



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2020 00173**

(22) Data de depozit: **01/04/2020**

(41) Data publicării cererii:
30/12/2020 BOPI nr. **12/2020**

(71) Solicitant:
• **AC HELCOR S.R.L., STR. VICTOR BABEȘ
NR. 50, BAIA MARE, MM, RO**

(72) Inventatori:
• **POP ANCA LUCIA,
STR.BANUL ANTONACHE NR.52-60, SC.C,
AP.1, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **PENEȘ NICOLAE OVIDIU,
ȘOS.KISELEFF, NR.41, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO**

(54) **FORMULĂ INOVATIVĂ CU CARNOSINĂ
ȘI PIROLOCHINOLINĂ QUINONĂ PENTRU ADMINISTRARE
ORALĂ CU ROL DE NEUTRALIZARE A RADICALILOR
LIBERI ÎN ORGANISM-SUPLIMENT ALIMENTAR**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o compoziție pentru administrare orală cu rol de neutralizare a radicalilor liberi din organism. Compoziția, conform invenției, cuprinde în părți masice: 4 părți L-Carnosină, 0,13 părți Pirolochinolina Quinona, 11 părți L-Carnitină, 4 părți Vitamina C/acid ascorbic, 7,50 părți extract din frunze de ceai verde, 4 părți extract de turmeric, 3,28 părți acid alfa lipoic, 1,5 părți astaxantină, 1,25 părți extract de rădăcină de *Polygonum Cuspidatum*, respectiv, extract

de scoarță de Pin-maritim, 1 parte coenzima Q10, 0,45 părți Vitamina E, 0,16 părți oxid de zinc, 0,04 părți bisglicenat de cupru, 0,02 părți vitamina B2 și 0,88 părți excipienți de formulare sub formă de pulbere, capsule sau comprimate.

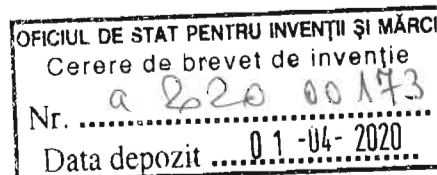
Revendicări: 4
Figuri: 1



87

Formulă inovatoare cu carnosina și pirolochinolină quinonă pentru administrare orală
cu rol de neutralizare a radicalilor liberi în organism

- supliment alimentar



Descriere

Invenția de față se referă la un produs - **AGE MANAGEMENT AOX** - bazat pe o combinație originală de ingrediente active având ca principii active noi: **L-carnosina și pirolochinolina quinonă, și care asociază în formulă unică o serie de compuși cunoscuți pentru efectul antioxidant respectiv coenzima Q10, biocurcumină (turmeric), resveratrol (*Polygonum Cuspidatum*), acid alfa lipoic, vitamina C (acid ascorbic), extract de pin, carnitină, astaxantin, polifenoli din ceai verde, vitamina E, Zn sub formă de oxid de zinc, cupru sub formă de bisglicinat de cupru, vitamina B₂ (riboflavină)**, destinat administrării la adulți, cu rol antioxidant.

Exista pe piață numeroase produse pe bază de curcumina, CoQ10, resveratrol, vitamine, picnogenol, ceai verde, acid alfa lipoic, în premiera am realizat o formulă pe bază de carnosina și Pirolochinolina Quinonă pentru administrare orală, în prevenția modificărilor biochimice legate de acumularea radicalilor liberi în organism.

AGE MANAGEMENT AOX se referă la o compoziție pentru capsule sau comprimate caracterizată prin aceea că aceasta cuprinde 0,88 părți (m/m) excipienți de formulare (stearat de magneziu și dioxid de siliciu coloidal) - 2,19% m/m și principii active originale **L-Carnosină** 4 părți - 9,93% m/m, **Pirolochinolina Quinonă (PQQ)** 0,13 părți - 0,31% m/m, **L-Carnitina** 11 părți (m/m) - 27,30% m/m, **vitamina C/acid ascorbic** 40 părți - 9,93% m/m, extract din frunze de **Ceai verde (*Camellia sinensis*)** - standardizat la 50% polifenoli 7,50 părți - 18,61% m/m din care 3,75 părți polifenoli (epigallocatechingalat) 9,3% m/m, extract de **turmeric (*Curcuma longa*)** 4 părți - 9,93% m/m, **acid alfa lipoic** 3,28 părți - 8,13% m/m, **astaxantină** 1,5 părți - 3,72% m/m, extract din rădăcină de *Polygonum Cuspidatum* 1,25 părți - 3,10% m/m cu 50% **resveratrol** (0,625 părți - 1,6% m/m), extract din scoarță de **Pinmaritim (*Pinus pinaster*)** 1,25 părți - 3,10% m/m standardizat în 99% picnogenol (1,24 părți - 3,07%), **coenzima Q10/ubiquinonă** 1 (o) parte - 2,48% m/m, dry - **vitamina E** 50% CWS/S (forma solidă, depusă pe substrat de amidon) 0,3 părți 0,74% m/m - cu 0,15 părți vitamina E/tocoferol - 0,37% m/m, oxid de **zinc** 0,16 părți - 0,39% m/m (Zinc 12,5% VNR*), bisglicinat de **cupru** 0,04 părți - 0,11% m/m (Cupru 12,50% VNR*), **vitamina B2/riboflavină** 0,02 părți - 0,04% m/m (12,50% VNR*); *VNR - procent din Valorile Nutriționale de Referință cf. Regulamentului 1169/2011.

Acțiunea produsului **AGE MANAGEMENT AOX** este determinată în principal de combinația de principii active din compoziția sa.

Asocierea celor 15 principii bioactive din plante (turmeric, resveratrol, picnogenol, astaxantina) vitamine (vitamina B2, C, E) și minerale (Cu, Zn), aminoacizi din care două molecule în premieră – carnosina și PQQ - determină un efect sinergic antioxidant, anti-îmbătrânire și de neutralizare a radicalilor liberi produși în mod continuu în organismul uman, reglează nivelul colesterolului, protejează sistemul nervos, protejează vederea, întărește sistemul imunitar, cu rol în prevenția bolilor degenerative și a bolilor cardiovasculare.

Invenția se referă la prepararea unui medicament sau supliment alimentar pentru prevenirea tulburărilor de stress oxidativ și nitroxativ, în special în cazurile în care peroxidarea lipidică este o componentă importantă a alterărilor biochimice (îmbătrânire, obezitate, chimioterapie, dislipidemii, status inflamator cronic).

48 **Bibliographical data**

Antioxidanții sunt molecule care inhibă oxidarea altor molecule și apără organismul de efectele radicalilor liberi.

Radicalii liberi, produși fie prin metabolismul celular normal, fie ca efect al poluării și expunerii la alți factori externi, sunt responsabili de îmbătrânirea prematură a organismului și au rol în apariția bolilor cardiovasculare sau degenerative (cataracta, boala Alzheimer, cancerul). Îmbătrânirea este factorul de risc primar în boala Alzheimer, pe măsura îmbătrânirii, după vârsta mijlocie (45-65 ani), mediul RedOx extracelular trece în status „oxidat”. Scade protecția tamponului RedOx mitocondrial, crește generarea (și concentrația) de specii reactive de oxigen (SRO), legate de disfuncția mitocondrială. Statusul oxidativ promovează neurodegenerarea; asigurarea generării de NADH la acest nivel ar fi o țintă terapeutică mai eficientă înaintea GSH și generării SRO.

60 **Rol în organism**

Antioxidanții împiedică procesul de îmbătrânire a celulelor din organism, datorită acțiunii împotriva radicalilor liberi, antioxidanții sunt și aliații frumuseții, produsele anti-aging având diverși antioxidanți pe lista de ingrediente: vitamina C, vitamina E, ceai verde, extract din semințe de struguri, coenzima Q10, SOD, etc.

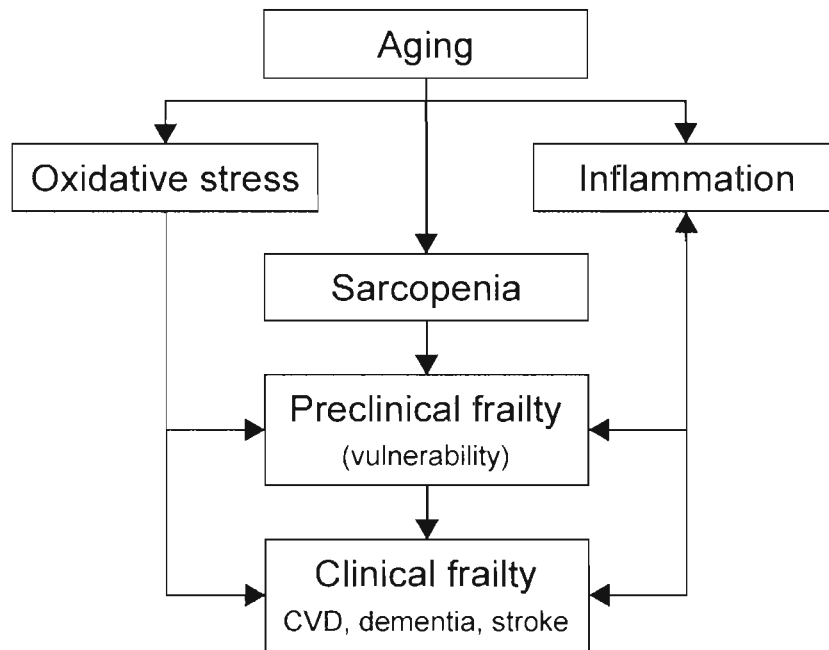
Beneficiile antioxidantilor

66 Antioxidanții luptă cu radicalii liberi, reduc stresul oxidativ și încetinesc procesul de îmbătrânire; alte beneficii pentru organism:

- 68 • reglează nivelul colesterolului
- protejează sistemul nervos
- 70 • protejează vederea



- 72
- întărește sistemul imunitar
 - previne bolile degenerative și bolile cardiovasculare
 - ajută în tratamentul cancerului



76 Figura 1 legătura între oxi-inflamație-îmbătrânire și fragilitatea biochimică ante-boală și boală (preclinical and clinical frailty). CVD, boala cardiovasculară [Liguori & al. 2018]

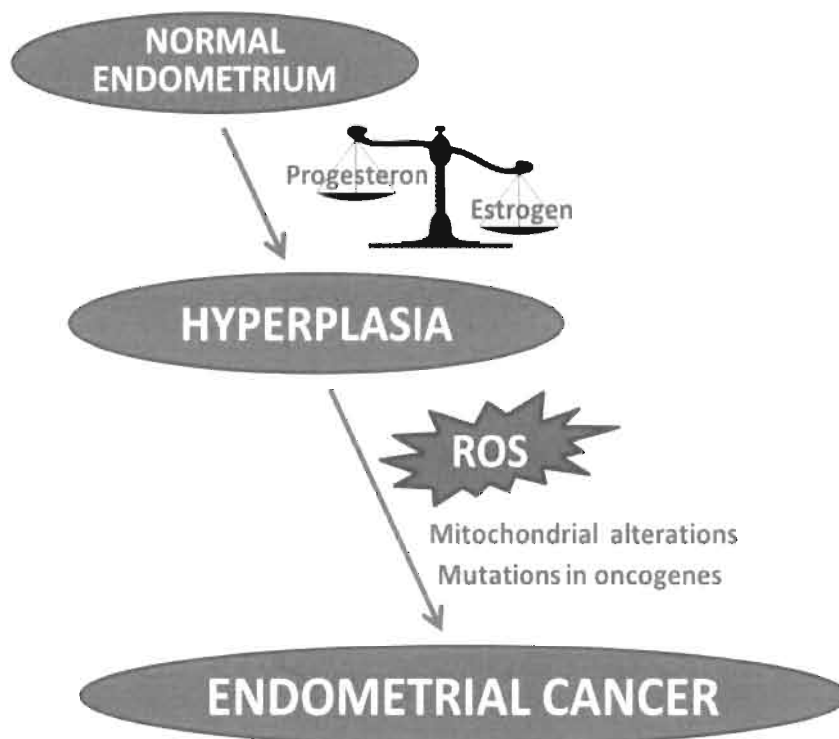
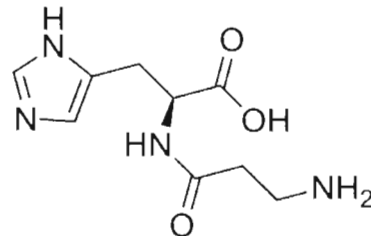


Figura 2 implicarea speciilor reactive de oxigen în diferite forme de cancer – cancerul endometrial (după

80 Ingredientele ce intră în compoziția produsului au următoarele beneficii:

Carnosina

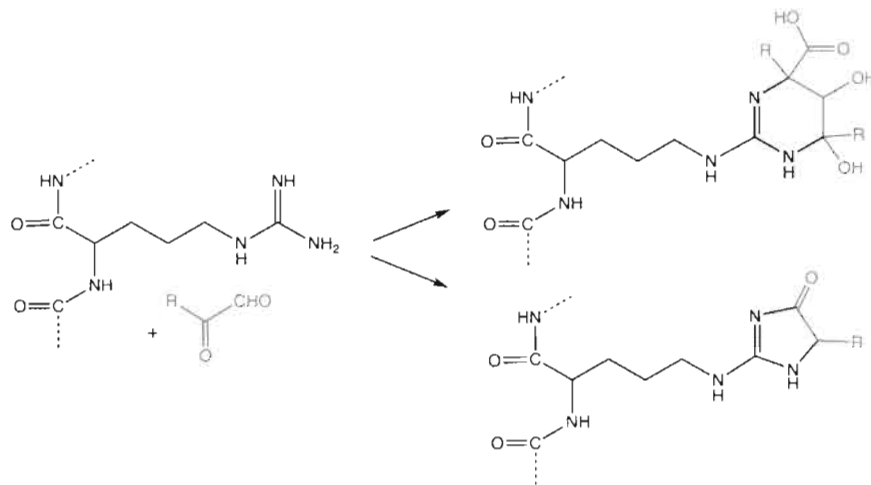
82 Carnosina sau beta-alanil-histidina este un dipeptid endogen de mici dimensiuni care
 84 contine doi aminoacizi, beta-alanina si histidina izolată pentru prima oară în anul 1900 de
 Gulewitsch.



86 Figura 3 Carnosina - *beta*-alanil-L-histidine (denumire IUPAC (2S)-2-[(3-Amino-1-oxopropyl)amino]-3-(3H-imidazol-4-yl) propanoic acid

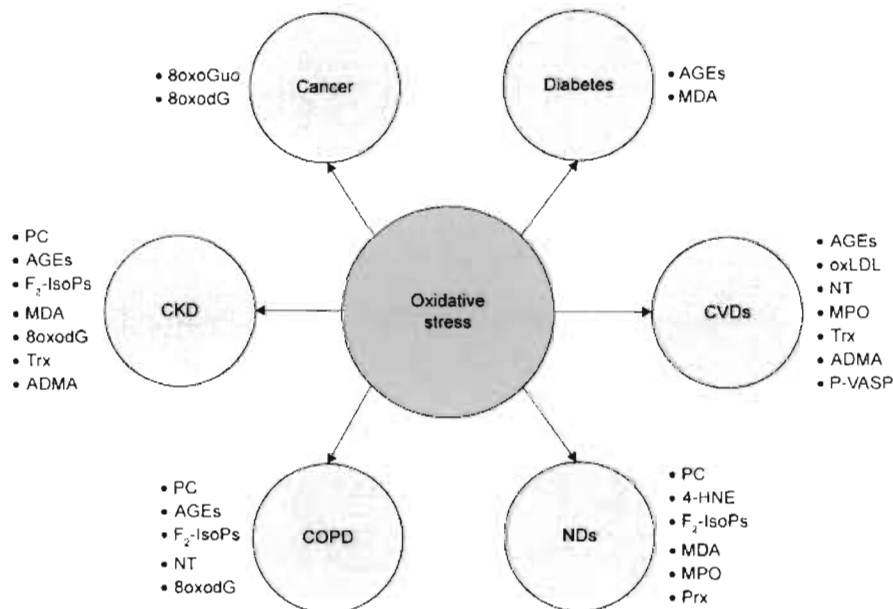
88 Se găsește în concentrații relativ mari în mai multe țesuturi ale corpului, în special în muschii
 scheletici, în muschii cardiaci și în creier. Lucrul remarcabil este că acești doi aminoacizi
 90 funcționează mult mai eficient legați decât independent. În timp ce este încă combinată,
 carnosina este responsabilă pentru o serie de activități de detoxificare a radicalilor liberi în
 92 special produși prin peroxidarea membranelor lipidice. Studii recente relevă și faptul că
 această moleculă are un rol protector al membranelor celulare, capacitate tampon pentru
 94 protoni, formarea complexelor cu metale de tranziție și reglarea activității macrofagelor;
 carnosina are în organism abilitatea unică de a întineri celulele - pentru a face celulele vechi
 96 mai tinere și pentru a-și extinde ciclul de viață.

Carnosina are proprietăți antioxidante puternice și specifice, protejează împotriva radiațiilor,
 98 îmbunătățește funcția inimii și promovează recuperarea de la rani. Recent a fost demonstrat
 potențialul carnitinei de a capta selectiv și puternic aldehidele alfa și beta – produși de
 100 degradare în urma peroxidării lipidice a membranelor celulare sub atacul agenților agresori
 (stress oxidativ și nitro-oxidativ ce generează ROSN – reactive oxidative and nitrogen
 102 species) astfel carnosina inhibă cross-linking-ul proteină – proteină și ADN-proteină în boli
 neurodegenerative (boala Alzheimer) alterările cardiomiocitelor din boala ischemică cardiacă
 104 și în boli inflamatorii, BPOC, boala renală cronică și cancer. Producții terminali de glicare
 (AGE) sunt markeri ai proceselor de îmbătrânire sau a proceselor metabolice degenerative
 106 ca diabetul, ateroscleroza, boala renală cronică, boala Alzheimer.



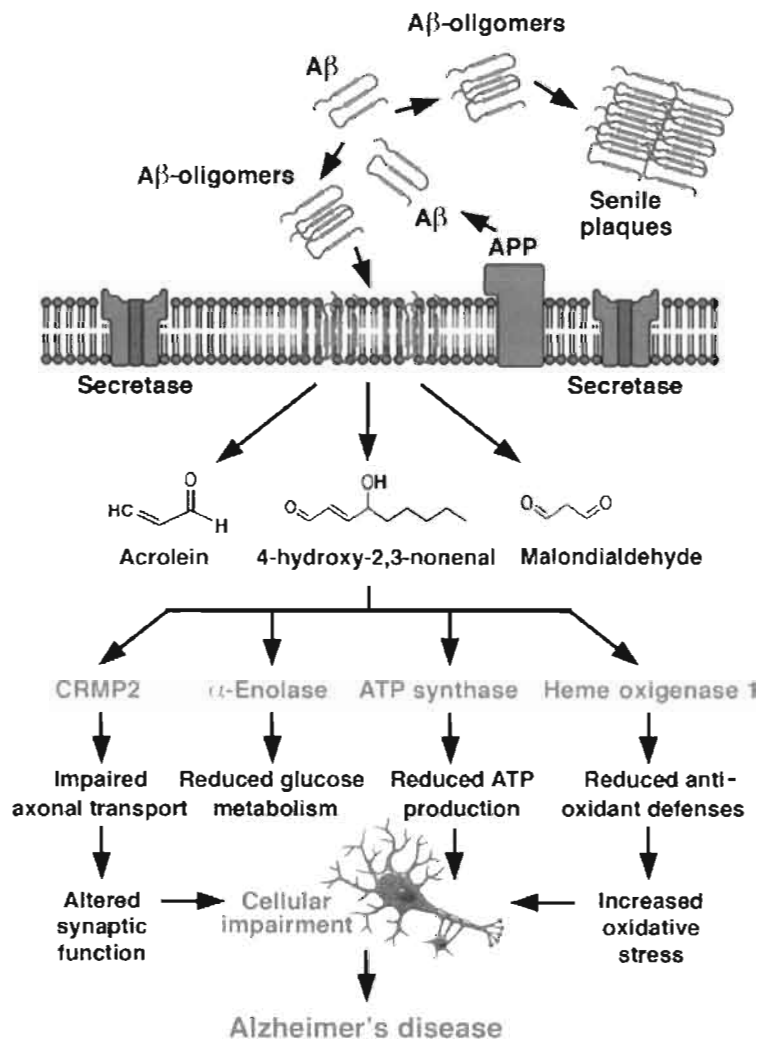
108 **Figura 4** Procesul de glicare. Formarea pirimidinei derivate din metilgloxal și imidazon
 110 Glicarea determină deseori modificarea porțiunii guanidină din reziduurile de arginină cu
 gloxal (R=H), metilgloxal (R=Me) și 3-deoxiglucosona – ce derivă din dietele bogate în
 carbohidrați. Modificate aceste proteine contribuie la complicațiile diabetului

112 AGE se formează predominant din hrana de origine animală și se formează în plus prin
 gătitul mâncării. Carnozina reduce rata de formare a produșilor terminali de glicare. Efectul
 114 antioxidant al carnosinei este atribuit efectului său de chelare a ionilor metalici din organism,
 activitate tio SOD și capacității de captare a radicalilor liberi.



116 **Figura 5** Stress oxidativ, boli legate de îmbătrânire și biomarkeri (4-HNE, trans-4-hydroxy-2-
 118 nonenal; 8oxodG, 7,8-dihydro-8-oxo-2'-deoxyguanosine; 8oxoGuo, 7,8-dihydro-8-
 oxoguanosine; ADMA, asymmetric dimethyl L-arginine; AGEs, advanced glycation end
 120 products; CKD, chronic kidney disease; CVDs, cardiovascular diseases; F₂-IsoPs, F₂-
 isoprostanes; MDA, malondialdehyde; MPO, myeloperoxidase; NDs, neurodegenerative
 122 diseases; NT, nitrotyrosine; oxLDL, oxidized low-density lipoprotein; PC, protein carbonyl;
 Prx, peroxiredoxins; P-VASP, phosphorylated vasodilator-stimulated phosphoprotein; Trx,
 124 thioredoxin. [Liguori & al. 2018])

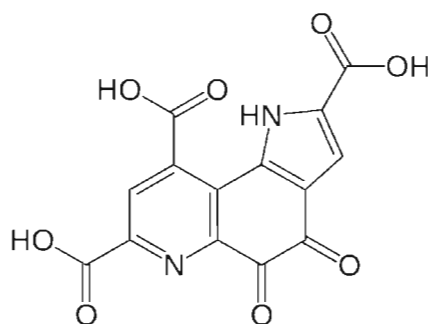
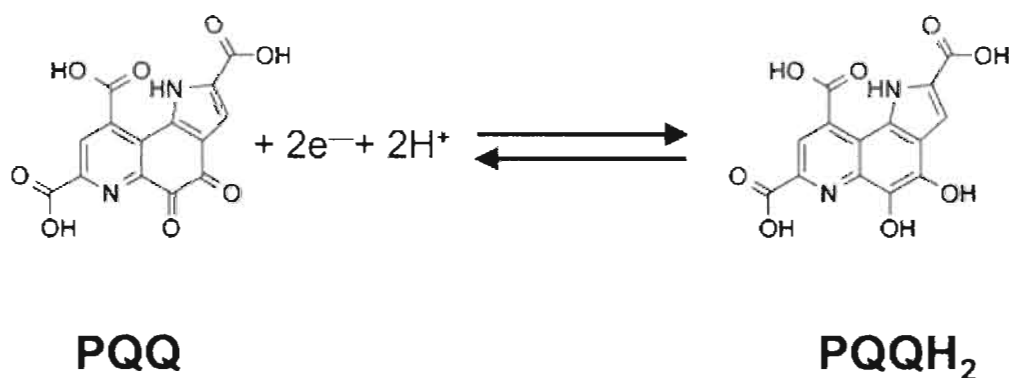
- 126 Carnosina este prezentă în țesutul nervos și muscular uman în concentrații de până la 20
mM.
- 128 Capacitatea acesteia de a neutraliza alchidele toxice rezultate din caile metabolice de
degradare oxidativă a compușilor endogeni ca și hidrații de carbon (glucide), acizi grași
130 nesaturați și proteine este implicată și în neutralizarea 4-hidroxi -2,3-nonenal (HNE)
moleculă ce formează adducți cu biomacromolecule endogene reacționând cu cisteina, lisina,
132 histidina din componența proteinelor endogene generând modificări structurale și
conformaționale ce stau la baza alterărilor din procesele degenerative.



- 134
- 136 **Figura 6** Modelul redox in patogeneza bolii Alzheimer. Beta peptidul amiloid (Aβ) generat
prin clivarea proteolitică prin secretaze a proteinei precursoră de amiloid (APP) ce se
138 inseră în membrana celulară (neuronală) vor induce peroxidarea lipidică cu formarea
140 produșilor de lipoxidare printre care și 4-HO-2,3-nonenal – cu cea mai intensă activitate
biologică, acroleină – specia cea mai reactivă și metil malon aldehydă – metaboliți toxici
generați endogen (20).

142 **Pirolochinolina Quinonă (PQQ)**

143 Este un cofactor redox natural găsit în sol sau în alimentele– fructul kiwi, soia fermentat[cu
 144 natto, ceai, ardei verde, patrunjel sau laptele de sân (uman). Enzimele ce conțin PQQ sunt
 145 denumite quino-proteine de exemplu dehidrogenaza glucozei (GDH) utilizată și ca senzor
 146 de glucoză. A fost descoperită de J.G. Hauge ca al treilea cofactor redox după nicotinamida
 (NAD) și flavina în bacterii. Anthony, Zatman a identificat cofactorul redox PQQ în alcool
 148 dehidrogenaza și Salisbury și Duine au identificat structura sa moleculară în 1979.

150 **Figura 7** Structura chimică - Pirolochinolina Quinonă (ACD/ChemSketch 10.0 & Inkscape)152 **Figura 8** reacția redox cu substrat PQQ

153 Poziționată inițial ca vitamină B (Kasahara, Nature 2003) o lucrare publicată în lucrările
 154 Academiei naționale de Științe a identificat PQQ ca o 'vitamină' a longevității dar neesențială
 supraviețuirii însă necesară pentru sănătatea pe termen lung (22) ca vitamină a longevității.
 156 Astfel, PQQ a devenit recent un subiect de interes printre nutriționiști și specialiștii în
 longevitate. Studii nutriționale au prezentat faptul că deficiențe nutriționale în PQQ la
 158 soareci și sobolani se manifestă în moduri diferite incluzând deficite în creștere, deficite în
 răspunsul imun, performanță redusă de reproducere și tulburări ale performanței respiratorii
 160 PQQ activează căi în organism, care pot promova metabolismul energetic celular. Ca un
 antioxidant puternic, PQQ protejează și mărește funcționalitatea mitocondriilor existente.
 162 - Încetinește îmbătrânirea mitocondrială.
 PQQ promovează, de asemenea, generarea de noi mitocondrii (biogenesis mitocondrial).

164 - Creșterea mitocondriilor = creșterea producției de energie, din acest motiv, este considerat
un compus activ anti-îmbătrânire.

166 În forma redusă activitatea de neutralizare a radicalilor aroxil liberi este de 7,4 ori mai mare
față de cea a vitaminei C fiind cel mai activ antioxidant din organism în forma sa hidro-
168 solubilă. Studii arată că PQQ amplifică funcțiile mitocondriale, induce regenerarea neuronilor
și acelușelor nervoase, mențin funcția neuronală și fertilitatea (24). În forma redusă
170 activitatea de neutralizare a radicalilor. PQQ prezintă un rol protector în activitatea glandei
parotide, ficat, rinichi și țesut osos prin inhibarea stresului oxidativ și alterarea ADN în urma
172 expunerii la agenți agresori (25) și recent s-a demonstrat că PQQ are un efect inhibitor
asupra diferențierii osteoclastelor in vitro (26) și previne osteoporoza indusă de deficitul de
174 estrogen prin inhibarea stresului oxidativ și inhibarea senescenței osteocitelor (Qinghe
Geng, 2019) și previne osteoartrita genunchiului pe modelele animale (Qin, 2019) (27)

176 PQQ nu prezintă toxicitate și genotoxicitate (28) la administrarea orală deci suplimentarea
cu PQQ este un mod promițător pentru îmbunătățirea statusului de sănătate în cursul
178 proceselor dismetabolice, inflamatorii sau legate de senescență.

Coenzima Q10

180 Este un antioxidant care ajută sistemul imunitar, sistemul nervos și activitatea inimii și care
reduce semnele îmbătrânirii. Odată cu înaintarea în vârstă, organismul catalizează tot mai
182 greu coenzima Q10, dar o putem lua din suplimente și alimente precum peștele gras, carnea
de pui și de vită, nuci și semințe.

184 Extract de biocurcumin din turmeric

Curcuma este o plantă care se înrudește cu ghimbirul și reprezintă de fapt un gen din care
186 fac parte în jur de 100 de specii de plante perene, din familia Zingiberaceae. Această plantă
este originară din sudul Asiei și nordul Australiei, fiind folosită cu precădere în India, de
188 peste 4000 de ani, datorită proprietăților sale terapeutice. Turmericul (*Curcuma longa*)
reprezintă una dintre speciile de curcuma, fiind cunoscut și sub denumirea de **sofran**
190 **indian**.

Turmericul a fost îndelung utilizat în medicina ayurvedică (medicina tradițională indiană), dar
192 și în medicina chineză tradițională, datorită numeroaselor sale proprietăți terapeutice.
Beneficiile sunt datorate substanței active din turmeric, curcumin, care ajută la tratarea
194 inflamațiilor.

- **Ajută la îmbunătățirea memoriei** - în câteva studii realizate pe populațiile din Asia a
196 fost demonstrat faptul că persoanele care au consumat mai mult curry au obținut
rezultate mai bune la testele de evaluare cognitivă față de cele care nu au consumat
198 acest condiment. Cercetătorii au corelat acest beneficiu cu turmericul, care este unul

79

200 dintre ingredientele principale ale acestui amestec de condimente, dar și din alimentația asiaticilor. Totodată, cercetătorii cred că efectele antiinflamatorii ale curcuminului pot proteja creierul împotriva bolilor degenerative și pot preveni apariția bolii Alzheimer.

202 • **Rol antiinflamator și antioxidant** - unul dintre cele mai importante beneficii ale curcuminului este capacitatea de a reduce inflamațiile prin blocarea anumitor enzime implicate în acest proces. Totodată, efectul său antioxidant ajută la prevenirea artritei, astmului sau bolilor inflamatorii intestinale.

206 • **Îmbunătățește procesul de detoxificare** - datorită proprietăților antioxidante, curcuminul ajută la menținerea sănătății organismului și stimulează enzimele care combat radicalii liberi, responsabili pentru deteriorarea celulelor și a ADN-ului;

Resveratrol (*Polygonum Cuspidatum*)

210 Resveratrolul se găsește în mod natural în struguri, fragi, alune, în vinul roșu, precum și în rădăcinile și ramurile de *Polygonum cuspidatum*, o plantă populară utilizată de foarte mult timp în medicina asiatică. Cojile speciilor de fructe roșii și negre sunt bogate în resveratrol, un derivat de stilben. Studiile au demonstrat că resveratrolul posedă proprietăți antioxidante,

216 Resveratrolul are următoarele efecte:

- protector hepatic și cardiovascular;

218 - antioxidant;

- anti-îmbătrânire;

220 - anticelulitic;

- crește tonusul și elasticitatea pielii;

222 - întărește sistemul imunitar;

- adjuvant în terapiile antitumorale.

224 • Datorită acțiunii sale antioxidante, de 20 de ori mai mare decât a vitaminei C și de 50 de ori mai mare decât a vitaminei E, resveratrolul a crescut durata de viață a 60% din organismele studiate în cercetări de laborator.

226 • Resveratrolul inhibă proliferarea la o varietate de celule canceroase: la cancerul mamar, de prostată, stomac, colon, pancreatic și respectiv tiroidian. În studiile efectuate pe animale s-a observat inhibarea creșterii celulelor implicate în cancerul mamar, esofagian și intestinal prin administrarea de resveratrol pe cale orală.

Acid alfa lipoic

232 Este unul dintre cei mai importanți antioxidanți. Este implicat în producția de energie la nivel celular, protejează celulele de acțiunea radicalilor liberi, poate fi ușor transportat către creier,

234 dar are și capacitatea de a stimula producția altor antioxidanți în organism (glutacion,
coenzima Q10).

236 Acidul lipoic (AL) este un acid gras cunoscut și sub numele de: acid α -lipoic și acid alfa lipoic
(AAL) și acid tioctic, este un compus organosulfat, derivat din acidul octanoic. Descoperit în
238 anii 1980, acidul alfa-lipoic a fost inițial clasificat ca o vitamină.

Acidul alfa lipoic se găsește, în mod natural, în fiecare celulă a corpului (este sintetizat de
240 organismul uman, însă în cantități mici), implicată în metabolismul energetic al proteinelor,
carbohidraților și grăsimilor, având o puternică acțiune antioxidantă.

242 Acidul alfa lipoic protejează structura nervilor afectați de neuropatii, inclusiv de neuropatia
diabetică. Acesta neutralizează radicalii liberi atât în zonele grase, cât și cele lichide ale
244 celulei, în comparație cu vitamina C care este solubilă doar în apă și vitamina E care este
solubilă doar în grăsimi.

246 **Pycnogenol**

Pycnogenol-ul reprezintă un extract patentat din scoarta de pin maritim, compus dintr-un
248 amestec de bioflavonoide active. Cei peste 40 de ani de cercetări în domeniu, au fost
dedicați, stabilirii siguranței și a beneficiilor asupra sănătății și s-au concluzionat în peste 100
250 de studii clinice și peste 300 de lucrări științifice.

- Rol antioxidant

252 65-75% dintre componentele active ale PYC sunt reprezentate de procianidine, mai exact
catechina și epicatechina, iar restul de 35-25% este reprezentat de monomeri polifenolici,
254 acizi fenolici sau cinamici și glicozidele lor, toate acestea având o biodisponibilitate ridicată.
Combinatia de ingrediente bioactive, are efecte biologice mult mai puternice față de extractul
256 purificat al fiecărui component în parte, ceea ce indică efectul sinergic al acestora.

Datorită compoziției (acizi fenolici, polifenoli și în special flavonoidele), PYC este un
258 antioxidant eficient, ajutând la reducerea nivelurilor radicalilor liberi. Astfel s-a demonstrat că
administrarea a 50mg PYC, pe o durată de 8 săptămâni, la un grup de 78 de fumători, ajută
260 la reducerea concentrațiilor plasmatice ale speciilor reactive de oxigen.

Carnitină

262 L-Carnitina este sintetizată în organism din aminoacizii lizina și metionina.

L-Carnitina este un aminoacid eficient pentru arderea grăsimilor. Aceasta transferă acizii
264 grasi cu catena lungă în mitocondrii, unde sunt oxidați și produc energie.

Antioxidant cu acțiune dublă și un aminoacid cunoscut pentru protecția celulelor nervoase.

266 De asemenea, înlesnește comunicarea creierului, eliminând ravagiile produse de radicalii
liberi la nivelul acestuia.

268



Astaxantină

270 Astaxantina este un compus din categoria carotenoizilor, aceasta este responsabilă parțial
de culoarea portocalie a somonului și a altor vietăți acvatice.

272 Organismul uman nu poate sintetiza astaxantina. În general acest compus nu este
274 transformat de organism în vitamina A, totuși, în cazuri severe de carență, aceasta
transformare poate avea loc.

Astaxantina nu este un nutrient esențial, dar consumul alimentelor bogate în astaxantină
276 poate avea efecte benefice asupra organismului. Ca și ceilalți carotenoizi, astaxantina este
un antioxidant puternic, chiar mai puternic decât ceilalți carotenoizi și decât vitamina A.

278 Efecte:

- Reduce ridurile și estompează petele „de bătrânețe”.
- 280 • Îmbunătățește fermitatea și textura pielii.
- Protejează pielea din interior de efectele razelor ultraviolete.
- 282 • Crește nivelul de energie și îmbunătățește atenția și concentrarea.
- Susține rezistența fizică și recuperarea după efort.
- 284 • Contribuie la protejarea vederii și articulațiilor.

Extract de ceai verde standardizat la 50% polifenoli

286 Ceaiul verde provine din frunzele plantei *Camellia sinensis* și este utilizat de către chinezi de
mai bine de 2.000 de ani, datorită numeroaselor proprietăți terapeutice de care dispune
288 această plantă. Este unul dintre cele mai renumite surse de polifenoli cu proprietăți
antioxidante.

290 Încă din Antichitate, ceaiul verde a fost folosit ca un remediu eficient în ameliorarea durerilor
de cap, pentru o bună stare de spirit și ca energizant.

292 Astăzi, cercetările științifice atestă proprietățile deosebite și confirmă beneficiile pe care
consumul de ceai verde le aduce în viața noastră atât la nivel fizic, cât și mental sau
294 spiritual.

- **Are efect diuretic și detoxifiant.** Ceaiul verde ajută buna funcționare a rinichilor și
296 previne retenția de apă. Ajută la activarea metabolismului, reglează tranzitul
intestinal, stimulează ficatul și întregul sistem digestiv, asigurând astfel detoxifierea
298 organismului.
- **Bogat în antioxidanți.** Beneficiile asupra sănătății pe care extractul de ceai verde le
300 are se datorează în mare parte conținutului său antioxidant ridicat.
- **Încetinește îmbătrânirea.** Ceaiul verde combate efectele poluării datorită
302 antioxidantilor pe care îi conține. Luptă împotriva radicalilor liberi produși de diverse
noxe: fum de țigară, gaze de esapament și de raze ultraviolete; care îmbătrânesc
304 organismul înainte de vreme.

Vitamina B2

306 Vitamina B2 sau riboflavina este una dintre cele opt vitamine aparținând complexului B.
Toate contribuie la transformarea carbohidraților în glucoză, folosită ulterior de către
308 organism ca energie. Toate vitaminele din grupul B sunt hidrosolubile. Astfel, organismul nu
este capabil să le stocheze, pentru a le folosi mai târziu.
310 Riboflavina funcționează ca un antioxidant, contribuie la protecția organismului împotriva
particulelor daunatoare cunoscute sub numele de radicali liberi. Aceștia afectează celulele și
312 ADN-ul și grabesc procesul de îmbătrânire, dar și apariția unor afecțiuni cardiace sau
tumorale.

Vitamina C

314 Vitamina C este o substanță importantă pentru dezvoltarea și menținerea sănătății
organismului.
Printre altele, vitamina C are un rol important în răspunsul imunitar la stres și la infecțiile
318 virale și bacteriene (deoarece participă la formarea anticorpilor și interferonilor).
Stările de deficit de vitamina C pot apărea datorită unei diete inadecvate, din care lipsesc
320 fructele și legumele, dar sunt rareori întâlnite la adulți, aparând în special la copii, alcoolici și
vârstnici. Stresul, expunerea la frig, exercițiile fizice de performanță duc la o creștere a
322 proceselor oxidative ale plasmei, astfel fiind necesară suplimentarea cu vitamina C.
Implicată în formarea și regenerarea globulelor roșii, a oaselor și a țesuturilor, vitamina C
324 contribuie la întărirea vaselor de sânge, ajută la menținerea sănătății gingiilor și la
vindecarea mai rapidă a rănilor, luptă contra infecțiilor și întărește sistemul imunitar. De
326 asemenea, vitamina C are rol antioxidant, protejând celulele organismului de acțiunea
radicalilor liberi, ajută organismul să absoarbă fierul, contribuie la producția de hormoni și
328 reglează funcția nervoasă.
Vitamina C activează numeroase enzime și joacă un rol important în respirația celulară,
330 accelerează procesul de vindecare a rănilor, fiind implicată în producerea colagenului și
protejează împotriva apariției cancerului, stopând formarea nitrozaminelor (agenți
332 cancerigeni care se formează în timpul asimilării aminoacizilor în stomac).
Vitamina C se absoarbe bine din tubul digestiv. Absorbția este diminuată la cei cu
334 hipoaciditate sau cu tranzit intestinal accelerat. La nivel intestinal, absorbția vitaminei C se
realizează împotriva gradientului de concentrație, prin intermediul unui sistem de transport
336 specific (transport activ). În cazul administrării unor doze mari de vitamina C, absorbția
intestinală se realizează prin transport
338 pasiv (difuzie). Capacitatea maximă de absorbție intestinală este limitată la 1200 mg în
24 de ore, la o doză de 3 g/zi. Concentrația plasmatică fiziologică este de 0,7 – 1 μg/100 ml.

340 Vitamina C prezintă de asemenea marele avantaj de a nu se acumula în organism și deci de
a nu prezenta vreun pericol de supradozare sau toxicitate (LD₅₀ pentru șobolani este de
342 11900 mg/kg), permițând astfel utilizarea ei fără restricții.

Vitamina E

344 **Vitamina E**, denumită și "*vitamina fertilității*", a fost descoperită în germenii de grâu, în
1922.

346 Aceasta reprezintă o familie de 8 componente antioxidante: 4 tocoferoli și 4 tocotrienoli,
fiecare alfa, beta, gama, delta. Forma alfa-tocoferol se găsește în cantități mari în sânge și
348 țesuturi și este mult superioară față de activitatea celorlalte forme de vitamina E. Vitamina E
este un constituent al membranelor celulare care, în principal, sunt formate din grăsimi
350 sensibile la fenomenul de oxidare. Tocoferolii exercită o acțiune de stabilizare a
membranelor celulare prin influențarea vâscozității permeabilității și flexibilității peretelui
352 celular. Protejându-ne celulele, vitamina E ne protejează sistemul imunitar.

Este un puternic antioxidant. Joacă un **rol important împotriva îmbătrânirii**.

354 Cupru

Esențial în prevenirea bolilor cardiovasculare, în menținerea sănătății pielii și a culorii părului
356 și în creșterea fertilității, cuprul se găsește în cel puțin 15 proteine din corpul omului.
Cuprul este esențial în formarea colagenului, o proteină de bază din oase, piele și țesutul
358 conjunctiv. El joacă un rol important în dezvoltarea globulelor roșii ale sângelui, poate ajuta
organismul să folosească fierul înmagazinat și poate să crească imunitatea și fertilitatea.
360 Implicat în sintetizarea melaninei (pigmentul natural care se găsește în păr, piele și ochi),
cuprul ajută și la o bună pigmentare. Cuprul este necesar pentru sintetizarea multor enzime,
362 și în special superoxid dismutaza (SOD), care pare să fie unul dintre antioxidanții cei mai
puternici ai organismului. Poate preveni și pierderea de masă osoasă care poate duce la
364 osteoporoza.

Zincul

366 – sub formă de oxid de zinc, are o mare importanță în buna funcționare a organismului
uman, fiind un mineral cu multe valențe terapeutice. El s-a dovedit eficient în: creșterea
368 imunității, răceala, degenerescenta maculară, vindecarea leziunilor sau ADHD.

Zincul este vital pentru sănătatea noastră. Acestui microelement îi revin nenumărate roluri în
370 reacțiile metabolice: participă la peste 300 de reacții enzimatice ale metabolismului celular și
se regăsește în conținutul altor 50 de enzime. Zincul este important pentru creștere și
372 dezvoltare, pentru regenerarea celulară, pentru producția de spermă și sistemul imunitar,
stocarea de insulină și sinteza proteinelor,

374 Zincul contribuie la:

- menținerea fertilității și reproducerii normale,
- menținerea concentrațiilor normale de testosteron din sânge.

376 Exista studii care sustin teoria conform careia exista o legatura intre integritatea sistemului
378 imunitar si cantitatea de zinc din organism. Acest mineral ajuta la reglarea nivelului de
limfocite T, limfocitelor T CD4 si interleukinei-2. Acest rol in cadrul sistemului imunitar ii
380 ofera zincului capacitatea de a facilita vindecarea ranilor. Alte studii au aratat ca modificarile
nivelului de zinc din organism pot modifica apoptoza, in prezent cunoscuta ca "moartea
382 celulara programata". De asemenea, s-a demonstrat ca zincul poseda proprietati
antiinflamatoare.

384 Aportul zilnic de zinc prin alimentatie este necesar deoarece corpul nu are posibilitatea de
stocare a zincului. Specialistii nutritionisti si dieteticienii recomanda un aport zilnic de zinc de
386 aproximativ 15 mg si de 25mg pentru femeile gravide sau cele care alaptează. Stresul sau
sarcinile sporite, la care este supus corpul, cresc necesarul de zinc, iar in aceste situatii se
388 recomanda un consum sporit. In plus, sportivii, persoanele in vârstă, pacientii care sufera de
diabet, femeile care consuma preparate cu estrogen si persoanele care consuma in mod
390 regulat alcool, trebuie sa asigure un aport suficient de zinc.

392

Avantajul formulei de obținere a produsului **AGE MANAGEMENT AOX** cu L-Carnosină,
394 Pirolochinolina Quinonă (PQQ), resveratrol, astaxantină, picnogenol, curcumina,
epigallocatechingalat (din *Camelia sinensis*) coenzima Q10, acid alfa lipoic, carnitina,
396 citamina B2, vitamina C, vitamina E, cupru și zinc este că include două molecule
antioxidanți, o combinație complexă de componente bioactive de origine naturală, nutrienți
398 cu rol sinergic antioxidant, reparator celular; Vitamina C contribuie la funcționarea normală a
sistemului imunitar și la formarea normală a colagenului pentru funcționarea normală a pielii.
400 Împreună cu Vitamina E, Vitamina B2 și Zincul contribuie la protejarea celulelor împotriva
stresului oxidativ; Cuprul contribuie la protejarea constituenților celulari împotriva stresului
402 oxidativ. Zincul și Vitamina B2 contribuie la menținerea sănătății pielii. **AGE MANAGEMENT
AOX** este recomandat persoanelor peste 40 de ani, afectate cumulativ de distrugerile la
04 nivel celular.

Incorporarea amestecului de substanțe bioactive în sisteme vegetale de administrare orală
406 cu protecție gastrică (capsule vegetale enterosolubile) asigură biodisponibilitatea optimă a
principiilor active gastro-sensibile dar și protecția mucoasei gastrice față de aciditatea
408 componentelor (acidul alfa lipoic, acidul ascorbic).

Se prezintă modalitatea de realizare a formulei

410 **Exemplul 1.** Compoziția pentru 403 mg produs ce poate fi inclus într-o formă de
administrare orală (capsulă) este L-carnitină-110mg; extract din frunze de Ceai-verde
412 (*Camellia sinensis*), standardizat la 50% polifenoli-75mg; Vitamina C/acid ascorbic-40mg; L-
carnozină-40mg; extract hidroetanolic 25:1 din rădăcină de Turmeric (*Curcuma longa*),
414 standardizat la 95% curcuminoide-40mg; acid alfa lipoic-32,75mg; extract din alge marine
(*Haematococcus pluvialis*), cu 2,5% astaxantină-15mg; extract din rădăcină de *Polygonum*
416 *Cuspidatum*, cu 50% resveratrol-12,5mg; extract din scoarță de Pin-maritim (*Pinus pinaster*),
standardizat la 99% picnogenol-12,5mg; coenzima Q10-10mg; agenți antiaglomeranți:
418 stearat de magneziu, dioxid de siliciu coloidal; vitamina E/dl-alfa acetat de tocoferol 50%
(maltodextrină, amidon modificat, dioxid de siliciu)-3mg; oxid de zinc-1,56mg;
420 PQQ/pirolochinolină chinonă-1,25mg; bisglicinat de cupru-0,43mg; vitamina B2/riboflavina-
0,18mg.
422 Materiile prime se identifică, se dozează principiile active. Se cântăresc și se adaugă în
vasul de preparare în ordinea descrescătoare a masei. Amestecul se omogenizează în
424 mediu anhidru și se plasează în forma de administrare orală capsule gelatinoase tari.

Exemplul 2. Se procedeaza ca la exemplul 1. Compoziția pentru 403 mg produs ce poate fi
426 inclus într-o formă de administrare orală (capsulă) este L-carnitină-110mg; extract din frunze
de Ceai-verde (*Camellia sinensis*), standardizat la 50% polifenoli-75mg; Vitamina C/acid
428 ascorbic-40mg; L-carnozină-40mg; extract hidroetanolic 25:1 din rădăcină de Turmeric
(*Curcuma longa*), standardizat la 95% curcuminoide-40mg; acid alfa lipoic-32,75mg; extract
430 din alge marine (*Haematococcus pluvialis*), cu 2,5% astaxantină-15mg; extract din rădăcină
de *Polygonum Cuspidatum*, cu 50% resveratrol-12,5mg; extract din scoarță de Pin-maritim
432 (*Pinus pinaster*), standardizat la 99% picnogenol-12,5mg; coenzima Q10-10mg; agenți
antiaglomeranți: stearat de magneziu, dioxid de siliciu coloidal; vitamina E/dl-alfa acetat de
434 tocoferol 50% (maltodextrină, amidon modificat, dioxid de siliciu)-3mg; oxid de zinc-1,56mg;
PQQ/pirolochinolină chinonă-1,25mg; bisglicinat de cupru-0,43mg; vitamina B2/riboflavina-
436 0,18mg.

Materiile prime se identifică, se dozează principiile active. Se cântăresc și se adaugă în
438 vasul de preparare în ordinea descrescătoare a masei. Amestecul se omogenizează în
mediu anhidru și se plasează în forma de adinistrare orală pentru comprimare.

440 **Etapa 1**

Materiile prime se recepționează conform prevederilor Specificațiilor tehnice ale
442 producătorului, ale Farmacopeii Europene ediția curentă.

Ambalajele se recepționează calitativ și cantitativ, conform documentației însoțitoare de la
444 producător.

Etapa 2

446 Cântărirea primară și secundară (de control a cântăririi primare) pentru o serie de produs se
realizează pe balanțe electronice, în încăpere cu climatizare controlată (temperatură și
448 umiditate constante: 21 ± 2 °C, respectiv 50 % UR ± 10 %).

Etapa 3

450 Omogenizarea materiilor prime se realizează în utilajul Roto P, în sistem închis.

În această etapă controlul interfazic determină pierderea prin uscare a amestecului, pe o
452 probă de 5 g. Se determină randamentul practic al etapei de omogenizare, care trebuie să
fie de minim 98 %.

454 Amestecul omogen, ca produs intermediar, se descarcă în container din oțel inoxidabil,
etichetat corespunzător și este analizat de către Laboratorul de control al calității, conform
456 prevederilor S.T. și, numai după obținerea buletinului de analiză, care atestă conformitatea,
se poate trece la etapa următoare, de încapsulare.

458 **Etapa 4**

Umplerea capsulelor cu amestecul omogen de ingrediente active și excipienți se realizează
460 cu o mașina rotativă de tip ZANASI 40E (masina rotativa de încapsulat).

Controlul interfazic verifică masa medie pe capsulă, uniformitatea masei conținutului
462 capsulei.

Randamentul etapei de umplere a capsulelor este de minimum 97 %.

464 Capsulele, ca produs intermediar – vrac, se descarcă în containere din oțel inoxidabil,
etichetate corespunzător și sunt analizate de către Laboratorul de Control al Calității.

466 După eliberarea buletinului de analiză, care atestă conformitatea produsului, se poate trece
la etapa următoare, cea de ambalare.

468

Testarea produsului conform invenției470 **Determinarea parametrilor fizico-chimici ai produsului preparat****Tabel nr. I** Caracteristicile produsului preparat

CARACTERISTICI	CONDIȚII DE ADMISIBILITATE
Amestec de pulberi solide pentru includere în sistem transport pentru administrare orală	
Aspectul pulberii	Pulbere de culoare portocaliu închis
Miros	Caracteristic
Gust	Caracteristic
Masa medie, mg	10 părți ± 5 % (380,00 – 420,00 mg)
Uniformitatea masei	= Masa medie ± 7,5% Max. 2 probe. din 20 probe pot varia > 7,5%, dar nici o proba. > 15%.
Dezagregare, - în suc gastric pH 1,2	Nu se dezagregă timp de 30 minute
Apă KF, % max.	10
Contaminare microbiană*	Nr. total de microorganisme aerobe/g: Max. 10 ⁴ UFC Nr. total de drojdii și mucegaiuri/g: Max. 10 ² UFC Escheria coli/g: <i>Absent</i>

472

Aspectul – capsulele sunt inspectate vizual în ceea ce privește aspectul, culoarea și forma pe un număr reprezentativ de capsule.

474

Mirosul și gustul sunt parametrii determinați prin metoda organoleptică.

476

Parametrii **masă medie și uniformitatea masei** se determină conform prevederilor din Farmacopeea Europeană în vigoare.

478

Timpul de dezagregare se determină prin metoda A prevăzută în Farmacopeea Europeană în vigoare.

480

Conținutul în apă – se determină prin titrare cu reactivul Karl Fischer, metoda de lucru fiind cea prevăzută în Farmacopeea Europeană.

482

Control microbiologic – determinarea contaminării microbiene pentru numărul total de bacterii, fungi și Escherichia coli se efectuează conform 2.6.12 și 2.6.13 – FE categoria 3A

484

din Farmacopeea Europeană în vigoare.

486

Determinarea conținutului total în polifenoli în formula inovativă AOX

488

490 Caracterizarea spectrofotometrică și determinarea conținutului total de polifenoli din formula inovativă prin metoda colorimetrică Folin-Ciocalteu este utilizată pentru determinarea conținutului total de polifenoli din compuși ce conțin extracte vegetale.

492 Material și metoda

Principiul metodei

494 Reactivul Folin-Ciocalteu conține acizi fosfo-tungstici ca și oxidanți, care la reducerea cu grupările hidroxi fenolice ușor oxidate produc o culoare albastră cu o absorbție maximă la 496 765 nm prin formarea albastrului de tungsten și molibden. Reactivul Folin-Ciocalteu reacționează cu o gamă largă de compuși polifenolici; deși răspunsul poate varia cu 498 componentele individuale, selectarea acidului clorogenic ca standard de calibrare permite obținerea de date utile cu privire la polifenolii totali. În prezentul studiu am determinat prin 500 metoda Folin-Ciocalteu conținutul total de polifenol (Total Polyphenol Content = TPC) prin stabilirea conținutului în echivalenți acid clorogenic [29].

502 Reactivi

504 Apă distilată, Amestec de extracție: Alcool etilic / apă distilată (75: 25 % v/v). Preparare amestec de extracție: se măsoară 750 ml de alcool etilic într-un balon, peste care se adaugă 250ml apă distilată și se omogenizează. Soluție Reactiv Folin-Ciocalteu 10%. Preparare 506 soluție Reactiv Folin-Ciocalteu 10% : se pipetează 10ml Reactiv Folin-Ciocalteu într-un balon cotat de 100ml, se aduce la cota cu apă distilată și se omogenizează (Observație: 508 soluția Reactiv Folin-Ciocalteu 10%, se prepară zilnic). Soluție de carbonat de sodiu 7,5% Preparare soluție carbonat de sodiu 7,5%: se cântăresc la balanța analitică 7,5 g de 510 carbonat de sodiu anhidru (Na_2CO_3) și se introduc într-un balon cotat de 100ml, se adaugă 70 ml apă distilată și se agită până la dizolvarea completă; apoi se aduce la cotă cu același 512 solvent. - Soluții standard de acid clorogenic Preparare Soluții standard de acid clorogenic: Soluție stoc: se cântăresc la balanța analitică 5mg acid clorogenic se dizolvă în 514 apă distilată și se aduce la cotă, într-un balon cotat de 5ml. Din Soluția stoc conform Tabelului nr.1, se fac diluții la baloane cotate de 10 ml, cu apă distilată și se omogenizează.

516

518

Tabel nr. II - Soluții standard diluate cu acid clorogenic

Soluție standard de acid clorogenic	Volumul soluției stoc de acid clorogenic, [ml]	Concentrația nominală a etalonului diluat, [μg/ml]
A	0,1	10
B	0,2	20
C	0,3	30
D	0,4	40
E	0,5	50
F	0,7	70
G	1,0	100

520

Aparatura - Balanța analitică, precizie de $\pm 0,001$ g; - Baie de apă, pentru a menținute
 522 temperatura la $70 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$; - Mixer Vortex, pentru amestecare eficientă în timpul
 extracției. - Centrifugă, capabilă sa realizeze 4000 r / min, dar de această dată se utilizează
 524 2500r/min; - Spectrofotometru UV/ VIS, (Jasco-V-530); - Pipete din sticlă clasa A, pentru a
 acoperi intervalul de volum pentru diluții standard și extracte;

526 - Flacoane volumetrice clasă A, cu capacități de 5, 10 și 100 ml; - Tuburi de extracție, sticlă,
 cu o capacitate de 10 ml, capabile să reziste la centrifugare.

528 Probe luate in lucru

S-a luat în lucru pulberea conținută de capsulele produsului inovativ AOX care a fost a fost
 530 omogenizată, pentru a obține un eșantion reprezentativ.

Extracția polifenolilor

532 Din pulberea de AOX s-au pregătit pentru extracția polifenolilor câte doua probe, astfel:
 0,200 g de probă de testat într-un tub de extracție, peste care se adaugă 5 ml amestec
 534 etanolic de extracție și se menține pe baia pe apă 5 minute la 700°C ; se agita la Vortex 10
 minute pentru a se dizolva proba și se lasă să se răcească la temperatura camerei; este
 536 centrifugat timp de 10 minute la 2500 rpm; supernatantul este colectat cu o pipetă din tubul
 de extracție, iar extracția se reia cu încă 5 ml amestec de extracție; filtratele se reunesc într-
 538 un balon de 10 ml cu același solvent și se omogenizează.

Rezultate

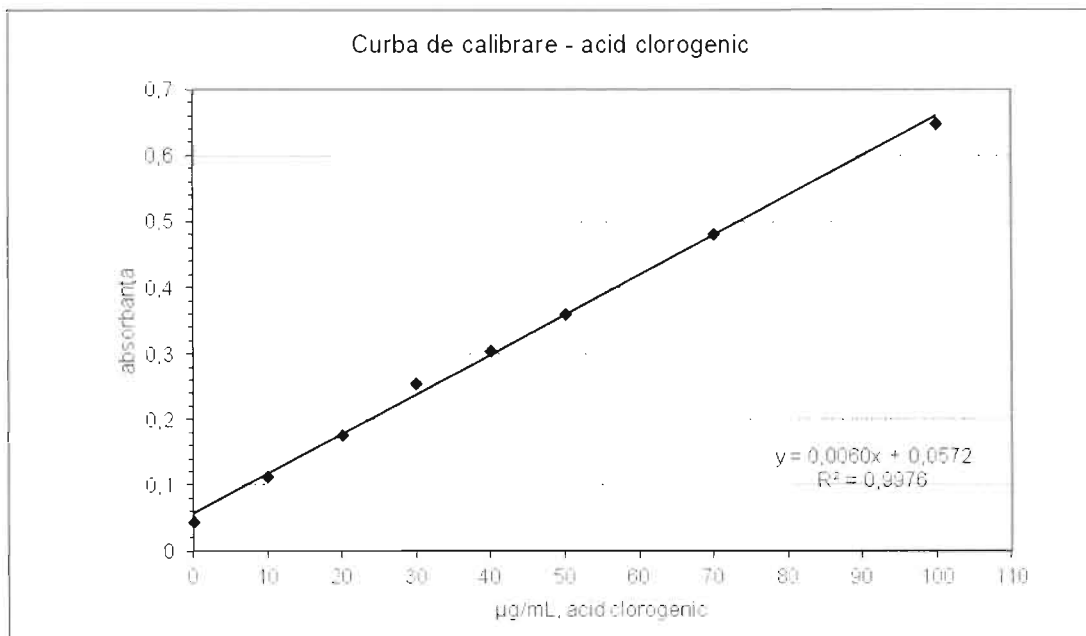
540 Din fiecare soluție standard de acid clorogenic se pipetează câte 1 ml în baloane cotate de
 10 ml, apoi se adaugă în fiecare balon câte 5 ml Reactiv Folin-Ciocalteu 10%, 4 ml soluție
 542 de carbonat de sodiu 7,5% și se aduce la cotă cu apă distilată.

67

Soluțiile astfel preparate, se mențin la temperatura camerei 60 minute, apoi se citesc
544 absorbantele la Spectrofotometru UV/ VIS, (Jasco-V-530) la lungimile de undă de 765 ± 2
nm, în cuve de cuarț de 1cm, față de apă distilată, ca lichid de compensare.

546 Curba de calibrare

Domeniul testat al concentrației în acid clorogenic este 0-100 $\mu\text{g/ml}$, iar curba de calibrare
548 obținută este prezentată în figura nr. 1:



550

Figura 9 Curba de calibrare acid clorogenic

552

Standardul trebuie să aibă o absorbantă mai mică de 0,8. De asemenea, este important ca
554 proba să se afle în domeniul curbei de calibrare. În cazul în care proba prezintă o
absorbantă mai mare decât a standardului G, testul se repetă modificând diluția.

556 Determinarea conținutului total de polifenoli

Conținutul a fost exprimat ca echivalenți ai acidului clorogenic (chlorogenic acid equivalents =
558 CAE) folosind acid clorogenic (0-100 $\mu\text{g/mL}$, $R^2 = 0,9976$) curba standard.

Fiecare extract din probă a fost diluat cu apă la raport 1: 100 și apoi s-au făcut mai multe
560 diluții, astfel 1: 10, 2: 10, 2,5: 10 și 5: 10. Din fiecare soluție probă s-a pipetat câte 1ml în
baloane cotate de 10ml, apoi s-a adăugat în fiecare balon câte 5ml Reactiv Folin-Ciocalteu
562 10%, 4 ml soluție de carbonat de sodiu 7,5% adus la cotă cu apă distilată.

Soluțiile preparate au fost menținute la temperatura camerei 60 minute, apoi au fost citite
564 absorbantele la Spectrofotometru UV/ VIS, (Jasco-V-530) la lungimile de undă de 765 ± 2
nm, în cuve de cuarț de 1cm, față de apă distilată, ca lichid de compensare.

566

Tabel nr. III - Soluții standard diluate din proba produsului inovativ AOX

Nr. crt.	Masa probă, mg	Volumul soluției de probă, [ml]	Absorbanta soluției probă	Concentrația nominală a probei exprimată în μg CAE/mg probă	Concentrația medie a probei exprimată în μg CAE/mg probă
1.	200.7	1,0	0,0952	31.56	35.80
2.		2,0	0.1487	37.99	
3.		2,5	0.1633	35.24	
4.		5,0	0.2894	38.57	
5.	201.6	1,0	0,0983	33.98	36.58
6.		2,0	0,1468	37.03	
7.		2,5	0.1685	36.81	
8.		5,0	0.2901	38.51	

,68

Am testat două probe din produsul AOX, din care s-au făcut mai multe diluții în limitele domeniului studiat pe curba de calibrare, din figura nr. 1. Concentrația în polifenoli din probe a fost derivată de la curba standard a acidului clorogenic cuprins între 0 și 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($R^2 = 0,9976$). Concentrația totală de polifenol în extractele originale (TPCo) s-a exprimat sub formă de μg CAE/mg probă. În urma interpretării probelor se constată că acestea sunt omogene, iar rezultatele se încadrează în domeniul $31,56 \div 38,57$ μg CAE/mg probă.

Concluzii

Produsul testat conține peste 30 micrograme echivalenți acid clorogenic (CAE) pentru un miligram, respectiv peste 3 mg echivalenți acid clorogenic/100 mg probă (3%CAE).

578

580

582

584

REFERINTE SELECTIVE740 **STUDII CLINICE**

742 Resveratrol, un antioxidant natural, are un efect de protecție asupra leziunilor hepatice
provocate de expunerea la arsenic anorganic. Zhigang Zhang, Li Gao, Yanyan Cheng, Jing
744 Jiang, Yan Chen, Huijie Jiang, Hongxiang Yu, Anshan Shan, Baojing Cheng

746 **Abstract**

Resveratrol (Rev) poate ameliora toxicitatea citotoxică indusă de chimioterapie și stresul
748 oxidativ. Trioxidul de arsen (As_2O_3) este o substanță citotoxică cunoscută și un agent
chimioterapeutic puternic. Cu toate acestea, mecanismele prin care resveratrolul protejează
750 ficatul împotriva efectelor citotoxice ale As_2O_3 nu sunt cunoscute. Prin urmare, în studiul de
față am investigat mecanismele implicate în acțiunea resveratrolului folosind un model de
752 pisică în care hepatotoxicitatea a fost indusă prin tratamentul cu As_2O_3 . Am constatat că pre-
tratamentul cu resveratrol, administrat utilizând un regim de doză comparabil din punct de
754 vedere clinic, a inversat modificările parametrilor morfologici și ai ficatului induși de As_2O_3 și
a dus la o îmbunătățire semnificativă a funcției hepatice. Tratamentul cu resveratrol a
756 îmbunătățit, de asemenea, activitățile enzimelor antioxidante și a atenuat creșterile induse
de As_2O_3 în speciile reactive de oxigen și producția de malondialdehidă.

758 În plus, resveratrolul a atenuat reducerea indusă de As_2O_3 în raportul dintre glutatationul redus
și glutatationul oxidat și reținerea arsenicului în țesutul hepatic.

760 Aceste descoperiri oferă o mai bună înțelegere a mecanismelor prin care resveratrolul
modulează modificările induse de As_2O_3 în funcția hepatică și în morfologia țesuturilor. Ele
762 oferă de asemenea o rațiune mai puternică pentru utilizarea clinică a resveratrolului pentru
reducerea hepatotoxicității induse de As_2O_3 .

764 Potențialul hepatoprotector și antioxidant al Pycnogenol® în hepatotoxicitatea indusă de
766 acetaminofen la șobolani. Rašković A, Bukumirović N, Paut Kusturica M, Milić N, Čabarkapa
V, Borišev I, Čapo I, Miljković D, Stilinović N, Mikov M.

768

Abstract

770 Pycnogenol® (PYC) este deja utilizat ca supliment alimentar și medicament pe bază de
plante datorită proprietăților sale puternic antioxidante. Scopul studiului a fost de a examina
772 efectul protector al PYC asupra leziunilor hepatice acute induse de acetaminofen la
șobolani. Efectul PYC asupra hepatotoxicității induse de acetaminofen la șobolani a fost
774 examinat prin determinarea parametrilor biochimici, activitatea antioxidantă in vitro,
evaluarea histologică și starea oxidativă în omogenatele hepatice. Cele mai bune proprietăți

776 antioxidante au fost demonstrate în extractele metanolice. Pre-tratamentul de șapte zile cu
PYC a suprimat expresia proteinei CYP2E1 indusă de administrarea unei doze toxice de
778 acetaminofen. PYC la 50 mg/kg a arătat capacitatea de a scădea semnificativ nivelul de
malondialdehidă (MDA), comparativ cu grupul în care s-a administrat acetaminofen.
780 Activitatea enzimatică a xantin oxidazei (XOD) a fost semnificativ crescută în grupul tratat cu
acetaminofen comparativ cu grupul de control, în timp ce administrarea concomitentă de
782 PYC într-o doză de 50 mg/kg a redus semnificativ activitatea acestei enzime. Scăderea
semnificativă a conținutului hepatic a glutationului (GSH) la șobolani intoxicați cu
784 acetaminofen comparativ cu șobolani martor a fost îmbunătățită prin administrarea
concomitentă de PYC la 50 mg/kg. Efectul de protecție al PYC asupra leziunii hepatice
786 acute induse de acetaminofen la șobolani a arătat cel mai bun potențial antioxidant in vitro
exprimat în extractul metanolic și evaluarea histologică consecutivă și starea oxidativă în
788 omogenatele hepatice.

62

662 **BIBLIOGRAFIE**

- 664 1. Rodríguez-Enríquez S, Pacheco-Velázquez SC, Marín-Hernández Á, Gallardo-Pérez JC, Robledo-
666 Cadena DX, Hernández-Reséndiz I, García-García JD, Belmont-Díaz J, López-Marure R, Hernández-
668 Esquivel L, Sánchez-Thomas R, Moreno-Sánchez R. - *Resveratrol inhibits cancer cell proliferation by*
670 *impairing oxidative phosphorylation and inducing oxidative stress*. Toxicol Appl Pharmacol. 2019 Mar
672 13. pii: S0041-008X(19)30090-0.
- 674 2. Z. Zhang, L. Gao, Y. Cheng, J. Jiang, Y. Chen, H. Jiang, H. Yu, A. Shan and B. Cheng - *Resveratrol,*
676 *a Natural Antioxidant, Has a Protective Effect on Liver Injury Induced by Inorganic Arsenic Exposure*.
678 Biomed Res Int. 2014; 2014: 617202.
- 680 3. Lehninger AL (1970) : Biochemistry, Worth Publisher Inc. 1970
- 682 4. Sauberlich HE (1987) : Nutritional Aspects of Pyridine Nucleotides, in Dolphin D, Poulson r,
684 Avramovic O (editors) : Pyridine Nucleotide Coenzymes (Part B), John Wiley & Sons, Inc. 1987, pp.
686 599-626.
- 688 5. Alberts B, et al (1983) : Molecular Biology of the Cell, Garland Publishing, 1983, pp. 491-495
- 690 6. Catherine C. Neto, Joe A. Vinson (2011) Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects. 2nd
692 edition, Chapter 6.1. Cranberry: introduction and traditional origins
- 694 7. Sebastian J. Padayatty, Arie Katz, Yaohui Wang, Peter Eck, Oran Kwon, Je-Hyuk Lee, Shenglin
696 Chen, Christopher Corpe, Anand Dutta, Sudhir K Dutta, Mark Levine (2003) Vitamin C as an
698 Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention. Volume 22, Issue 1, 18 - 35
- 700 8. European Food Safety Authority, Scientific Committee on Food. Tolerable Upper Intake Levels for
702 Vitamins and Minerals. 2006: ISBN: 92-9199-014-0
- 704 9. Spencer H, Norris C, Williams D. Inhibitory effects of zinc on magnesium balance and magnesium
706 absorption in man. J Am Coll Nutr. 1994; 13(5):479-484.
- 708 10. Shils ME. Magnesium. In: O'Dell BL, Sunde RA, eds. Handbook of nutritionally essential minerals.
710 New York: Marcel Dekker, Inc; 1997:117-152.
- 712 11. Rašković A, Bukumirović N, Paut Kusturica M, Milić N, Čabarkapa V, Borišev I, Čapo I, Miljković
714 D, Stilinović N, Mikov M. Hepatoprotective and antioxidant potential of Pycnogenol® in
716 acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. Phytother Res. 2019 Mar;33(3):631-639
12. Ikemoto K, Mori S, Mukai K. Synthesis and crystal structure of pyrroloquinoline quinol (PQQH₂)
and pyrroloquinoline quinone (PQQ). Acta Crystallogr B Struct Sci Cryst Eng Mater. 2017 Jun 1;73(Pt
3):489-497
13. Ghosh D¹, Brewer GJ². External cys/cySS redox state modification controls the intracellular redox
state and neurodegeneration via Akt in aging and Alzheimer's disease mouse model neurons. J
Alzheimers Dis. 2014;42(1):313-24. doi: 10.3233/JAD-132756.
14. Ghosh D¹, Levault KR, Brewer GJ. Relative importance of redox buffers GSH and NAD(P)H in
age-related neurodegeneration and Alzheimer disease-like mouse neurons. Aging Cell. 2014
Aug;13(4):631-40. doi: 10.1111/acer.12216. Epub 2014 Mar 21.
15. Pop, A. Pop, C, Terapii mitochondriale celulare. Coenzima E1, (2015) Maramureșul Medical,
Numarul 59
16. Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D. Abete, P. (2018). Oxidative
stress, aging, and diseases. Clinical interventions in aging, 13, 757-772. doi:10.2147/CIA.S158513
17. Poulsen, Malene W.; Hedegaard, Rikke V.; Andersen, Jeanette M.; de Courten, Barbora; Bügel,
Susanne; Nielsen, John; Skibsted, Leif H.; Dragsted, Lars O. (October 2013). "Advanced glycation
endproducts in food and their effects on health". Food and Chemical Toxicology. 60: 10-37.
doi:10.1016/j.fct.2013.06.052. ISSN 1873-6351. PMID 23867544.
18. Guney Y, et al. Carnosine may reduce lung injury caused by radiation therapy. Med Hypotheses.
2006;66(5):957-9.
19. Pizzimenti, S., Ciamporcerro, E. S., Daga, M., Pettazzoni, P., Arcaro, A., Cetrangolo, G., ... &
Barrera, G. (2013). Interaction of aldehydes derived from lipid peroxidation and membrane proteins.
Frontiers in physiology, 4, 242.
20. Mazloumi Gavvani, F., Smith Arnesen, V., Jacobsen, R. G., Krakstad, C., Hoivik, E. A., & Lewis, A.
E. (2018). Class I phosphoinositide 3-Kinase PIK3CA/p110α and PIK3CB/p110β isoforms in
endometrial cancer. International journal of molecular sciences, 19(12), 3931.
21. Liu, Q., Raina, A. K., Smith, M. A., Sayre, L. M., & Perry, G. (2003). Hydroxynonenal, toxic
carbonyls, and Alzheimer disease. Molecular aspects of medicine, 24(4-5), 305-313.

- 718 22. Ames B. N. (2018). Prolonging healthy aging: Longevity vitamins and proteins. *Proceedings of the*
National Academy of Sciences of the United States of America, 115(43), 10836–10844.
doi:10.1073/pnas.1809045115
- 720 23. Geng, Q., Gao, H., Yang, R., Guo, K., & Miao, D. (2019). Pyrroloquinoline Quinone Prevents
722 Estrogen Deficiency-Induced Osteoporosis by Inhibiting Oxidative Stress and Osteocyte Senescence.
International journal of biological sciences, 15(1), 58–68. doi:10.7150/ijbs.25783
- 724 24. Akagawa, M., Nakano, M., & Ikemoto, K. (2016). Recent progress in studies on the health benefits
of pyrroloquinoline quinone. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 80(1), 13-22.
- 726 25. Huang, Y., Miao, D., & Chen, N. (2015). The treatment effects and mechanisms of
pyrroloquinoline quinone on defective teeth and mandible in Bmi-1 knockout mice. *Zhonghua kou*
qiang yi xue za zhi Chinese journal of stomatology, 50(8), 496-502.
- 728 26. Kong, L., Yang, C., Yu, L., Smith, W., Zhu, S., Zhu, J., & Zhu, Q. (2013). Pyrroloquinoline quinone
inhibits RANKL-mediated expression of NFATc1 in part via suppression of c-Fos in mouse bone
730 marrow cells and inhibits wear particle-induced osteolysis in mice. *PLoS One*, 8(4).
- 732 27. Qin, R., Sun, J., Wu, J., & Chen, L. (2019). Pyrroloquinoline quinone prevents knee osteoarthritis
by inhibiting oxidative stress and chondrocyte senescence. *American journal of translational research*,
11(3), 1460–1472.
- 734 28. Nakano M, Suzuki H, Imamura T, Lau A, Lynch B. Genotoxicity of pyrroloquinoline quinone (PQQ)
disodium salt (BioPQQ™). *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2013;67: 189–197. 10.1016/j.yrtph.2013.07.007
- 736 29. Chun, O. K., & Kim, D. O. (2004). Consideration on equivalent chemicals in total phenolic assay of
chlorogenic acid-rich plums. *Food Research International*, 37(4), 337-342.
- 738

586 **Revendicare/ Claims**

- 588 1. Compoziție pentru capsule sau comprimate caracterizată prin aceea că aceasta
590 cuprinde L-Carnosină 4 părți – 9,93% m/m, Pirolochinolina Quinonă (PQQ) 0,13 părți
592 – 0,31% m/m, L-Carnitina 11 părți (m/m) – 27,30% m/m, vitamina C/acid ascorbic 40
594 părți – 9,93% m/m, extract din frunze de Ceai verde (*Camellia sinensis*) –
596 standardizat la 50% polifenoli 7,50 părți – 18,61% m/m din care 3,75 părți polifenoli
(epigalo catechin galat) 9,3% m/m, extract de turmeric (*Curcuma longa*) 4 părți –
598 9,93% m/m, acid alfa lipoic 3,28 părți – 8,13% m/m, astaxantină 1,5 părți – 3,72%
600 m/m, extract din rădăcină de *Polygonum Cuspidatum* 1,25 părți – 3,10% m/m cu
50% resveratrol (0,625 părți – 1,6% m/m), extract din scoarță de Pin-maritim (*Pinus
pinaster*) 1,25 părți – 3,10% m/m standardizat în 99% picnogenol (1,24 părți –
3,07%), coenzima Q10/ubiquinonă 1 (o) parte – 2,48% m/m, dry - vitamina E 50%
CWS/S (forma solidă, depusă pe substrat de amidon) 0,3 părți 0,74% m/m – cu 0,15
părți vitamina E/tocoferol – 0,37% m/m, oxid de zinc 0,16 părți – 0,39% m/m,
bisglicinat de cupru 0,04 părți – 0,11% m/m (Cupru 12,50% VNR*), vitamina
B2/riboflavină 0,02 părți – 0,04% m/m și 0,88 părți (m/m) excipienți de formulare
(stearat de magneziu și dioxid de siliciu coloidal) - 2,19% m/m exprimate in greutate
- 604 2. Compoziție descrisă la punctul 1 caracterizată prin faptul că se administrează pe cale
orală
- 606 3. Compoziție conform revendicării 1 caracterizat prin aceea că se prezintă sub formă
de pulbere, capsule sau comprimate
- 608 4. Compoziție descrisă la punctul 1 caracterizată prin faptul că prezintă peste 3 mg
miligrame echivalenți acid clorogenic pentru 100 mg produs inovativ AOX.

610

612

Desene explicative614 **Schema fluxului tehnologic de preparare**

616

618

620

622

624

626

628

630

632

634

636

638

640 **Farm. dr. Pop Anca Lucia**

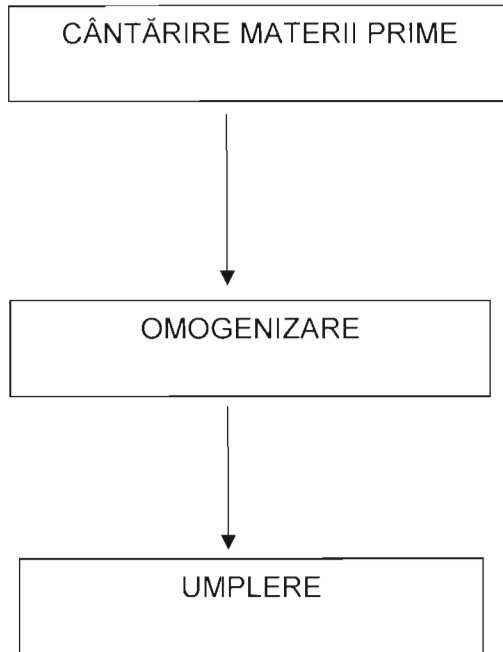
642

644

646

648

650



1. L-Carnosină
2. Pirolochinolina Quinonă (PQQ)
3. L-Carnitina,
4. Vitamina C
5. Extract de ceai verde
6. Extract de biocurcumin/ turmeric
7. Acid alfa lipoic,
8. Astaxantină,
9. Resveratrol (*Polygonum Cuspidatum*)
10. Extract de pin – picnogenol
11. Coenzima Q10,
12. Oxid de zinc
13. Vitamina E
14. Bisglicinat de cupru
15. Vitamina B 2
16. *stearat de magneziu*
17. *dioxid de siliciu coloidal*