cerebrale. Frunzele de Ginkgo biloba, extrase în etanol de concentrație 80%, conform exemplului 1, se presează, și se efectuează o a doua extracție în aceleași condiții, dar cu un solvent de polaritate medie, respectiv, acetatul de etil. Reziduul umed rezultat după extracția etanolică, cu un conținut în s.u. de 35...40%, se extrage cu acetat de etil la un raport de 1:8, în același extractor automatizat, urmărindu-se aceleași etape de presare, centrifugare și de îndepărtare a solventului prin distilare la 45°C în vid.

RO 127493 B1

1 Extractele concentrate se reunesc și se încorporează în mod similar ca în exemplul
1, pe maltodextrină. Rezultă comprimate de 5 g, cu un conținut în bioflavonoide de
3 18,2 mg/comprimat și un conținut în acid elagic de 53,5 mg/comprimat; total bioflavonoide
și acid elagic 71,7 mg/comprimatul de 5 g, la care se mai adaugă terpenolactonele extrase
5 în acetat de etil, la niveluri variabile. Randamentul de extracție a acestora se apreciază a se
situa la niveluri de 30% din valoarea totală conținută în matricea nativă a frunzelor de Ginkgo
7 biloba. Se obțin în mod identic, din 1000 g frunze uscate (1/2 frunze de Ginkgo biloba și 1/2
frunze de năpraznic), 60 de comprimate cu greutatea de 5 g, pe suport de maltodextrine.

9 Concentrarea extractului inițial prin microfiltrare pe membrane cu dimensiuni ale
porilor care permit separarea speciilor moleculare cu valori cuprinse în intervalul 200...400
11 Daltoni, la presiuni de 3 bari, cu o viteză de filtrare de 27,6 l/m²/h, conduce la obținerea de
concentrate la valori mai ridicate cu 40...60%, comparativ cu nivelurile concentrațiilor din
13 extractul brut.

În procedeul conform invenției se vizează remedierea acestor inconveniente, prin
15 optimizarea etapelor de prelucrare, în următoarele direcții:

17 - concentrarea selectivă a extractelor hidroetanolicе, pentru a obține niveluri
maximizate de bioflavonoide și acizi fenolicarboxilici, cu minimizarea conținutului în compuși
mai puțin importanți pentru efectele bioterapeutice - energizante;

19 - procesarea cu aport termic minimal (maximum 45°C) în etapele de solvoliză
extractivă, concentrare și încorporare pe excipienți adecvați, în facilitarea absorbției și
21 utilizării compușilor cu potențial antioxidant.

Conform procedeului invenției, obținerea concentratului bioflavonoidic se desfășoară
23 în următoarea succesiune de etape:

25 1. condiționarea biomasei foliare prin eliminarea eventualelor corpuri străine organice
și minerale pe o bandă transportoare;

27 2. spălarea cu apă de robinet, scurgerea apei pe o sită;

29 3. uscarea pe un uscător în trepte, prin ventilație graduală cu aer cald, cu minimum
de aport termic;

31 4. marinarea substratului uscat într-o moară, cu micronizarea la dimensiuni de
maximum 40 meshi;

33 5. pulberea micronizată se introduce la macerare cu reactantul solvolic, la un raport
biomasă:extractant de 1:8...1:10, împreună cu o soluție de acid ascorbic de 0,5%, pentru a
realiza un mediu acid moderat cu pH-ul de 3,5...4, în scopul protejării de oxidare a
35 compușilor bioactivi într-un echipament de macerare și omogenizare;

37 6. dispersia micronizată după macerare se extrage într-un extractor automatizat,
pentru extracția hidroetanolică într-o singură etapă, în cazul frunzelor de păducel, zmeur și
năpraznic, și în două etape, în cazul extracției frunzelor de Ginkgo biloba. Extracția se
realizează la temperatura mediului ambiant, prin percolare și șocuri de presiune la 8 bari,
39 într-un interval de 2,5...4 h;

41 7. dispersia vegetală este presată într-o presă cu șnec, pentru separarea grosieră a
biomasei reziduale de fracțiunea bioactivă solubilizată;

43 8. extractul fluid brut este centrifugat într-un separator centrifugal, pentru a îndepărta
particulele fine și ușoare, eventual, antrenate în fracțiunea solubilizată;

45 9. extractul limpede, după centrifugare, se dirijează spre o instalație de concentrare
prin filtrare pe membrane, dimensiunea porilor fiind cuprinsă în intervalul 200...400 Daltoni,
cu operare la presiuni de 1,5...3 bari.

RO 127493 B1

Filtrarea prin membrane la valorile greutateilor moleculare de 200...400 Daltoni favorizează aspecte esențiale în mai multe direcții:	1
- concentrează structurile bioflavonoidice și ale acizilor hidroxicinamici în fracțiunea de retentat, întrucât dimensiunile greutateilor moleculare ale acestor compuși se integrează în aceste limite;	3
- se îndepărtează în permeat monoglucidele care sunt ușor fermentescibile, și care pot afecta mai rapid stabilitatea microbiologică a produsului. Monozaharidele prezintă greutatea moleculară sub 200 Daltoni;	5
- se realizează o purificare la nivel molecular, cu posibilitatea obținerii de extracte standardizate, sub aspectul conținutului reproductibil al nivelului bioflavonoidelor.	7
Deși în prezent numeroase nutraceutice consemnează însușirile revigorante energizante și antioxidante ale bioflavonoidelor extrase din matricea vegetală, și încorporate pe suporturi fluide, comprimate sau gelule, nivelul de participare efectiv, sub aspect global sau al bioflavonoidelor individualizate, este inscripționat insuficient în majoritatea cazurilor, în corelație cu dozele care pot asigura efectele fiziologice scontate.	9
Prin procedeul conform invenției, acest aspect esențial se îmbunătățește prin fracționarea din extractul brut, prin procesare atermică a bioflavonoideilor, pe baza dimensiunilor și a greutății moleculare, evaluate pentru aceste structuri la dimensiuni cuprinse în intervalul 200...400 Daltoni;	11
10. retentatul rezultat după fracționarea membranelor prin monofiltrare se trece într-o instalație de distilare în vid, la maximum 45°C, unde are loc o concentrare conformă cu preferințele de utilizare, respectiv, cu variații ale conținutului în s.u. de 5...92%;	13
11. extractul concentrat se trece la ambalarea directă într-o instalație de dozare, în flacoane de 25...50 ml (în cazul utilizărilor sub formă fluidă, cu un conținut în s.u. de 25...30%);	15
12. extractul concentrat (cu un conținut de peste 50% s.u.), în cazul încorporării în comprimate sau gelule, se trece într-un omogenizator cu impregnare pe suporturi adecvate, ca, de exemplu, celuloză microcristalină sau maltodextrină (concentrația stabilindu-se în funcție de proprietățile reologice intrinseci ale extractelor din diferitele resurse).	17
Conform procedurii invenției, resursele deținătoare de flavonoide s-au evaluat din punct de vedere al conținutului total și individual de flavonoide. Biomasa foliară deshidratată din păducel s-a analizat consecutiv extracției, în următoarele etape:	19
- extractul brut hidroetanolic de 80% etanol la hidromodulul de 1:8;	21
- extractul concentrat după separarea pe membrane filtrante cu dimensiuni ale particulelor de 400 daltoni;	23
- concentrat omogenizat și integrat pe maltodextrine.	25
Comparativ, s-a evaluat capacitatea antioxidantă, exprimată în micromoli TEAC/gram produs din remediul comercializat în prezent, denumit generic DETRALEX.	27
Produsul DETRALEX se prezintă sub formă de comprimate filmate, și este definit ca „fracțiune flavonoidică purificată micronizată”. Indicațiile terapeutice se referă la insuficiența veno-limfatică, însoțită de dureri și de senzația de greutate la nivelul membrelor inferioare, și de crize hemoroidale. Fiecare comprimat conține 500 mg fracțiune flavonoidică purificată, micronizată, și integrează 50 mg flavonoide sub formă de hesperidină 10%, alături de alți excipienți, respectiv, gelatină, stearat de magneziu, celuloză microcristalină, amidonglicolat de sodiu, talc.	31
	33
	35
	37
	39
	41
	43
	45

RO 127493 B1

1 Capacitatea antioxidantă, potențialul extractibil și nivelul fenolilor totali în materia
2 primă (pulbere de frunze de păducel deshidratate), comparativ cu ale produsului
3 DETRALEX, sunt prezentate în tabelul 1.

5 Produs	6 Randament 7 potențial extractibil 8 din substanța 9 uscată (%)	10 Nivel de 11 concentrare	12 Capacitate 13 antioxidantă 14 micromoli 15 trolox/gram 16 produs	17 Fenoli totali în 18 echivalenți de 19 acid cafeic 20 (mg/ml)*
21 Extract flavonoidic brut din 22 frunze și flori de păducel	23 28	24 1:8	25 439,8	26 5,76
27 Extract flavonoidic purificat și 28 concentrat	29 24	30 1:4	31 1850	32 9,8
33 Extract flavonoidic integrat pe 34 maltodextrine	35 22,8	36 2:3	37 826	38 6,8
39 DETRALEX (comprimate 50 mg)	40 18,2	41 1:10	42 906	43 7,4

44 * solubilizarea s-a realizat atât pentru extractul flavonoidic din păducel concentrat pe maltodextrine, cât
45 și pentru comprimatele de DETRALEX la același nivel de 1,8.

46 *Teste preliminare orientative, pe subiecți voluntari.* Extractele de păducel în 80%
47 etanol, din care s-a eliminat prin distilare etanolul, s-au încorporat pe maltodextrine de 2:3,
48 s-au deshidratat și s-au comprimat sub formă de pastile. S-au administrat zilnic, într-un
49 interval de 2 luni, unui număr de 8 persoane cu vârste cuprinse între 65 și 78 ani, care
50 prezentau probleme cardiovasculare și insuficiență venoasă. Șase din cele opt persoane au
51 afirmat că starea lor generală a fost mai bună, și că durerile din zona membrilor inferioare
52 au fost ameliorate.

1. Concentrat nutraceutic flavonoidic, cu potențial revigorant și antiviral, **caracterizat prin aceea că** structurile foliare de păducel, zmeur, ginkgo și năpraznic, extrase în etanol de 80% v/v, concentrate prin ultrafiltrare pe membrane, și încorporate pe maltodextrine, se prezintă sub formă de comprimate de 5 g, cu o umiditate de 10...12%, cu un conținut în agliconi fenolici de 18,2...37,05 mg/comprimit și un conținut în acid elagic de 31,44...53,5 mg/comprimit, un conținut total în compuși bioactivi antioxidanți de 68,4...71,7 mg/comprimit, având o capacitate antioxidantă de 986 micromoli Trolox/g produs, și un înalt potențial bioprotectiv în mediu hidrofilic. 3 5 7 9
2. Procedeu de obținere a unui concentrat flavonoidic, cu potențial revigorant și antiviral, prezentat în revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că** biomasa foliară recoltată pe vreme favorabilă se separă de impuritățile organice și minerale, se spală prin pulverizare cu apă, și se scurge pe o sită, se usucă pe un uscător în trepte, prin ventilație graduală, se macină într-o moară cu micronizarea la dimensiuni de 40 meshi, se supune unei extracții printr-o macerare prealabilă într-un recipient cu agitare intermitentă, urmată de extracția într-un extractor cu șocuri de presiune și percolare la 8 bari, timp de 2,5...4 h, la temperatura mediului ambiant, cu adaos de 0,5% acid ascorbic, dispersia vegetală rezultată este presată într-o presă cu șnec, și apoi separată într-un separator centrifugal, extractul se dirijează spre o instalație de concentrare prin filtrare pe membrane cu dimensiuni ale porilor de 200...400 Daltoni, la 1,5...3 bari, retentatul rezultat după microfiltrare se distilează în vid la 45°C, concentrarea realizându-se în funcție de preferințe de utilizare, la niveluri ale conținutului în s.u. de 5...92%, după care extractul se trece în instalația de dozare și ambalare, în cazul utilizărilor în formă fluidă în flacoane de 25...50 ml. 11 13 15 17 19 21 23
3. Procedeu conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că** extractul concentrat, cu un conținut în s.u. mai mare de 50%, se poate trece într-un omogenizator dacă produsul se preferă a se utiliza sub formă de gelule sau comprimate, pe suport de maltodextrine sau celuloză microcristalină. 25 27
4. Procedeu conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că**, în varianta în care se procesează frunzele de păducel și de zmeur, rezultă comprimate a 5 g cu nivel mediu al bioflavonoidelor de 37 mg/comprimit, și cu nivel mediu al acidului elagic de 31,4 mg/comprimit, în total 68,4 mg compuși bioactivi/5 g produs. 29 31
5. Procedeu conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că**, în cazul variantei de prelucrare a frunzelor de Ginkgo biloba și năpraznic, nivelul mediu al flavonoidelor pentru 5 g este de 18,2 mg/comprimit, și al acidului elagic de 53,5 mg/comprimit, în total 71,7 mg, la care se mai adaugă un conținut variabil de terpene, la care se mai adaugă un conținut variabil de terpene lactone. 33 35 37

