



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2017 00746**

(22) Data de depozit: **27/09/2017**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/03/2020** BOPI nr. **3/2020**

(41) Data publicării cererii:
30/05/2018 BOPI nr. **5/2018**

(73) Titular:

- UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "CAROL DAVILA" DIN BUCUREȘTI, STR. DIONISIE LUPU NR.37, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
- HOFIGAL EXPORT - IMPORT S.A., INTRAREA SERELOR NR.2, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

- ANCUCEANU ROBERT, STR. MOȚOC NR. 2, BL. P3, SC.3, AP. 72, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;
- DINU MIHAELA, STR. ȘOIMĂREȘTILOR NR. 19, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
- HOVANEȚ MARILENA VIORICA, STR. CĂLINULUI NR. 13, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
- ANGHEL ADRIANA IULIANA, STR. SOLD. N. SEBE NR. 5, BL. S24, AP. 36, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;
- OLARU OCTAVIAN TUDOREL, STR.ZBOINA NEAGRĂ NR.5, BL.98, SC.1, ET.1, AP.8, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;

- DINU PÂRVU CRISTINA ELENA, STR.GH.LAZĂR NR.10, ET.1, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
- NIȚULESCU GEORGE MIHAI, ȘOS.OLTENIȚEI NR. 40-44, BL.6A, SC.4, ET.7, AP.145, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
- POPESCU VIOLETA CARMEN, STR. SOLDAT ENE MODORAN NR. 14, BL. M185, SC. 1, AP. 11, ET. 2, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;
- DUNE CONSTANTINA-ALINA, BD.CONSTANTIN BRÂNCOVEANU NR.118, BL.MIII/4, SC.2, ET.8, AP.153, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
- MANEA ȘTEFANIA, ALEEA BACAU NR.9, BL.H1, SC.1, ET.4, AP.78, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;
- DOCIU FLORENTINA-STELUȚA, INT.BADENI NR.10, BL.T5, SC.1, ET.9, AP.37, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:
CN 105394463 (A); CN 105420323 (A)

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A UNUI EXTRACT
PENTRU SUPLIMENTAREA FIERULUI DIN ALIMENTAȚIE**



1 Prezenta invenție se referă la un procedeu de obținere a unui extract de origine
vegetală utilizat ca ingredient activ în suplimente alimentare cu fier, și extractul obținut prin
3 acesta.

Fierul este un nutrient vital pentru organismul uman, având un rol esențial într-o
5 varietate de activități celulare. Funcționează drept co-factor pentru numeroase enzime
implicate în biosinteza anumitor aminoacizi, a colagenului, a unor hormoni și neuro-
7 transmitători. Conținutul de fier în organism este strict reglat, deoarece atât deficitul, cât și
excesul pot avea consecințe nefaste, **Rolfes S.R., Kathryn P., Whitney E., *Understanding***
9 ***normal and clinical nutrition*, 8th edition. Wordsworth, Belmont (CA). 2009, p. 442.**
Estimarea necesarului de fier la om variază la diferiții autori și depinde de sursele
11 bibliografice, metodologie și ipoteze de calcul (de exemplu, aportul de referință al nutrienților
- reference nutrient intake - RNI este mai mare în SUA decât în Marea Britanie), **Webb G.P.,**
13 ***Dietary Supplements and Functional Foods. Blackwell Publishing, Chichester (UK),***
2nd edition, 2011 (Kindle edition) (Chapter 4, Iron). Se acceptă că bărbații și femeile în
15 vârstă (peste 51 ani) au nevoie de aproximativ 8 mg fier pe zi (8,7 mg în UK, 8 mg în SUA).
Femeile de vârstă fertilă au nevoie de cantități considerabil mai mari pentru a compensa
17 pierderea menstruală, aproximativ 18 mg pe zi (14,8 mg oficial în UK); la gravide necesarul
de fier este chiar mai mare, 27 mg pe zi), **Webb F.S., Whitney E. *Nutrition: concepts and***
19 ***controversies, 1th edition. Thomson Higher Education, Belmont (CA), 2008, p. 297;***
Webb G.P., *Dietary Supplements and Functional Foods. Blackwell Publishing,*
21 ***Chichester (UK), 2nd edition, 2011 (Kindle edition) (Chapter 4, Iron)***. La copii, necesarul
de fier poate varia cu vârsta, fiind mai mare în primii 2 ani de viață, apoi mai scăzut și
23 dublându-se aproape la adolescență **Khambalia A.Z., Zlotkin S.H., "Iron. In: *Nutrition in***
Pediatrics. Basic Science. Clinical Applications. Duggan C., Watkins J.B., Walker W.A.
25 ***(Ed.). BC Dekker, Hamilton (Ontario), 2008.***

În alimente, fierul se poate prezenta sub formă hemică sau non-hem. Fierul din hem
27 se află în alimentele de origine animală, iar cel non-hem în alimentele de origine vegetală.
Primul este absorbit într-o proporție mai mare decât cel de-al doilea. Totuși absorbția fierului
29 non-hem este, de asemenea, influențată de alte componente ale dietei. De exemplu, MHP,
un factor din carne, pește și pui, favorizează absorbția fierului non-hem, în timp ce acidul
31 ascorbic (vitamina C) poate crește de trei ori absorbția fierului non-hem. Pe de altă parte,
taninurile (de exemplu cele din cafea și ceai), fitații (din cereale) au efecte negative asupra
33 biodisponibilității fierului, **Webb F.S., Whitney E. *Nutrition: concepts and controversies,***
11th edition. Thomson Higher Education, Belmont (CA), 2008, p. 297.

Anemia este definită drept "concentrația hemoglobinei situată sub nivelurile de
referință consacrate", **World Health Organisation. UNICEF. *Focusing on anaemia.***
37 ***Towards an integrated approach for effective anaemia control. (Joint statement by the***
World Health Organization and the United Nations Children's Fund). Available at:
39 ***[http://www.who.int/nutrition/publications/](http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/WHOandUNICEF_statement_anaemia/en/index.html)***
micronutrients/ WHOandUNICEF_
41 ***statement_anaemia/en/index.html [06.03.2013].*** Nu este o boală, ci o stare care reflectă
o afecțiune subiacentă, **Parker-Williams E.J., "Investigation and management of**
43 ***anaemia", *Medicine*. 2009; 37 (3),*** sau aportul nutrițional. S-a estimat că la nivel mondial
anemia afectează aproximativ 20...30% din populație, **Cooper M., Greene-Finestone L.,**
45 ***Lowell H. et al. *Iron sufficiency of Canadians. Health Rep*. 2012; 23(4):41-8; Parker-***
Williams E.J., "Investigation and management of anaemia", *Medicine*. 2009; 37 (3), cu
47 o prevalență ridicată în țările în curs de dezvoltare. Anemia feriprivă (AF) este cea
mai comună formă de anemie în lume, **Ho CH, Yu YB, Wu PH., *The prevalence of iron***
deficiency anemia and its clinical implications in patients with colorectal carcinoma.

<i>J Chin Med Assoc. 2008;71 (3): 119-22</i> , și cea mai frecventă formă de anemie la gravide,	1
<i>Barroso F., Allard S., Kahan B.C. et al. Prevalence of maternal anaemia and its predictors: a multi-centre study. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2011; 159(1):99-105.</i> Se estimează că anemia feriprivă are o prevalență de 2% printre bărbații	3
adulti și 9...20% printre femeile adulte, această variabilitate fiind influențată de rasă și etnie,	5
<i>Barish C.F., Koch T., Butcher A. et al. Safety and Efficacy of Intravenous Ferric Carboxyjnaltose (750 mg) in the Treatment of Iron Deficiency Anemia: Two Randomized, Controlled Trials. Anemia. 2012;2012:172104.</i> Chiar în țările dezvoltate	7
există categorii de populații cu un aport scăzut de fier. De exemplu, Canada este o țară cu	9
rată foarte scăzută a anemiei, dar o analiză la nivel național a arătat că în timp ce aportul de	11
fier din dietă este adecvat pentru 97% din populație, în cazul femeilor de 14...50 ani,	11
12...18% dintre acestea au un aport inadecvat de fier, <i>Cooper M., Greene-Finestone L., Lowell H. et al. Iron sufficiency of Canadians. Health Rep. 2012; 23(4):41-8.</i> Studii	13
realizate în Marea Britanie între 1980 și 2000 au arătat că, în această perioadă, aportul de	15
fier din alimentație a scăzut ușor la femei și bărbați, iar în 2000-2001, în jur de 25% dintre	15
femei aveau un aport inadecvat de fier, această proporție crescând la 40% la categoria de	17
vârstă sub 35 de ani, <i>Webb G.P., Dietary Supplements and Functional Foods. Blackwell Publishing, Chichester (UK), 2nd edition, 2011 (Kindle edition) (Chapter 4, Iron).</i>	17
Deși nu este o boală în sine, anemia este însoțită de numeroase și serioase	19
consecințe nefaste pentru sănătatea pacienților. Aceștia sunt adesea asimptomatici (dacă	21
pierderea de hemoglobină este limitată, de exemplu Hb mai mare de 10 g/dl), dar	21
simptomele devin manifeste la pacienții cu afecțiuni multiple (afecțiuni cardiace, boli	23
respiratorii), <i>Maccio A., Madeddu C., Management of anemia of inflammation in the elderly. Anemia. 2012; 2012:563251.</i> Anemia în general (inclusiv anemia feriprivă)	23
afectează calitatea vieții, reduce capacitatea de muncă fizică, <i>Haas J.D., Brownlie T., 4th. Iron deficiency and reduced work capacity: a critical review of the research to determine a causal relationship. J. Nutr. 2001;131(2S-2):676S-688S,</i> iar la gravide se	25
asociază cu naștere prematură, instabilitate emoțională și rate mai mari de depresie în	27
perioada postpartum, precum și cu consecințe negative asupra dezvoltării neuronale la copii,	29
<i>Barroso F., Allard S., Kahan B.C. et al. Prevalence of maternal anaemia and its predictors: a multi-centre study. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2011; 159(1):99-105.</i> Există o corelație bine cunoscută între anemia feriprivă și cancerul gastro-	31
intestinal, <i>Ho CH, Yu YB, Wu PH., The prevalence of iron deficiency anemia and its clinical implications in patients with colorectal carcinoma. J Chin Med Assoc. 2008;71 (3): 119-22,</i> iar la pacienții non-diabetici, ca și la cei cu diabet, deficiența de fier se corelează	35
cu niveluri crescute ale hemoglobinei glicate, <i>Shanthi B. Revathy C, Manjula Devi AJ, Subhashree. Effect of iron deficiency on glycation of haemoglobin in nondiabetics. J Clin Diagn Res. 2013 Jan;7(1): 15-7. Epub2012 Sep 18.</i> La vârstnici, valorile hemoglobinei	37
situate spre limita inferioară pot afecta negativ mobilitatea și performanța fizică, <i>Eisenstaedt R., Penninx B.W., Woodman R.C., Anemia in the elderly: current understanding and emerging concepts. Blood Rev. 2006 Jul;20(4):213-26.</i> În plus, există dovezi că în	39
această categorie de populație anemia poate altera activitățile de zi cu zi, <i>Bailey R.A., Reardon G., Wasserman M.R. et al. Association of anemia with worsened activities of daily living and health-related quality of life scores derived from the Minimum Data Set in long-term care residents. Health Qual Life Outcomes. 2012; 10:129,</i> poate crește	43
riscul de demență și declin cognitiv, <i>Peters R., Burch L., Warner J. et al., "Haemoglobin, anaemia, dementia and cognitive decline in the elderly, a systematic review", BMC</i>	47

1 Geriatr. 2008; 8:18, și poate constitui un factor de risc pentru insuficiența coronariană și
 cerebrovasculară, precum și pentru complicații medicamentoase, **Balducci L., Ershler W.B.,**
 3 **Krantz S., Anemia in the elderly - Clinical findings and impact on health. Critical**
Reviews in Oncology/Hematology; 2006; 58:156-165. La pacienții cu insuficiență cardiacă,
 5 anemia se asociază cu un risc crescut de mortalitate, **Groenveld H.F., Januzzi J.L.,**
Damman K. et al. Anemia and mortality in heart failure patients a systematic review
 7 **and meta-analysis, J. Am Coli Cardiol. 2008; 52(10):818-27; Pascual-Figal D.A.,**
Bonaque J.C., Manzano-Fernández S., Fernández A., Garrido I.P., Pastor-Perez F., Lax
 9 **A., Valdes M., Januzzi J.L., “Red blood cell distribution width predicts new-onset**
anemia in heart failure patients”, Int J. Cardiol. 2012; 160(3): 196-200, deși într-o analiză
 11 multivariabilă numai deficiența de fier s-a asociat cu un risc crescut de mortalitate și
 transplant cardiac, nu și anemia, **Jankowska E.A., Rozentryt P., Witkowska A. et al., “Iron**
 13 **deficiency: an ominous sign in patients with systolic chronic heart failure”, Eur Heart**
J. 2010;31(15): 1872-80. La pacienții cu artrită reumatoidă, anemia afectează calitatea vieții
 15 și există tot mai multe dovezi care arată că ameliorarea anemiei se corelează cu
 îmbunătățirea calității vieții, **Doyle M.K, Rahman M.U., Han C. et al., Treatment with**
 17 **infliximab plus methotrexate improves anemia in patients with rheumatoid arthritis**
independent of improvement in other clinical outcome measures - a pooled analysis
 19 **from three large, multicenter, double-blind, randomized clinical trials. Semin Arthritis**
Rheum. 2009; 39(2): 123-3 1.

21 Multiplele efecte negative ale anemiei asupra sănătății și calității vieții justifică
 intervențiile destinate prevenirii și controlului anemiei, una dintre ele fiind utilizarea
 23 suplimentelor alimentare cu fier. Deși prioritatea în controlul anemiei este recunoscută pentru
 gravide, femeile postpartum și copii de 6...24 luni, **Stoltzfus R.J., Dreyfuss M.L.,**
 25 **Guidelines for the Use of Iron Supplements to Prevent and Treat Iron Deficiency**
Anemia. Usi Press, Washington, DC, 1998. Available at: [http://www.who.int/entity/](http://www.who.int/entity/nutrition/publications/micronutrients/guidelines_for_iron_supplementation.pdf)
 27 **[nutrition/publications/micronutrients/guidelines_for_iron_supplementation.pdf](http://www.who.int/entity/nutrition/publications/micronutrients/guidelines_for_iron_supplementation.pdf)**
 [04.03.2013], există și alte sub-populații care necesită suplimentare cu fier pentru
 29 îmbunătățirea nivelului hemoglobinei.

Pentru combaterea deficitului de fier și anemiei feriprive, există patru abordări
 31 recomandate de Organizația Mondială a Sănătății: fortificarea (îmbogățirea) alimentelor,
 suplimentarea alimentației (utilizarea de suplimente alimentare), educația (privind stilul de
 33 viață și sursele de fier) și programe de selecție și dezvoltare de soiuri noi, mai bogate în fier.
 Fortificarea și suplimentarea cu fier au în general un efect rapid și direct la populațiile expuse
 35 riscului de deficit de fier, **Wicking J.B, Bian Y., Nutrițional supplement containing iron.**
Brevet, US 2015/0250839 A 1. "Datorită mărimii evidente a problemei aportului inadecvat
 37 de fier și a deficitului de fier, folosirea suplimentelor poate fi o componentă necesară a
 măsurilor care au o șansă realistă de a avea un impact major asupra problemei, cel puțin pe
 39 termen scurt. Consumul mai mare de fier organic din carne extra slabă și pește poate fi
 inacceptabil pentru un număr substanțial de persoane care sunt vegetariene sau au înclinații
 41 vegetariene. Acesta poate fi greșit văzut ca incompatibil cu alte sfaturi legate de alimentație
 de a reduce consumul de grăsimi saturate. Fortificarea obligatorie cu fier a alimentelor este
 43 puțin probabil să apară într-o perioadă rezonabilă de timp, datorită mai ales depășirii
 necesarului (de trei ori necesarul de referință) la unii bărbați, **Webb G.P., Dietary**
 45 **Supplements and Funcțional Foods. Blackwell Publishing, Chichester (UK), 2nd**
edition, 2011 (Kindle edition) (Chapter 4, Iron). În ultimii ani, au fost desfășurate cercetări
 47 în direcția biofortificării, manipularea genetică a speciilor vegetale în scopul creșterii preluării
 fierului, **Ma J.F, Ling H.Q., “Iron for plants and humans”, Plant Soil. 2009; 325 (1): 1-3,**
 49 dar OMG-urile sunt cel mai adesea privite cu scepticism de consumatori.

Fierul le este necesar nu numai oamenilor, mamiferelor și altor organisme animale, 1
 ci și plantelor (deficiența sa conduce la cloroză și recolte slabe, **Kim S.A., Guerinot M.L.,** 3
“Mining iron: iron uptake and transport in plants”, FEBS Lett. 2007; 581(12):2273-80. 3
 Deși plantele își iau substanțele minerale din sol, compoziția lor chimică nu este o simplă 5
 reflectare a compoziției solului, deoarece nevoile lor fiziologice și biochimice, ca și resursele, 5
 sunt diferite, conducând la o absorbție selectivă modulată de numeroși factori, **Sosorova** 7
S.B., Gyninova A.B., Merkusheva M.G. et al., The content of microelements and iron 7
in soils and plants in the basin of lake Kotokel’ in Western Transbaikalia. Eurasian Soil 9
Science. 2012 ; 45 (4): 376-385. Relația complexă dintre sol, plante, aliment și om a fost 9
 explorată într-o bună măsură, dar numai într-un mod fragmantar. Solul este de obicei bogat 11
 în fier, dar adesea plantele sunt afectate de deficiențe în acest mineral, deoarece sărurile 11
 sale, în special în solurile calcaroase, alcaline, au o solubilitate redusă, **Ma J.F., Ling H.Q.,** 13
“Iron for plants and humans”, Plant Soil. 2009; 325 (1): 1-3, Romheld V., Different 13
strategies for iron acquisition in higher plants. Physiol. Plantarum. 1987; 70 (2): 15
231-234. Deja la mijlocul anilor 1980, V. Romheld și H. Marschner (1986) au identificat 15
 2 strategii de răspuns al plantelor la deficiența de fier: așa-numita strategie I (bazată pe 17
 reducerea Fe³⁺ la Fe²⁺, prin eliberarea de protoni și formarea unor celule specializate de 17
 transfer în rizodermă) și strategia II (bazată pe chelatarea directă a Fe³⁺ din sol cu substanțe 19
 specifice cu structură iminocarboxilică, cunoscute ca siderofori și dezvoltarea unui sistem de 19
 absorbție specific pentru acești chelați). Au fost publicate numeroase studii despre aceste 21
 strategii și mecanismele lor moleculare și genetice. Strategia I este larg răspândită la plante, 21
 în timp ce strategia II este întâlnită la graminee, **Romheld V., Different strategies for iron** 23
acquisition in higher plants. Physiol. Plantarum. 1987; 70 (2): 231-234, într-un studiu, 23
 din 15 specii analizate (arbori, arbuști, plante ierbacee), numai în 6 s-au identificat corelații 25
 semnificative statistic între conținutul de fier al solului (sol bogat în cromit) și organele plantei 25
 (și numai pentru unele organe - rădăcină, tulpină sau frunză), **Samantaray S., Rout G.R.,** 27
Das P. Fleavy Metal and Nutrient Concentration in Soil and Plants Growing on a 27
Metalliferous Chromite Minespoil, Environmental Technology, 2001; 22 (10): 29
1147-1154. Factorii de sol, alții decât conținutul de fier și forma chimică, de exemplu 29
 conținutul de bicarbonat și nitrat, pH-ul (peste valoarea 4, solubilitatea fierului scade de o mie 31
 de ori pentru fiecare unitate de pH adăugată), Fe extractibil cu DTPA, conductivitatea 31
 electrică (CE), sau umiditatea, **Bloom P.R., Rehm G.W., Lamb J.A., Scobbie A.J., Soil** 33
Nitrate is a Causative Factor in Iron Deficiency Chlorosis in Soybeans. Soil Science 33
Society of America. 2010; 75(6): 2233-2241; Dzida K., Nutrients Contents in Sweet Basil 35
(Ocimum Basilicum L.) Herb Depending on Calcium Carbonate Dose and Cultivar. Acta 35
Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus. 2010; 9:143-15 1; Ma J.F., “Plant Root 37
Responses to Three Abundant Soil Minerals: Silicon, Aluminum and Iron”, Critical 37
Reviews in Plant Sciences. 2005; 24 (4):267-281; Zuo Y., Ren L., Zhang F., Jiang R.F., 39
Bicarbonate concentration as affected by soil water content controls iron nutrition of 39
peanut plants in a calcareous soil. Plant Physiol Biochem. 2007; 45(5), par să afecteze 41
 absorbția fierului de către plantă. Creșterea cantităților de crom s-a raportat a reduce 41
 absorbția fierului de către plante, **Pillay V., Jonnalagadda S.B., “Elemental uptake by** 43
edible herbs and lettuce (Lactuca sativa)”, Journal of Environmental Science and 43
Health Part B. 2007; 42:423-428.

1 Majoritatea suplimentelor alimentare de pe piața din România și de pe piețele
 2 internaționale utilizează săruri de fier (de origine chimică) și nu fier „biologic”. Suplimentele
 3 alimentare orale pe bază de fier pot cauza (și adesea cauzează) efecte adverse gastro-
 4 intestinale neplăcute, în principal constipație sau diaree, pirozis („arsuri la stomac”), greață
 5 și crampe abdominale. Acestea determină adesea modificări în culoarea scaunului, care pot
 6 îngrijora utilizatorii, dar acesta nu este un efect advers propriu-zis, **Alpers D.H., Stenson**
 7 **W.F. Taylor B.E. Bier D.M., Manual of nutritional therapeutics. Lippincott, Williams &**
 8 **Wilkins, Philadelphia (PA). 2008, p. 63.** Majoritatea acestor efecte ar putea fi legate de
 9 natura fierului utilizat în aceste suplimente - în majoritatea cazurilor săruri de fier anorganice
 10 sau organice. Se poate specula că extractele naturale bogate în fier ar putea să nu aibă
 11 aceste efecte. Această ipoteză este susținută de faptul că dieta normală, cu un aport adecvat
 12 de fier, nu determină asemenea efecte, precum și de constatarea acceptată în prezent ca
 13 reală, că atunci când suplimentele de fier sunt luate împreună cu alimentele (și nu pe
 14 stomacul gol), probabilitatea apariției lor se reduce considerabil, **Alpers D.H., Stenson W.F.**
 15 **Taylor B.E. Bier D.M., Manual of nutritional therapeutics. Lippincott, Williams &**
 16 **Wilkins, Philadelphia (PA). 2008, p. 63.**

17 Există o varietate de brevete care propun soluții de administrare îmbunătățită a
 18 fierului la diverse categorii de populație. Majoritatea se bazează pe săruri anorganice sau
 19 organice de fier, cărora încearcă să le optimizeze anumite calități, de la palatabilitate (gust)
 20 la proprietățile farmacocinetice sau la profilul de siguranță. P. Monsivais (2015) a propus
 21 utilizarea unui complex cu polizaharidele și adăugarea unui îndulcitor non-nutritiv de origine
 22 vegetală (fruct de *Siraitia grosvenorii*) pentru îmbunătățirea gustului, pentru a permite
 23 administrarea la copii cu vârste mici, **Monsivais P., “Formulation for iron supplements”,**
 24 **Brevet, US 2015/0079268 A1.** A. Lacorte și G. Tarantino (2015) au propus utilizarea unei
 25 săruri de fier (III) alături de lecitină și anumiți esteri ai zaharozei sau sucresteri, care să
 26 îmbunătățească absorbția și tolerabilitatea, **Lacorte A., Tarantino G., “Solid composition**
 27 **comprising iron for use in iron deficient conditions”, Brevet, US 2015/0250885 A1.** H.
 28 Hongsheng adaugă lactat feros la un amestec de condimente amestecate cu frunză de
 29 *Phyllanthus emblica L.*, **Hongsheng H., “Phyllanthus emblica leaf mixed food spice rich**
 30 **in calcium and iron ions, and preparation method thereof”, Brevet, CN 104187525**
 31 **(A) - 2014-12-10.** L. Xia (2015) utilizează sulfat feros, pe care îl asociază cu chitină, acid
 32 acetic, un complex trioxid de sulf-piridină și bicarbonat de sodiu, componentul principal pe
 33 lângă fier fiind chitina solubilă extrasă din cochilia unor crustacee, pretinzându-se că
 34 utilizarea ei favorizează absorbția în comparație cu produsele convenționale pe bază de
 35 sulfat feros și recomandând utilizarea acestuia la copii, **Xia L., Iron-supplement agent for**
 36 **children. Bibliographic data: CN 10441341 1 (A)-2015-03-18.** Un alt brevet utilizează
 37 chitosan pentru complexarea coordinativă a fierului, **Jianming P., Runrun W., Hengjia Z.,**
 38 **Wei H. et al., “Preparation method of iron-chitosan metal supermolecular gel”, Brevet,**
 39 **CN 105646902 (A)-2016-06-08.** I. Ikuko au brevetat o bomboană în formă de bob de cereale,
 40 incluzând o sare de fier și acid folic, pe suportul unui fruct deshidratat, acoperită în final cu
 41 ciocolată, **Ikuko I., “Grain-shaped confectionery as iron supplement, and**
 42 **manufacturing method thereof”, Brevet, JP2015 104368 (A)-2015-06-08.** Un brevet
 43 recent (2016) propune asocierea uneia sau mai multor săruri ori a unor complecși ai fierului
 44 cu un agent destinat să atenueze efectele gastro-intestinale ale metalului, agent bazat pe
 45 un component pe bază de zinc și/sau a unui chelator, **Bortz J.D., Iron supplement. Brevet,**
 46 **MX2015016660 (A)-2016-07-26.** O altă invenție utilizează o sare de fier neîncapsulată,
 47 împreună cu un transportor care cuprinde un ulei comestibil digestibil, lichid la temperatura
 de 20°C, pretinzându-se posibilitatea de administrare atât la adulți, cât și la sugari [62].

RO 132538 B1

J.B. Wicking și Y. Bian (2015) adaugă săruri de fier anorganice sau organice în mediul de cultură al unor fungi filamentoși (de preferință *Aspergillus oryzae* sau *Aspergillus niger*), **Wicking J.B, Bian Y., Nutrițional supplement containing iron. Brevet, US 2015/0250839 A1.** Unele brevete (din China) au propus obținerea de tăiței (noodles) cu pulbere de Dendrobium, **Mingzhu J.B. Iron-enriched dendrobium dried noodles and making method thereof. Brevet. CN 105029208 (A)-2015-11-11, Mingzhu Z., "Dendrobium instant noodles rich in iron trace element, and preparation method thereof". Brevet, CN 105105013 (A)-2015-12-02.** A. Bulbarello și G. Steiger (2015) reconstituie nucleeele bobului de orez din faina de orez, îmbogățindu-le cu pirofosfat feric și acid citric sau o sare a acestuia, **Bulbarello A., Steiger G., Iron supplementation of rice kernels. Brevet, IN8761DEN2014 (A)-2015-05-22.** Mai multe brevete au ca obiect o metodă de preparare a unor ouă bogate în fier, având și alte proprietăți nutriționale considerate benefice pentru sănătate (de exemplu: conținut redus de colesterol), **Wang J. Tian D, Zhao X. Preparation method of eggs low in cholesterol content and high in iron content and potassium content. Brevet. CN 103829045 (A)-2014-06-04; Wang J., Tian D., Zhao X., Preparation method of eggs low in cholesterol content and high in iron content and zinc content. Brevet, CN 103829044 (A)-2014-06-04; Wang J., Tian D., Zhao X., Production method of low cholesterol, iron-rich and magnesium-rich egg. Brevet, CN103829050 (A)-2014-06-04.**

Alte invenții utilizează componente de origine animală care pentru consumatorii vegetarieni sau cu înclinații vegetariene pot fi considerate inacceptabile. Y. Ru et al. (2008) propun un produs pe bază de gelatină din piele de măgar și un amestec de organe subterane din mai multe specii vegetale, supuse decoctiei în apa în care a fost infuzată gelatina, **Ru Y. Mou H, Zhou F, Du S, Liang M. Preparation of Chinese medicine for treating iron deficiency anemia. Brevet, CN101264238 (A)-2008-09-17.** Jing W. et al. (2016) au formulat un comprimat masticabil bazat pe lactoferină bovină și fier din drojdie, pretinzând că prin eliminarea *Helicobacter pylori* asigură o uniformitate a efectului, **Jing W., ShengZhou W., Yuan Q., "Chewable tablet for treating iron-deficiency anemia and preparation method thereof", Brevet, CN105688196 (A)-2016-06-22.** P. Fengguang et al. (2016) au brevetat un supliment alimentar sub formă de pulbere, bazat pe chelatarea clorurii ferice cu hemoglobina izolată din sânge de porc, **Fengguang P., Jing Z., Xuqing Z., Phytochelatin iron supplementation powder containing iron and preparation method of phytochelatin iron supplementation powder. Brevet. CN 105420323 (A)-2016-03-23.** L. Ke (2016) utilizează un amestec complex de mai multe specii vegetale, dar și "*cornu cervi de gelatinatum*" (corn de cerb, degelatinat), de origine animală, **Ke L., "Chinese herbal preparation for treating iron-deficiency anemia and preparation method and application thereof", Brevet, CN 105456474 (A)-2016-04-06.** Ronghua Z et al. (2017) utilizează un amestec de proteine vegetale, animale și din gălbenuș de ou, sub formă de pulbere, **Ronghua Z., Mingji L., Cheng Y., Jinhua L et al. Fligh-nutrition protein powder rich in natural calcium, iron and zinc. Brevet, CN 106578331 (A)-2017-04-26.**

Mai multe brevete inspirate de medicina chineză tradițională propun amestecuri de mai multe specii vegetale în diferite proporții, extrase cu apă sau etanol la cald, **Fei Y., Iron-supplementing blood-tonifying healthcare product. Brevet, CN105394463 (A)-2016-03-16; Feng Q., Iron-deficiency anemia disease curing Chinese herbal medicine added black tea . Brevet, CN 105053302 (A)-2015-11-18.**

1 *Tagetes erecta* L., crăița (fam. Asteraceae), este utilizată în scopuri medicinale în
 2 diverse zone ale lumii, de exemplu ca antireumatic, în afecțiuni gastro-intestinale, renale sau
 3 hepatice, în febră sau pneumonie, *Chkhikvishvili I., Sanikidze T., Gogia N., Enukidze M.,*
 4 *Machavariani M., Kipiani N., Vinokur Y., Rodov V., Constituents of French Marigold*
 5 *(Tagetes patula L.) Flowers Protect Jurkat T-Cells against Oxidative Stress. Oxid Med*
 6 *Cell Eongev. 2016;2016:4216285. doi: 10.1155/2016/4216285.* Planta a fost explorată în
 7 cercetări farmacologice pentru potențiale utilizări ca analgezic, antidepresiv, anxiolitic și
 8 sedativ, Pérez-Ortega G., Angeles-López G.E., Argueta-Villamar A., González-Trujano
 9 M.E., “*Preclinical evidence of the anxiolytic and sedative-like activities of Tagetes*
 10 *erecta L. reinforces its ethnobotanical approach*”, *Biomed Pharmacother. 2017;*
 11 *93:383-390. doi: 10.1016/j.biopha.2017.06.064;* imunostimulator, antiinflamator,
 12 antitumorigen, antiviral [*Ayub M,A, Hussain A.I., Hanif M.A., Chatha SAS, Kamal G.M.,*
 13 *Shahid M, Janneh O. Variation in Phenolic Profile, β-Carotene and Flavonoid Contents,*
 14 *Biological Activities of Two Tagetes Species from Pakistani Flora. Chem Biodivers.*
 15 *2017; 14(6). doi: 10.1002/cbdv.201600463*], antihelmintic [*Piña-Vázquez D.M., Mayoral-*
 16 *Peña Z., Gomez-Sánchez M., Salazar-Olivo L.A., Arellano-Carbajal F., “Anthelmintic*
 17 *effect of Psidium guajava and Tagetes erecta on wild-type and Levamisole-resistant*
 18 *Caenorhabditis elegans strains”, J. Ethnopharmacol. 2017; 202:92-96. doi:*
 19 *10.1016/j.jep.2017.03.004*], insecticid [*Politi F.A., Nascimento J.D., da Silva A.A., Moro*
 20 *I.J., Garcia M.L., Guido R.V. Pietro R.C, Godinho A.F., Furlan M., Insecticidal activity*
 21 *of an essential oil of Tagetes patula L. (Asteraceae) on coinmon bed bug Cimex*
 22 *lectularius L. and molecular docking of major compounds at the catalytic site of*
 23 *CIACHel, Parasitol Res. 2017; 116(1):415-424*], antidiabetic și antihiperlipemic [*Wang W.,*
 24 *Xu H., Chen H., Tai K., Liu F., Gao Y., In vitro antioxidant, anti-diabetic and antilipemic*
 25 *potentials of quercetagetin extracted from marigold (Tagetes erecta L.) inflorescence*
 26 *residues. J Food Sci Technol. 2016; 53(6):2614-24. doi: 10.1007/s 13 197-016-2228-6*]
 27 etc. Din punct de vedere chimic, din organele speciei s-au izolat uleiuri volatile, terpene
 28 (beta-sitosterol, lupeol), flavonoide (kaempferol, quercetol, patuletină, quercetagetol,
 29 miricetină, luetol), compuși fenolici (acid m-cumaric), alcooli, carotenoide (peste 70% esterii
 30 ai luteinei), polizaharide și chiar aicaloizi [*Abdala A.F., Gallardo A.P., Olvera L.G., Silva*
 31 *E.M., “Hydrolysis of carotenoid eslers from Tagetes erecta by the action of lipases*
 32 *from Yarrowia lipolytica”, Bioresour Bioprocess. 2017;4(1):5. doi: 10.1186/s40643-*
 33 *016-013, 1-7; Ayub M,A, Hussain A.I., Hanif M.A., Chatha SAS, Kamal G.M., Shahid M,*
 34 *Janneh O. Variation in Phenolic Profile, β-Carotene and Flavonoid Contents, Biological*
 35 *Activities of Two Tagetes Species from Pakistani Flora. Chem Biodivers. 2017; 14(6).*
 36 *doi: 10.1002/cbdv.201600463.; Pérez-Ortega G., Angeles-López G.E., Argueta-Villamar*
 37 *A., González-Trujano M.E., “Preclinical evidence of the anxiolytic and sedative-like*
 38 *activities of Tagetes erecta L. reinforces its ethnobotanical approach”, Biomed*
 39 *Pharmacother. 2017; 93:383-390. doi: 10.1016/j.biopha.2017.06.064*]. Nu există date în
 40 literatura științifică de până în prezent care să afirme un rol al extractelor de *Tagetes erecta*
 41 L. (în particular, al frunzelor speciei) ca surse de fier cu utilizare nutrițională.

42 Problema pe care o rezolvă invenția este prezentarea unui procedeu de obținere a
 43 unui extract pentru suplimentarea fierului din alimentație și extractul obținut prin respectivul
 44 procedeu.

45 Procedeu conform invenției înlătură dezavantajele de mai sus prin aceea că frunzele
 46 speciei *Tagetes erecta* sunt supuse unei extracții repetate cu solvenți polari, de preferință
 47 cu apă acidulată cu acid citric 3% la temperatura de 40...100°C, de preferință, 80°C, timp de

RO 132538 B1

10..60 min, de preferință 30 min, concentrarea la temperaturi mai mici de 80°C și uscarea prin liofilizare obținându-se un extract care conține 900 mg/kg fier, cel mult 3,5% polifenoli și cel mult 0,5% flavone sub formă de comprimate, capsule, granule, pelete sau sub formă farmaceutică lichidă.	1
Prin aplicarea invenției se obțin următoarele avantaje:	5
- procesul de obținere a extractului este simplu și eficient din punct de vedere al costurilor;	7
- extractul obținut conform invenției are un conținut redus în polifenoli (mai puțin de 3,5% echivalenți acid galic) și flavone (mai puțin de 0,5% echivalenți quercetol), despre care se știe că influențează negativ absorbția fierului [Abizari A.R., Moretti D., Schuth S. et al., “Phytic acid-to-iron molar ratio rather than polyphenol concentration determines iron bioavailability in whole-cowpea meal among young women” , J Nutr. 2012; 142(11):1950-5].	9
Prezenta invenție se referă la un proces de preparare a unui extract vegetal din frunzele speciei <i>Tagetes erecta L.</i> , bogat în fier, care să poată fi utilizat ca supliment alimentar. Obținerea extractului implică următoarele etape:	11
a) colectarea materialului vegetal la momentul optim;	13
b) uscarea materialului vegetal în condiții controlate de temperatură și umiditate;	15
c) pulverizarea materialului vegetal uscat și sitarea acestuia;	17
d) extracția repetată a materialului pulverizat cu un solvent polar acidulat, de preferință cu acid citric;	19
e) concentrarea soluțiilor extractive obținute la etapa d) la temperaturi mai mici sau egale cu 80°C prin metode cunoscute;	21
f) liofilizarea soluției concentrate obținute la etapa e) la temperaturi mai mici de -50°C.	23
Descrierea detaliată a prezentei invenții și exemplele furnizate aici sunt ilustrative, deoarece variate modificări și ajustări sunt posibile, acestea fiind ușor evidente pentru o persoană de specialitate în domeniu. Modurile de realizare prezentate în continuare sunt ilustrative și nu limitează descrierea invenției așa cum va fi prezentată în continuare. Materialul vegetal poate fi colectat din flora spontană sau poate fi obținut în condiții de cultură, cu respectarea bunelor practici agricole pentru plante medicinale. Extractul conform invenției are un conținut minim de fier de 900 mg/kg, un conținut în polifenoli de maximum 3,5 g echivalenți acid galic la 100 g extract, și un conținut în flavone de maximum 0,5 g echivalenți quercetol la 100 g extract.	25
Obținerea extractului conform invenției presupune următoarele etape:	27
1. Materialul vegetal, reprezentat de frunzele speciei <i>Tagetes erecta L.</i> , colectat de preferință la stadiul înfloririi, este purificat de corpurile străine de planta producătoare și de impurități.	29
2. Materialul vegetal se usucă în condiții adecvate de temperatură și umiditate, de preferat la umbră (temperaturi mai mici de 35°C, umiditate sub 65%).	31
3. Frunzele uscate sunt supuse pulverizării prin măcinare și cernute printr-o sită cu dimensiunea ochiurilor de 250 μm.	33
4. Materialul vegetal se supune extracției de două ori cu un solvent polar acidulat cu un acid organic sau anorganic la o temperatură variind între 40 și 100°C, de preferință 80°C, timp de cel puțin 10 min la fiecare etapă de extracție (de preferință 30 min), utilizând un raport între solvent și produsul vegetal variind între 5:1 și 50:1, de preferință 10:1.	35
5. Soluțiile extractive se filtrează, se reunesc și se concentrează prin metode cunoscute la temperaturi mai mici sau egale cu 80°C, de exemplu cu ajutorul unui evaporator rotativ.	37

RO 132538 B1

1 6. Soluția concentrată se supune apoi liofilizării la temperaturi mai mici de (-) 50°C,
când se obține un extract cu miros slab caracteristic și gust acru.

3 Extractul obținut conform invenției are un conținut de fier de cel puțin 900 mg/kg și
un conținut redus în polifenoli (mai puțin de 3,5% echivalenți acid galic) și flavone (mai puțin
5 de 0,5% echivalenți quercetol).

7 Extractul uscat astfel obținut poate fi procesat pentru obținerea de suplimente
alimentare, utilizând excipienți adecvați. Exemple de excipienți adecvați sunt: lactoza,
celuloza microcristalină și derivații de celuloză, maltodextrinele, talcul, siliciul coloidal,
9 polietilen-glicolul și derivații acestuia. Antioxidanții (de preferință acid ascorbic) sau
aminoacizii cu caracter bazic (arginină, lizină) pot fi, de asemenea, utilizați.

11 Într-un alt mod de realizare a invenției, extractul poate fi administrat sub formă de
comprimate (simple sau filmate) sau capsule operculate, prin asociere cu excipienți adecvați,
13 pentru suplimentarea fierului în alimentație.

15 Într-un alt mod de realizare a invenției, extractul obținut este asociat cu un extract
obținut din fructe de *Pimpinella anisum L.* și apă (de preferință 2,5 g fructe la 100 ml apă)
prin fierbere timp de 5 min, urmată de concentrare și liofilizare.

17 Invenția oferă o soluție pentru obținerea unui extract de origine vegetală, fiind bazată
pe investigația sistematică a variației conținutului de fier, polifenoli și flavone în organele mai
19 multor specii vegetale, cultivate pe soluri diferite, la diferitele stadii de dezvoltare ale
plantelor, precum și pe investigația sistematică a principalilor parametri care definesc
21 procesul de extracție. Procesul de obținere a extractului este simplu și eficient din punct de
vedere al costurilor. Materia primă vegetală poate fi obținută la costuri rezonabile, frunzele
23 fiind un organ vegetal regenerabil, și reprezintă un produs secundar al speciei, care, în
scopuri medicinale, este utilizată în principal pentru flori. Solventul utilizat în modalitatea
25 preferată de realizare a invenției (apă și etanol), este ieftin și sigur. Extractul obținut conform
invenției are un conținut redus în polifenoli (mai puțin de 3,5% echivalenți acid galic) și
27 flavone (mai puțin de 0,5% echivalenți quercetol), despre care se știe că influențează negativ
absorbția fierului [Abizari A.R., Moretti D., Schuth S. et al., "***Phytic acid-to-iron molar
29 ratio rather than polyphenol concentration determines iron bioavailability in whole-
cowpea meal among young women***", J Nutr. 2012; 142(II):1950-5.; Cook J.D., Reddy
31 M.B., Hurrell R.E., *The effect of red and white wines on nonheme-iron absorption in
humans. Am J Clin Nutr. 1995; 61(4):800-4; Hurrell R.F., Reddy M., Cook J.D., Inhibition
33 of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. Br J Nutr.
1999; 81 (4)289-95; Ma Q., Kim E.Y., Lindsay E.A., Flan O., "***Bioactive dietary
35 polyphenols inhibit heme iron absorption in a dose-dependent manner in human
intestinal Caco-2 cells. J Food Sci. 2011; 76(5):H 143-50; Tuntawiroon M., Sritongkul
37 N., Brune M. et al. Dose-dependent inhibitory effect of phenolic compounds in foods
on nonheme-iron absorption in men. Am J Clin Nutr. 1991 Feb;53(2):554-7***]. Deoarece
39 solventul de extracție este apa acidulată cu acid citric 3%, extractul conține cantități
importante de acid citric, despre care se știe că influențează favorabil absorbția fierului la
41 administrare orală [Palika R., Mashurabad P.C., Kilari S., Kasula S., Nair K.M., Raghu P.,
"***Citric acid mediates the iron absorption from low molecular weight human milk
43 fractions***", J. Agric Food Chem. 2013; 61(46):1 1151-7. doi: 10.1021/jf403973;
Teucher B., Olivares M., Cori H., *Enhancers of iron absorption: ascorbic acid and other
45 organic acids. Int J Vitam Nutr Res. 2004; 74(6):403-19*]. În literatură s-a argumentat că
47 este necesară prezența/adăugarea a 1 g de acid citric la o masă alimentară conținând 3 mg
de fier. Prin conținutul ridicat de acid citric, invenția propusă satisface această cerință.*

În plus, acidul citric poate inhiba dezvoltarea *Helicobacter pylori* [Zazgornik J., Mittermayer H., *Citric acid inhibits growth of Helicobacter pylori in vitro: a new strategy for eradication. Wien Klin Wochenschr. 2011; 123(1-2):38-40. doi: 10.1007/s00508-010-1524-9*], care este un important factor contributiv la anemia feriprivă [Burns M., Amaya A., Bodi C., Ge Z., Bakthavatchalu V., Ennis K., Wang T.C., Georgieff M., Fox J.G., *Helicobacter pylori infection and low dietary iron alter behavior, induce iron deficiency anemia, and modulate hippocampal gene expression in female C57BL/6 mice. PLoS One. 2017 Mar 29;12(3):e0173 108. doi: 10.1371/journal.pone.0173 108; Muhammad J.S., Zaidi S.F., Saeed S.A., Ishaq M., "Current status of *Helicobacter pylori* association with haematological and cardiovascular diseases: A mini review", J. Pak Med Assoc. 2017; 67(6):907-911]. Asocierea cu un extract apos obținut prin fierberea semințelor de *Pimpinella anisum L.* și apă, permite îmbunătățirea suplimentară a absorbției [El-Shobaki F.A. Saleh Z.A., Saleh N., *The effect of some beverage extracts on intestinal iron absorption. Z Ernährungswiss. 1990; 29(4):264-9*].*

În continuare, se prezintă două exemple de realizare și utilizare a invenției.

Exemplul 1

Frunzele de *Tagetes erecta L.*, recoltate în perioada înflorii, se usucă și se supun măcinării. Din pulberea obținută prin sitarea cu o sită cu dimensiunea ochiurilor de 250 μm se cântăresc 100 g. Această cantitate se supune extracției repetate (două extracții), la 80°C, timp de 30 min pentru fiecare extracție, utilizând ca solvent apă acidulată cu acid citric 3%, după o umectare prealabilă de 5 min și un raport produs vegetal: solvent de 1:10 (sunt necesari circa 2,5 l solvent). Soluțiile obținute se reunesc și se concentrează cu ajutorul unui evaporator rotativ la 80°C, iar soluția apoasă concentrată rezultată se supune liofilizării la -53°C. Se obțin 99,56 g de extract cu miros slab caracteristic și gust acru. Randamentul de extracție aparent foarte ridicat (100%) este datorat prezenței acidului citric în produsul final de extracție. Extractul obținut conține 2,97% (d.s. 0,03%) polifenoli (echivalenți acid galic) și 0,37% (d.s. 0,02) flavone (echivalenți quercetol). Spectrul IR al extractului (fig. 1) permite evaluarea reproductibilității metodei de obținere, prin utilizarea coeficientului de corelație Pearson pentru seriile ulterioare.

Exemplul 2

5,8 kg de extract obținut conform exemplului 1 se introduc într-un granulator împreună amidon de porumb (20 g), unde se omogenizează prin amestecare timp de 60 min și se usucă timp de alte 15 min. Se introduc în granulator câte 20 g de talc și stearat de magneziu, se omogenizează 15 min, iar granulele obținute se sitează (1,035 mm) timp de 30 min. Pulberea sitată se utilizează la umplerea de capsule (520 mg), cu un conținut de circa 0,49 mg fier per capsulă.

RO 132538 B1

1

Revendicări

3

1. Procedeu de obținere a unui extract pentru suplimentarea fierului din alimentație, **caracterizat prin aceea că** frunzele speciei *Tagetes erecta* sunt supuse unei extracții repetate cu solvenți polari, de preferință cu apă acidulată cu acid citric 3% la temperatura de 40...100°C, de preferință 80°C, timp de 10...60 min, de preferință 30 min, concentrarea la temperaturi mai mici de 80°C și uscarea prin liofilizare obținându-se un extract care conține 900 mg/kg fier, cel mult 3,5% polifenoli și cel mult 0,5% flavone sub formă de comprimate, capsule, granule, pelete sau sub formă farmaceutică lichidă.

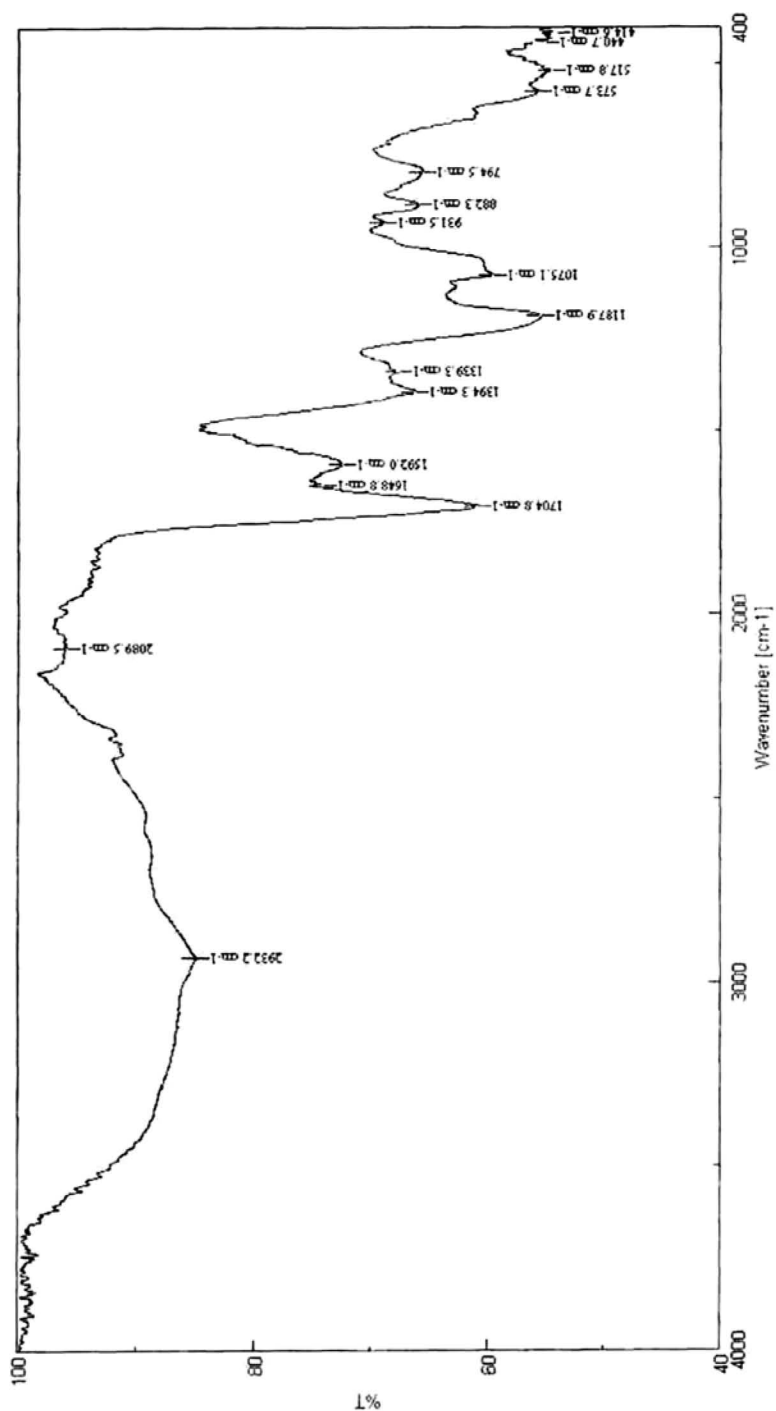
5

7

9

11

2. Extract pentru suplimentarea fierului din alimentație obținut prin procedeul de obținere definit în revendicarea 1.



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 136/2020