



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2019 00718**

(22) Data de depozit: **08/11/2019**

(41) Data publicării cererii:  
**28/05/2021** BOPI nr. **5/2021**

(71) Solicitant:  
• **IONESCU JOHN,**  
*BOEHMERWALDSTRASSE 4, RIMBACH,*  
*DE;*  
• **ZENYTH PHARMACEUTICALS S.R.L.,**  
*STR.PETRU RAREȘ, NR 50A,*  
*SAT BISTRIȚA, COM ALEXANDRU CEL*  
*BUN, NT, RO*

(72) Inventatori:  
• **IONESCU JOHN,**  
*BOEHMERWALDSTRASSE 4, RIMBACH,*  
*DE*

(74) Mandatar:  
**MIHAELA TEODORESCU &**  
**PARTNERS-INTELLECTUAL PROPERTY**  
**OFFICE S.R.L., STR.VIORELE, NR.51,**  
*BL.37, SC.2, AP.63, P.O. BOX 53-202,*  
*SECTOR 4, BUCUREȘTI*

Data publicării raportului de documentare:  
**28.05.2021**

(54) **SUPLIMENT ALIMENTAR CU PROPRIETĂȚI ANTIOXIDANTE  
ȘI ANTIINFLAMATOARE**

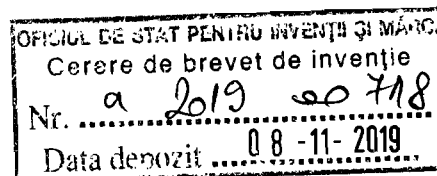
(57) Rezumat:

Invenția se referă la un supliment alimentar utilizat în combaterea stresului oxidativ și a inflamației în sisteme biologice umane. Suplimentul, conform invenției, este sub formă de capsule, având un conținut de 250 mg carozină, 100 mg coenzima Q10, 30 mg fosfatidilcolină, 10 mg pirolochinolin chinona, 2 mg acid fulvic,

1500 µg Vitamina B12, 1250 µg acid folic, 95,1 mg fosfor, 35,9 mg potasiu și 50 mg magneziu.

Revendicări: 8  
Figuri: 6





## Supliment alimentar cu proprietăți antioxidante și antiinflamatoare

Prezenta invenție se referă la un supliment alimentar care cuprinde un nou amestec de componente naturale cu proprietăți antioxidante și antiinflamatoare.

Suplimentul alimentar conform invenției prezintă o capacitate antioxidantă și de blocare a radicalilor liberi care depășește semnificativ activitatea antioxidantă a fiecăreia dintre componente și exercită în ansamblu un efect de susținere a funcției mitocondriale.

Invenția prezintă aplicabilitate în domeniul farmaceutic.

Stresul oxidativ, inflamația și disfuncția metabolică (disfuncția mitocondrială), duc la un proces gradual de tulburare a echilibrului la nivel molecular, care afectează capacitatea celulei de a repara sau înlocui constituenții moleculari degradați, ceea ce duce la creșterea susceptibilității la îmbolnavire (Al Shahrani M. et al; Oxidative Stress: Mechanistic Insights into Inherited Mitochondrial Disorders and Parkinson's Disease. *J Clin Med.* 2017 Oct 27;6(11); Lenaz G, et al. Role of mitochondria in oxidative stress and aging. *Ann N Y Acad Sci.* 2002 Apr; 959:199-213; Barja G.; Free radicals and aging. *Trends Neurosci.* 2004 Oct;27(10):595-600.)

Organismul are un sistem complex de protecție antioxidantă ce menține echilibrul între generarea și degradarea speciilor reactive de oxigen (SRO) și azot (SRN) prin antioxidanți endogeni și exogeni enzimatici și neenzimatici (de exemplu, superoxid dismutaza, catalaza, peroxidaza, glutation, NADH, NADPH, tioredoxină și vitaminele C și E, polifenoli s.a.) (Barja G.; Free radicals and aging. *Trends Neurosci.* 2004 Oct;27(10):595-600; Aruoma, Okezie I. "Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease." *Journal of the American oil chemists' society* 75.2 (1998): 199-212; Birben E, et al; Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J.* 2012 Jan;5(1):9-19.)

Dacă tulburările acestui echilibru conduc la o acumulare de SRO, pot apărea tulburări funcționale severe. Această set de afecțiuni se numește stres oxidativ. Consecințele stresului oxidativ includ peroxidarea lipidelor, care în cele din urmă determină celulele să

cheltuiască mai multă energie pentru a stabili potențialul lor de membrană, pentru a contracara oxidarea proteinelor și deteriorarea ADN-ului ( Wei YH. et al; Mitochondrial theory of aging matures--roles of mtDNA mutation and oxidative stress in human aging. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)*. 2001 May;64(5):259-70). Aceste trei procese sunt responsabile pentru procesul de îmbătrânire și pot fi factori cauzali într-o gamă largă de tulburări, cum ar fi bolile cardiovasculare, diabetul, glaucomul, pierderea auzului, infertilitate și boala Parkinson, boala Alzheimer s.a. (Liochev Sl.; Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radic Biol Med*. 2013 Jul;60:1-4; Jenner, Peter. "Oxidative stress in Parkinson's disease." *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society* 53.S3 (2003): S26-S38; Maritim, A. C., RA Sanders, and J. B. Watkins III. "Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review." *Journal of biochemical and molecular toxicology* 17.1 (2003): 24-38)

Termenul "specie reactivă de oxigen" (SRO) definește metaboliții oxigenului și radicalii oxigenului ce se formează ca produși secundari din metabolismului normal aerob și includ molecule neradicale (peroxidul de hidrogen =  $H_2O_2$ ), precum și radicale (radicali liberi), ca de exemplu radicalul hidroxil ( $\bullet OH$ ), radicalul anionului superoxid ( $O_2^{\bullet -}$ ), oxigenul singlet ( $^1O_2$ ), hipocloritul ( $HClO^-$ ), radicalul de oxid nitric ( $\bullet NO$ ) și radicalul peroxinitrit ( $ONOO^{\bullet}$ ).

SRO și SRN au funcții fiziologice specifice. Ei elimină germenii intra- și extracelulari, participă la reglarea metabolismului, controlează reacții enzimatice și reglează expresia genelor prin factori de transcripție sensibili redox, dar pot avea și efecte toxice care pot duce la deteriorarea subcelulară și celulară, conducând la diverse patologii (Hancock, J. T., R. Desikan, and S. J. Neill. "Role of reactive oxygen species in cell signalling pathways." *Biochemical Society Transactions* 29.2 (2001): 345-349; Davies KJ; Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochem Soc Symp*. 1995;61:1-31).

Aceste specii extrem de reactive pot afecta molecule relevante biologice, cum ar fi ADN, proteine, carbohidrați și lipide și duc la deteriorarea membranelor celulare și la perturbarea homeostatică (Berlett, Barbara S., and Earl R. Stadtman. "Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress." *Journal of Biological Chemistry* 272.33 (1997): 20313-20316).

Inflamația cronică joacă un rol central în evoluția procesului de îmbătrânire și debutul bolilor legate de vârstă atât prin efectul cumulativ al toxinelor din mediul ambiant (metale, pesticide, solvenți, ftalati etc.) cât și prin creșterea susceptibilității la infecții cronice bacteriale, virale sau micotice. Sistemul imunitar devine din ce în ce mai disfuncțional, în primul rând printr-un dezechilibru al statusului redox. Modificarea stării redox în favoarea unui microambient pro-oxidativ este cauzată atât de scăderea activității enzimelor antioxidante, cât și prin deficitul antioxidantilor de sursă externă, ceea ce duce la creșterea producției de ROS și RNS urmată de activarea dăunătoare a sistemului imunitar, prin supra-activarea macrofagelor în timpul proceselor inflamatorii. (Berlett, Barbara S., and Earl R. Stadtman. "Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress." *Journal of Biological Chemistry* 272.33 (1997): 20313-20316; Davies KJ; Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life*. 2000 Oct-Nov;50(4-5):279-89; Wei YH. et al; Oxidative stress in human aging and mitochondrial disease-consequences of defective mitochondrial respiration and impaired antioxidant enzyme system; *Chin J Physiol*. 2001 Mar 31;44(1):1-11).

Procesul de îmbătrânire este asociat cu creșterea radicalilor liberi, a tromboxanului A<sub>2</sub> și a producției de prostacilină catalizată de enzimele ciclooxygenazei și cu supra-reglarea a numeroase gene și proteine inflamatorii, incluzând IL-1b, IL-6, TNF- $\alpha$ , iNOS, Cox-2 și diverse molecule de adeziune (ICAM-1, VCAM-1, P-selectină, și E-selectină). NF- $\kappa$ B, considerat un regulator principal al procesului inflamator, este activat prin radicali liberi într-un mediu pro-oxidativ și s-a dovedit a fi implicat într-o gamă largă de tulburări inflamatorii sistemice, cum ar fi boala Alzheimer, cancer, scleroză multiplă, diabet, și boli cardiovasculare (Evans, P. H. "Free radicals in brain metabolism and pathology." *British medical bulletin* 49.3 (1993): 577-587; Fearon, Ian M., and Stephen P. Faux. "Oxidative stress and cardiovascular disease: novel tools give (free) radical insight." *Journal of molecular and cellular cardiology* 47.3 (2009): 372-381).

Mitocondria este responsabilă de generarea adenozin trifosfatului (ATP) printr-un lanț de procese numit "fosforilare oxidativă", de orchestrarea unor procese celulare diferite, inclusiv diferențierea celulelor, moartea celulelor și reglarea ciclului celular. Deși generarea de ATP are o importanță critică în alimentarea numeroaselor procese

celulare, producția de SRO ca produs secundar natural al fosforilării oxidative reprezintă atât un beneficiu, cât și o problema. Deși în cantități ponderate SRO pot servi ca molecule de semnalizare eficiente pentru inducerea răspunsurilor la stresul celular de protecție (Cadenas E, et al; Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med.* 2000 Aug;29(3-4):222-30; Duberley KE, et al; Human neuronal coenzyme Q10 deficiency results in global loss of mitochondrial respiratory chain activity, increased mitochondrial oxidative stress and reversal of ATP synthase activity: implications for pathogenesis and treatment. *J Inherit Metab Dis.* 2013 Jan;36(1):63-73), eliberarea excesivă de electroni din complexe I și III ale lanțului de transport de electroni (ETC) și formarea ulterioară de radicali superoxid și peroxid de hidrogen produce daune oxidative ce includ deteriorarea ADN-ului mitocondrial și nuclear (care pot duce la mutații transmisibile) și reducerea lungimii telomerilor, cu accelerarea procesului de îmbătrânire a organismului. Blocarea ulterioară a transcrierii și replicării ADN-ului poate afecta mai multe funcții metabolice care apar în mitocondrii, cum ar fi generarea de ATP, metabolismul aminoacizilor și oxidarea acizilor grași (Evans, P. H. "Free radicals in brain metabolism and pathology." *British medical bulletin* 49.3 (1993): 577-587).

Alte efecte nocive ale deteriorării mitocondriale oxidative în afara perturbațiilor metabolice includ activarea necorespunzătoare a apoptozei prin permeabilizarea membranei exterioare mitocondriale și eliberarea ulterioară a citocromului c în citosol și inducerea porilor de tranziție a permeabilității mitocondriale (ceea ce duce la permeabilizarea membranei interne în condiții patologice, cum ar fi accident vascular cerebral sau traumatism cerebral). Numeroase tulburări sunt caracterizate prin defecte ale metabolismului celular și fosforilării oxidative (diabetul, hipertensiunea, boala Parkinson, glaucomul și degenerarea maculară legată de vârstă) (Stepien KM. et al: Evidence of Oxidative Stress and Secondary Mitochondrial Dysfunction in Metabolic and Non-Metabolic Disorders. *J Clin Med.* 2017 Jul 19;6(7); Berlett, Barbara S., and Earl R. Stadtman. "Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress." *Journal of Biological Chemistry* 272.33 (1997): 20313-20316)

Stresul oxidativ, inflamația și degradarea metabolică stau la baza declansării multor patologii corelate sau nu cu vârsta.

Pentru aceste patologii se cunosc diverse optiuni de tratament simptomatic, de regula axate pe medicamente gândite să contracareze fiziopatologia bolii, dar nu și etiologia acesteia.

În multe cazuri, astfel de medicamente epuizează numărul de mitocondrii și duc la creșterea SRO din mitocondrii, la încetinirea procesului de fosforilare, la scăderea producției de ATP și la compromiterea integrității membranei celulare și a mitocondriilor.

În acest context, problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în abordarea sistemică, cauzală, prin realizarea unui supliment alimentar care diminuează stresul oxidativ sistemic și inflamația cronică și îmbunătățește biogeneza mitocondrială și funcționalitatea mitocondriei.

Suplimentul alimentar conform invenției furnizează o compoziție nutrițională nouă cuprinzând trei sau mai multe componente cu caracter antioxidant, precum și substraturi, cofactori și modulatori de activitate enzimatică.

Soluția tehnică la această problemă constă în asocierea unor componente, sub forma unui supliment alimentar, cu proprietăți antioxidante și antiinflamatoare, pentru utilizarea în combaterea stresului oxidativ și a inflamației în sisteme biologice umane, care este un amestec care cuprinde trei sau mai multe din următoarele ingrediente: carnozină, coenzima Q10, fosfolipide, pirolochinolin chinona (PQQ), acid fulvic, oligoelemente, vitamine.

Suplimentul alimentar conform invenției prezintă proprietăți antioxidative și antiinflamatoare remarcabile, cu aplicabilitate în tratamentul/managementul bolilor dermatologice, autoimune, a diabetului, a bolilor reumatismale, a sindromului oboseții cronice (SOC), a bolilor cardiovasculare și neurodegenerative (Parkinson, Alzheimer).

De asemenea, prin aplicarea invenției se obține prevenirea carentelor nutriționale și afecțiunilor determinate de efectele nocive ale stresului oxidativ cauzat de radicalii liberi (boli cardiovasculare, cancer, boli degenerative, afecțiuni autoimune s.a.).

Rezultatele demonstrează o acțiune puternică și rapidă a combinației administrate pe cale orală și lipsa oricărui fel de efecte secundare. Pacienții raportează după câteva zile de administrare o scădere semnificativă a simptomelor de oboseală, cefalee, lipsă de concentrare, a durerilor musculare difuze (fibromialgie) și a tulburărilor de ritm cardiac.

In continuare sunt prezentate figurile conform invenției :

- Figura 1A - prezintă rezultatele privind activitatea antioxidantă a componentelor individuale
- Figura 1B - prezintă rezultatele privind activitatea antioxidantă a 3 combinații de ingrediente
- Figura 2 - prezintă efectul antioxidant al amestecului C asupra producției de radicali liberi din sângele total *ex in vivo*
- Figura 3A - reprezintă eliminarea radicalilor liberi din probele de plasmă sangvină după adăugarea a unei soluții 1% a combinației C
- Figura 3B - reprezintă eliminarea radicalilor liberi din probele de plasmă sangvină după adăugarea a unei soluții 4% a combinației C
- Figura 4 - evidențiază scăderea semnificativă a radicalilor liberi din sângele total al unui pacient cu neurodermită atopică generalizată după administrarea a două capsule cu combinația C
- Figura 5 - evidențiază creșterea capacității antioxidante totale a plasmei sangvine la o oră după administrarea a două capsule cu combinația C
- Figura 6 - evidențiază efectul dozei uzuale a combinației C asupra producției de radicali liberi după 3 zile de administrare la o pacientă cu Sindromul de Oboseală Cronică (SOC), infecții virale recidivante și fibromialgie.

Intr-o realizare conform invenției, suplimentul alimentar este un amestec care cuprinde coenzima Q10, PQQ și acid fulvic.

Intr-o altă realizare conform invenției, suplimentul alimentar este un amestec care cuprinde L-carnozină, fosfat de magneziu, fosfat de potasiu, coenzima Q10, fosfatidilcolină și PQQ.

Intr-o altă realizare conform invenției, suplimentul alimentar este un amestec care cuprinde L-carnozină, fosfat de magneziu, fosfat de potasiu, coenzima Q10,

fosfatidilcolină, dioxid de siliciu 1,5-10,0%; PQQ, acid fulvic, acid folic și vitamina B12 .  
Actiunea sinergică a componentelor amestecului asigură o activitate antioxidantă și antiinflamatoare cu mult mai ridicată decât actiunea componentelor individuale luate în parte.

Prezenta invenție furnizează o compoziție nutrițională originală incluzând carnozină, coenzimă CoQ10, pirolochinolin chinonă (PQQ), fosfatidilcolină, acid folic, vitamină B12, acid fulvic, săruri de potasiu și magneziu ale acidului fosforic. Toate componentele lucrează împreună sinergic și au fost alese pentru a elimina interacțiunile negative dintre ele. Cu alte cuvinte, suplimentul alimentar este conceput pentru a asigura o înaltă compatibilitate între componente și o activitate antioxidantă totală cu cel puțin 500% mai crescută decât a componentelor evaluate individual.

Carnozina (C9 H14 N4 O3), cunoscută și sub denumirea de N-β-Alanyl-L-histidină, este o dipeptidă compusă din aminoacizii beta-alanină și histidină, ce reprezintă o mare parte din stocurile de azot intracelular și servește ca rezervor pentru histidina (precursor de histamina, produsă în timpul stresului)

Carnozina s-a dovedit că elimină speciile reactive de oxigen (SRO), precum și aldehide nesaturate alfa-beta, formate din peroxidarea acizilor grași ai membranei celulare în timpul stresului oxidativ, are proprietăți antiinflamatorii, antioxidante și antiglicante, precum și de chelatare a ionilor metalici divalenti (Sandra Budzeń et al; The Biological Role of Carnosine and Its Possible Applications in Medicine; Adv Clin Exp Med 2013, 22, 5, 739–744; Tsai, Shih-Jei, et al. "Antioxidative and anti-inflammatory protection from carnosine in the striatum of MPTP-treated mice." Journal of agricultural and food chemistry 58.21 (2010): 11510-11516; Fouad, Amr A., et al. "Protective role of carnosine in mice with cadmium-induced acute hepatotoxicity." Food and chemical toxicology 47.11 (2009): 2863-2870).

Datorită acestor proprietăți, L-carnozina contracarează îmbătrânirea accelerată și degradarea genomului (susține integritatea și funcționalitatea celulară).

Carnozina se leagă de grupările carbonil/aldehidice rezultate din degradarea oxidativă a zaharurilor reducătoare (reacția Maillard), împiedică sau reversează cuplarea acestora la proteine, pe care le protejează astfel împotriva deteriorării și formării de produși de glicoxidare finală (AGE) (Tsai, Shih-Jei, et al. "Antioxidative and anti-inflammatory



protection from carnosine in the striatum of MPTP-treated mice." *Journal of agricultural and food chemistry* 58.21 (2010): 11510-11516). De asemenea, ea este un puternic inhibitor al formării peroxizilor lipidici și a produșilor finali de lipoxidare (ALE) (Aldini G, Facino RM, Beretta G, Carini M. Carnosine and related dipeptides as quenchers of reactive carbonyl species: from structural studies to therapeutic perspectives. *Biofactors* 24: 77– 87, 2005). Totodata, promoveaza productia de vimentină (compus cu rol important în eliminarea proteinelor oxidate, care contribuie la îmbătrânire) și, prin chelatarea și eliminarea metalelor grele, contribuie la diminuarea procesului de degradare a lipidelor, ADN-ului și proteinelor (Boldyrev AA, et.al; Carnosine as a natural antioxidant and geroprotector: From molecular mechanisms to clinical trials. *Rejuvenation Res.* 2010; 13:156).

S-a constatat că, carnozina posedă o dublă abilitate de a influența răspunsul imun: scade răspunsurile imune excesive la pacienții care au sistem imunitar hiperactiv și în același timp crește răspunsul imun la cei cu sistem imunitar sub-activ (precum vârstnicii), ceea ce o face un instrument vital pentru persoanele cu sistem imunitar delicat, precum cele cu alergii și afecțiuni autoimune (Salah E. et al; Carnosine: physiological properties and therapeutic potential. *Age and ageing* 2000, 29: 207-210).

Proprietățile anti-tumorale ale carnozinei au fost recunoscute cu mai bine de trei decenii în urmă și constau în limitarea distrucției ADN-ului (care contribuie la transformarea celulelor sănatoase în celule canceroase), în inhibarea creșterii tumorilor și în prevenirea metastazelor, în privarea de energie a celulelor canceroase, prin scăderea nivelului ATP-ului doar în aceste celule (Gaunitz, Frank, and Alan R. Hipkiss. "Carnosine and cancer: a perspective." (2012): 135-142).

Coenzima Q10 (CoQ10) (2,3 dimetoxi-5-metil-6-decaprenil benzoquinona) este o substanță naturală solubilă în grăsimi, care joacă un rol fundamental de cofactor enzimatic necesar în lanțul de transport al electronilor mitocondriali, fiind esențială pentru fosforilarea oxidativă și în respirația celulară aerobă prin generarea de adenzin trifosfat (ATP) (Egil Fosslie; *Mitochondrial Medicine – Molecular Pathology of Defective Oxidative Phosphorylation*, Annals of Clinical and Laboratory Science, 2000).

CoQ10 s-a dovedit că acționează atât ca antioxidant cât și ca purtător de electroni datorită solubilității sale lipidice și capacității sale de a exista atât în forme complet reduse (ubiquinol) cât și complet oxidate (ubiquinona).

CoQ10 acceptă electroni derivați atât din complexul I (NADH ubiquinona oxidoreductază) cât și din complexul II (succinat ubiquinona reductază) și apoi îi transportă la complexul III (ubiquinol citocrom c reductază).

Deficiența de CoQ (asociată unui aport alimentar inadecvat sau dereglării mecanismului de producere al acesteia datorită inhibării producției endogene de colesterol în urma administrării de statine) poate duce la afectarea transportului de electroni în lanțul respirator mitocondrial, cu proliferarea radicalilor de oxigen, având ca urmare creșterea stresului oxidativ și în final intensificarea peroxidării lipidelor (Sohal RS, et al. Effect of coenzyme Q10 intake on endogenous coenzyme Q content, mitochondrial electron transport chain, antioxidative defenses, and life span of mice. *Free Radic Biol Med.* 2006;40(3):480-487).

Proprietățile antioxidante ale CoQ10 indică faptul că poate fi eficientă în tratamentul multor boli sau afecțiuni asociate cu stresul oxidativ crescut (bolile cardiovasculare, cancerul sau maladii neurodegenerative precum Parkinson și Alzheimer) (Lee BJ, et al. Coenzyme Q10 supplementation reduces oxidative stress and increases antioxidant enzyme activity in patients with coronary artery disease. *Nutrition* 2012;28(3):250-255; Shults, Clifford W., et al. "Effects of coenzyme Q10 in early Parkinson disease: evidence of slowing of the functional decline." *Archives of neurology* 59.10 (2002): 1541-1550; Dai YL, et al. Reversal of mitochondrial dysfunction by coenzyme Q10 supplement improves endothelial function in patients with ischaemic left ventricular systolic dysfunction: a randomized controlled trial. *Atherosclerosis*. 2011 Jun;216(2):395-401; Limón-Pacheco J. et al; The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutat Res.* 2009 Mar 31;674(1-2):137-47; Wadsworth TL, et al. Evaluation of coenzyme Q as an antioxidant strategy for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2008 Jun;14(2):225-34; Fan L, et al.; Effects of coenzyme Q10 supplementation on inflammatory markers: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Pharmacol Res.* 2017;119:128-136).

Pirolochinolin chinona (PQQ), descoperită în 1979, este cofactor în ciclul redox, constituind un nutrient esențial ce acționează direct asupra enzimelor cheie din mitocondrii, facilitând producția de energie și biogeneza mitocondriilor (generarea spontană de noi mitocondrii în celulele îmbătrânite) (He K, et al; . Antioxidant and pro-oxidant properties of pyrroloquinoline quinone (PQQ): implications for its function in biological systems. *Biochem. Pharmacol.* 2003; 65:67–74; Calliandra B. et al; Dietary pyrroloquinoline quinone (PQQ) alters indicators of inflammation and mitochondrial-related metabolism in human subjects; *The Journal of Nutritional Biochemistry*; Volume 24, Issue 12, December 2013, Pages 2076-2084).

PQQ crește capacitatea mitocondriilor de a produce și stoca adenozin trifosfatul, activează unele căi de semnalizare moleculară ce conduc la stimularea formării de noi mitocondrii în celulele îmbătrânite și activează gene care susțin reproducerea, protecția și repararea mitocondriilor (Stites T, et al. Pyrroloquinoline quinone modulates mitochondrial quantity and function in mice. *J Nutr.* 2006 Feb;136(2):390-6;

Chowanadisai W et.al. ; Pyrroloquinoline quinone stimulates mitochondrial biogenesis through cAMP response element-binding protein phosphorylation and increased PGC-1 $\alpha$  expression; *J Biol Chem.* 2010 Jan 1;285(1):142-52).

În studiile preclinice, când animalele private de PQQ dietetic (aceste animale prezentau creștere în salturi, rată scăzută de concepție și mitocondrii scăzute numeric) au fost hranite cu dieta care includea PQQ s-a constatat inversarea efectelor concomitent cu creșterea numărului de mitocondrii și creșterea eficienței energetice (Misra HS, et al; Pyrroloquinoline-quinone and its versatile roles in biological processes. *J Biosci.* 2012 Jun;37(2):313-25).

Pe baza studiilor s-a demonstrat că atât singură, cât și în combinație cu CoQ10, PQQ îmbunătățește și susține sănătatea inimii și funcțiile creierului (Ohwada K, et al. Pyrroloquinoline quinone (PQQ) prevents cognitive deficit caused by oxidative stress in rats. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2008; 42:29–34).

Pentru creier, efectul principal al PQQ este cel neuroprotector (prin mecanism redox și prin activarea factorului Nrf2) și de creștere a nervilor (neurogeneza) (Zhang Q, et.al.; Pyrroloquinoline quinone rescues hippocampal neurons from glutamate-induced cell



death through activation of Nrf2 and up-regulation of antioxidant genes. *Genet Mol Res.* 2012 Aug 16;11(3):2652-64).

Un studiu asupra PQQ a arătat o creștere de 40 de ori a factorului de creștere a nervilor (FCN) și o creștere cu 20 - 30% a numărului de mitocondrii în culturi celulare (Chowanadisai W et.al. ; Pyrroloquinoline quinone stimulates mitochondrial biogenesis through cAMP response element-binding protein phosphorylation and increased PGC-1alpha expression; *J Biol Chem.* 2010 Jan 1;285(1):142-52).

În ceea ce privește activitatea antioxidantă, PQQ s-a dovedit deosebit de eficientă în neutralizarea a doi dintre cei mai puternici radicali liberi, radicalii superoxid și hidroxil (Tao, Rong, et al. "Pyrroloquinoline quinone preserves mitochondrial function and prevents oxidative injury in adult rat cardiac myocytes." *Biochemical and biophysical research communications* 363.2 (2007): 257-262; Urakami, Teizi, et al. "Synthesis of monoesters of pyrroloquinoline quinone and imidazopyrroloquinoline, and radical scavenging activities using electron spin resonance in vitro and pharmacological activity in vivo." *Journal of nutritional science and vitaminology* 43.1 (1997): 19-33), alături de inhibarea producerii de peroxinitrit (Zhang, Yumin, and Paul A. Rosenberg. "The essential nutrient pyrroloquinoline quinone may act as a neuroprotectant by suppressing peroxynitrite formation." *European Journal of Neuroscience* 16.6 (2002): 1015-1024).

În studiile efectuate pe animale, cercetătorii care au investigat impactul PQQ asupra bolilor cardiovasculare au demonstrat că administrarea acestuia reduce dimensiunea zonei cardiace deteriorate de atacul de cord acut și scade în mod favorabil peroxidarea lipidelor, ajută celulele musculare ale inimii să reziste la stresul oxidativ acut, conservă și îmbunătățește funcția mitocondrială (Bauerly K et.al; ; Altering pyrroloquinoline quinone nutritional status modulates mitochondrial, lipid, and energy metabolism in rats; *PLoS One.* 2011;6(7) ; Zhu, Bo-qing, et al. "Pyrroloquinoline quinone (PQQ) decreases myocardial infarct size and improves cardiac function in rat models of ischemia and ischemia/reperfusion." *Cardiovascular drugs and therapy* 18.6 (2004): 421-431).

Acidul fulvic este componentul principal al shilajitului – substanță fitomineală (originară din Himalaya). Acesta stabilizează, revitalizează și păstrează CoQ10 în forma sa activă (ubiquinol), stimulând nivelurile de CoQ10 disponibile pentru a proteja împotriva îmbătrânirii mitocondriale, fiind totodată responsabil de transportul nutrienților în țesuturi.

Componentele shilajitului, inclusiv acidul fulvic, servesc drept rezervoare de electroni care compensează electronii pierduți de CoQ10 în timpul reacției redox și permit acestei coenzime vitale să rămână activă mai mult timp (Agarwal SP, et al. Shilajit: a review. *Phytother Res.* 2007 May;21(5):401-5; Visser SA.; Effect of humic substances on mitochondrial respiration and oxidative phosphorylation. *Sci Total Environ.* 1987 Apr; 62:347-54).

În studiile pe animale de laborator, combinația de shilajit și CoQ10 a dus la creșterea producției de ATP în celulele musculare cu 27%, iar în celulele creierului cu 40% față de administrarea singulară a CoQ10. Acidul fulvic sprijină procesul de transfer al CoQ10 și al electronilor în mitocondrie și stimulează metabolismul energetic mitocondrial, protejând membranele mitocondriale de daune oxidative (Bhattacharyya S, et al. Shilajit dibenzo- $\alpha$ -pyrones: Mitochondria targeted antioxidants. *Pharmacologyonline.* 2009; 2:690-8; John Winkler, et al.; Therapeutic Potential of Fulvic Acid in Chronic Inflammatory Diseases and Diabetes; *J Diabetes Res.* 2018; Goel, R. K., R. S. Banerjee, and S. B. Acharya. "Antiulcerogenic and antiinflammatory studies with shilajit." *Journal of Ethnopharmacology* 29.1 (1990): 95-103).

Fosfatidilcolina este o fosfolipidă naturală (component al lecitinei), ce constituie o sursă importantă de colină (principalul component lipidic al membranelor celulare și al proteinelor prezente în sânge), nutrient ce acționează ca precursor al neurotransmițătorului acetilcolină (substanța vitală pentru membranele celulare, pentru funcționarea memoriei, a sistemului nervos și a mușchilor, ce favorizează comunicarea între celulele nervoase și care permite îmbunătățirea transmiterii influxului nervos în creier și menținerea sănătății învelișului de mielină al neuronilor).

Fosfatidilcolina este necesară pentru a compune și a repara membranele celulare ale corpului și este vitală pentru funcția ficatului. Studii recente au raportat activitatea antioxidantă și antiinflamatoare a fosfatidilcolinei (Meijuan Chen, et al.; Phosphatidylcholine regulates NF- $\kappa$ B activation in attenuation of LPS-induced inflammation: evidence from in vitro study; *Molecular & cellular biology*, 2017, Pages 7-14).

Acidul folic (vitamina B9 sau folat) este esențial în dezvoltarea și funcționarea organismului, datorită rolului important în creșterea și regenerarea celulelor, joacă rol de



coenzima pentru neurotransmitatori și totodată este implicat în sinteza acizilor nucleici, asigurând funcționarea corespunzătoare a sistemului nervos (Lubna Mahmood; The metabolic processes of folic acid and Vitamin B12 deficiency; Journal of health research and reviews. 2014, 1: 5-9).

5-Metiltetrahidrofolatul intervine în metabolismul homocisteinei, prevenind patologia cardiovasculară.

Vitamina B12 este esențială pentru sinteza de ADN-ul în timpul procesului de diviziune celulară, pentru sinteza hemoglobinei (substanță responsabilă de transportul oxigenului în sânge), pentru metabolismul normal al lipidelor (joacă un rol activ în sinteza acizilor grași și în arderea grasimilor în corp) și proteinelor și pentru sinteza de energie în organism.

Vitamina B12 are un rol activ și în procesul de înnoire a celulelor și este utilizată pentru a restabili forma activă a acidului folic sub formă de metilfolat. Metilfolatul este un produs de reacție în metilarea homocisteinei la metionină în contextul sintezei ADN-ului, important de asemenea în protecția cardiovasculară (Michael Fenech; Folate (vitamin B9) and Vitamin B12 and their function in the maintenance of nuclear and mitochondrial genome integrity; Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 733(1-2):21-33).

Magneziul, mineral și electrolit esențial organismului uman, are peste 300 de funcții în organism și joacă un rol crucial în echilibrul hormonal (afectează funcția tiroidiană, detoxifierea estrogenilor, glicemia, hormonii de stres, etc). Localizat predominant intracelular, magneziul contribuie la asigurarea transportului electrolitilor (potasiu, calciu) precum și al unor nutrienți, prin membranele celulare, contribuind la reglarea glicemiei și la menținerea sănătății sistemului cardiovascular (Dyckner, Thomas, and Per Ola Wester. "Potassium/magnesium depletion in patients with cardiovascular disease." The American journal of medicine 82.3 (1987): 11-17). Magneziul echilibrează pH-ul organismului, favorizând buna desfășurare a acțiunii enzimelor, crează energie prin activarea sintezei adenosin trifosfatului (ATP) și ajută la replicarea ADN-ului (Elisabeth Gout et. al; Interplay of Mg<sup>2+</sup>, ADP, and ATP in the cytosol and mitochondria: Unravelling the role of Mg<sup>2+</sup> in cell respiration; PNAS | October 13, 2014).

Potasiul este un mineral vital pentru funcționarea nervilor și a mușchilor și pentru menținerea ritmurilor cardiace adecvate. Ajută la combaterea efectelor de creștere a tensiunii arteriale ale sodiului și la relaxarea mușchilor netezi din pereții vaselor de sânge. Ionii de potasiu au o importanță esențială pentru echilibrul electric de membrană și funcționarea celulelor nervoase și musculare și în echilibrul acido-bazic (D'Elia, Lanfranco, et al. "Potassium intake, stroke, and cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective studies." *Journal of the American College of Cardiology* 57.10 (2011): 1210-1219).

Fosforul, element mineral important, reprezintă o parte integrantă a acizilor nucleici din ADN (acidul dezoxiribonucleic), participă în structura acestuia detinând o funcție cheie în stocarea și generarea energiei. Totodată este substanța-tampon în echilibrul acido-bazic sanguin, ajutând la stabilizarea valorii pH-ului în sânge (Reimer, K. A., R. B. Jennings, and M. L. Hill. "Total ischemia in dog hearts, in vitro 2. High energy phosphate depletion and associated defects in energy metabolism, cell volume regulation, and sarcolemmal integrity." *Circulation research* 49.4 (1981): 901-911; Coty, William A., and Peter L. Pedersen. "Phosphate Transport in Rat Liver Mitochondria Kinetics and Energy Requirements." *Journal of Biological Chemistry* 249.8 (1974): 2593-2598).

Suplimentul alimentar conform invenției se prepară prin procedee cunoscute în domeniul de o persoană de specialitate.

Amestecul de supliment alimentar este condiționat pentru administrare pe cale orală, sub formă de tablete, capsule, pulberi, sau pentru administrare intravenoasă, sub formă de soluții perfuzabile, care conțin doze unitare pentru administrare o dată sau de mai multe ori pe zi.

Se da în continuare un exemplu (C) de realizare.

Pentru obținerea suplimentului alimentar sub forma de capsule se cântăresc următoarele ingrediente:

22 grame de acid folic, 26 g de vitamina B12, 71 g de acid fulvic (50%) obținut din

Shilajit si se disperseaza prin omogenizare intr-un malaxor pentru pulberi uscate impreuna cu 4,412 kg de carnozina, timp de 20 minute.

Separat se cantaresc 1,765 kg de Ubiquinona, 0,176 Kg de PQQ, 1,588 kg de fosfatidilcolina (20-30% obtinuta din lecitina de floarea soarelui, soia sau galbenus de ou) si 0,375 Kg de dioxid de siliciu si se omogenizeaza in malaxor timp de 15 minute.

Se cantaresc 4,165 Kg de fosfat de magneziu si 2,4 kg de fosfat de potasiu si peste acestea se adauga cele doua amestecuri omogenizate initial. Se malaxeaza amestecul timp de 15 minute.

Amestecul uniform obtinut se incapsuleaza in capsule tip 000, fiecare capsula avand masa medie de 850 mg.

Fiecare capsula astfel obtinuta va contine: 250 mg carnozina, 100 mg CoQ10, 30 mg fosfatidilcolina, 10 mg PQQ, 2 mg acid fulvic, 1500 micrograme vitamina B12, 1250 micrograme acid folic, 95,1 mg fosfor, 35,9 mg potasiu, 50,0 mg magneziu.

Doza recomandata este de 2-4 capsule/zi.

Suplimentul alimentar conform invenției a fost evaluat în ceea ce privește măsura activității antioxidante.

În toate organismele vii există emisiuni ultraslabe de fotoni ale spectrelor luminoase, în intervalul de 180-800 nm, iar acest fenomen este strâns legat de metabolismul oxidativ de producere a radicalilor liberi, de diviziunea celulară, de apoptoză celulară, fotosinteză, îmbătrânirea prematură, geneza cancerului și reglarea creșterii, iar în anumite condiții, care stimulează fagocitoza și activarea oxidazei NADPH a leucocitelor polimorfonucleare (PMN), se emit fotoni care pot fi măsurați cu un contor de scintilații. În ultimele decade au fost dezvoltate diverse metode pentru măsurarea activității antioxidante (AOA) a soluțiilor biologice și a componentelor. Unele utilizează o sursă pentru producerea de radicali liberi, un amplificator al chimoluminiscentei (CL) (de exemplu Luminol, Lucigenină), un oxidant puternic (de exemplu Perborat), catalizatori enzimatici ca Peroxidaza, Xantinoxidaza, și substanțe amplificatoare cum ar fi



paraiodofenolul. În cursul oxidării, luminolul și lucigenina eliberează energie luminoasă atunci când electronii, aflați în stare de excitație, cad înapoi în starea normală. Emisia continuă de lumină oglindește producția de specii reactive ale O<sub>2</sub>, (superoxid, peroxid de hidrogen, hidroxil) și reacționează sensibil la întreruperile datorate captatorilor de radicali (Ionescu G. et al.: Simple chemiluminescence assays for free radicals in venous blood and serum samples. Results in atopic, psoriasis, MCS and cancer patients. *Forschende Komplementärmedizin*, 6, 294-300, 1999).

Metoda CL în 3 trepte constă în a adăuga la o cantitate constantă de sânge, ser sau o soluție antioxidantă (de exemplu suc de fructe, un amestec de antioxidanți etc.) o cantitate constantă de lucigenină tamponată (respectiv, la testul AOA, un amestec ce produce SRO), urmată de o scurtă preincubare și măsurarea numărului de fotoni la intervale de 600 secunde, la temperatura corpului sau la cea a camerei (37°C respectiv 22°C) (Ionescu G. et al.: Simple chemiluminescence assays for free radicals in venous blood and serum samples. Results in atopic, psoriasis, MCS and cancer patients. *Forschende Komplementärmedizin*, 6, 294-300, 1999; Ionescu J.G. et al.: Clinical Application of Free Radical Assessment in Blood and Serum Samples by Enhanced Chemiluminescence. II. Antioxidative activity and therapy approaches with drugs and natural compounds. *J. Biomed. Lab. Sci*, 12, 46-56, 2000; Ionescu J.G.: Klinische Relevanz der Redox- und Chimioluminiszenzbestimmungen bei Allergien, Haut- und Umwelterkrankungen. In: Marktl, Reiter, Ekmekcioglu: Säuren, Basen, Schlacken, Springer-Verlag, 73-81, 2007).

Abaterile parametrilor descriși (aparitia unui mare număr de radicali liberi în compartimentele celulare, respectiv modificarea valorilor redox) precum și cele ale altor parametri imunologici au fost deja descrise la psoriazis, neurodermită și sensibilitate chimică multiplă (MCS), ele fiind urmarea unei alimentații greșite, a infecțiilor persistente și a unor substanțe dăunătoare (Ionescu JG: Free radical monitoring in human blood following therapy interventions with drugs and natural compounds. *Médecine & Longévité* 2010; 2(4): 211–220; Ionescu J.G. : Integrative Psoriasis therapie unter Berücksichtigung der Provokationsfaktoren. *Derm* 11, 59-64, 2005; Ionescu JG: New insights in the pathogenesis of atopic disease. *Journal of Medicine and Life* 2009; 2(2):

146–154).

Experimentele efectuate în laboratoarele "Clinicii Speciale Neukirchen" din Germania (<http://www.spezialklinik-neukirchen.de/>) demonstrează superioritatea amestecului (C) în capacitatea antioxidantă ("free radical quenching capacity") atât asupra componentelor amestecului luate individual cât și asupra unor combinații de ingrediente (A, B) testate în paralel.

În Figura 1A sunt prezentate rezultatele privind activitatea antioxidantă a componentelor individuale iar în figura 1B sunt prezentate rezultatele privind activitatea antioxidantă a 3 combinații de ingrediente, respectiv combinația A (Coenzima Q10, PQQ și acid fulvic), combinația B (Coenzima Q10, PQQ, carnozina, sare de Mg, sare de K, fosfolipide) și combinația C (Coenzima Q10, PQQ, carnozina, sare de Mg, sare de K, fosfolipide, acid fulvic, vitamina B12 și acid folic). Atât combinațiile A și B cât și combinația C (250 mg carnozina, 100 mg CoQ10, 30 mg fosfatidilcolina, 10 mg PQQ, 2 mg acid fulvic, 1500 micrograme vitamina B12, 1250 micrograme acid folic, 95,1 mg fosfor, 35,9 mg potasiu, 50,0 mg magneziu) sunt testate în soluții cu o concentrație de 1,5%.

Rezultatele arată:

- 1) Testarea capacității antioxidante individuale a componentelor din amestec în concentrațiile din produsul final demonstrează activități antioxidante nesemnificative (subunitare), cu excepția carnozinei (9,21 unități de inhibiție AOA). (figura 1A)
- 2) Combinațiile A, B, C, testate, demonstrează creșteri deosebit de semnificative și cu relevanță clinică ale activității antioxidante și antiinflamatoare, demonstrată prin exemplele (A, B și C). (figura 1B)
- 3) Efecte extrem de semnificative și cu relevanță clinică se observă în combinația B și combinația C prin asocierea carnozinei, fosfolipidelor, sărurilor de magneziu și potasiu, a acidului folic și a vitaminei B12.

Suplimentul alimentar conform invenției a fost evaluat de asemenea prin teste pe probe de sânge și plasmă ex in vivo obținute de la pacienți cu o inflamație exacerbată

documentată prin valoarea extrem de crescută a radicalilor liberi (Neurodermită atopică). (figura 2)

S-a măsurat producția de radicali liberi prin testul de chimioluminescență ultrasensibilă într-o probă proaspătă de 500  $\mu$ l de sânge recoltată de la un pacient cu neurodermită atopică acută (valoarea bazală). Rezultatul de 1.589.527 fotoni numărați în 600 de secunde dovedește o stare inflamatorie extrem de puternică.

500  $\mu$ l din aceeași probă de sânge au fost incubăți cu un volum de 500 $\mu$ l al unei soluții 1% a preparatului. Rezultatul arată o reducere masivă a radicalilor liberi la 267.019 fotoni numărați.

500  $\mu$ l din aceeași probă de sânge au fost incubăți cu un volum de 500 $\mu$ l al unei soluții 4% a preparatului. Rezultatul arată o reducere masivă a radicalilor liberi la 134.835 fotoni numărați.

Evaluarea efectului antioxidant al suplimentului alimentar s-a testat și în plasma aceluiași pacient, obținută prin centrifugarea sângelui. După o perioadă de incubare/temperare a amestecului de plasma/lucigenină de 90 de secunde, s-a adăugat un volum de 500 $\mu$ l de soluție a combinației C 1% sau 4% (săgeata) și s-a continuat înregistrarea eliberării fotonilor. În urma adăugării soluției cu preparatul C se remarcă o scădere dramatică a numărului de fotoni înregistrați, și deci, a radicalilor liberi din probă. (figura 3A și figura 3B)

Rezultatele arată că amestecul de componente folosit în combinația C demonstrează o activitate antioxidantă deosebit de puternică în experimentele pe sânge proaspăt uman *ex in vivo*.

Suplimentul alimentar conform invenției a fost supus testelor *in vivo* privind efectul antioxidant al acestuia asupra producției de radicali liberi în sângele total după administrare orală.

Pentru evaluarea efectului *in vivo* a obiectului invenției s-au administrat *a jeun* două capsule de 750mg cu preparatul C unui pacient cu Neurodermită atopică generalizată

caracterizată printr-o puternică stare de inflamație sistemică.

S-au evaluat (a) dinamica scăderii radicalilor liberi înainte de administrare, la o oră și respectiv la 3 ore după ingerarea preparatului și (b) efectul preparatului asupra activității antioxidative (AOA) a plasmei de asemenea înainte de administrare, la o oră și respectiv la 3 ore după ingerarea preparatului.

Rezultatele din primul experiment (a) demonstrează o scădere semnificativă a radicalilor liberi în comparație cu valoarea bazală de 1.589.527 număr de fotoni la 1.095.170 număr de fotoni după o oră de la administrare și respectiv la 805.679 număr de fotoni la 3 ore după administrarea preparatului (figura 4). Pacientul a raportat o scădere sesizabilă a pruritului cutanat la 4 ore după administrarea celor două capsule cu preparatul C.

În al doilea experiment (b) s-a măsurat activitatea antioxidantă totală (AOA) în plasma sangvină a pacientului recoltată *a jeun* (bazal), la o oră și respectiv la 3 ore de la administrarea a doua capsule cu preparatul C. Rezultatele acestui experiment demonstrează o creștere semnificativă a AOA la o oră după administrarea preparatului, urmată de o revenire la nivelul bazal după 3 ore (figura 5).

Rezultatele arată că administrarea orală a combinației C conduce în interval de o oră la o creștere rapidă a rezervei antioxidante totale, urmată după 3 ore de o revenire la nivelul bazal prin consumul datorat inflamației sistemice acute, fapt care demonstrează necesitatea continuării tratamentului.

Administrarea *in vivo* pe o perioadă medie a dozei recomandate (2 capsule/zi, una *a jeun* și una seara) a fost urmată de evaluarea producerii de radicali liberi în sânge cu măsurarea fotonilor eliberați în testul de chimioluminescență *a jeun* în prima zi, după 2 zile și după 5 zile.

Figura 6 pune în evidență efectul dozei uzuale a combinației C asupra producției de radicali liberi după 3 zile de administrare la o pacientă cu Sindromul de Oboseală Cronică (SOC), infecții virale recidivante și fibromialgie.

Pacienta remarcă după 3 zile de administrare o diminuare semnificativă a cefaleei, cu reducerea simptomului de ceață cerebrală ("foggy brain") și cu un plus de energie dimineața la sculare. Acest fapt confirmă acțiunea antiinflamatoare rapidă a combinației C, lipsită de orice efecte secundare tipice pentru medicamentele antiinflamatoare de sinteză.

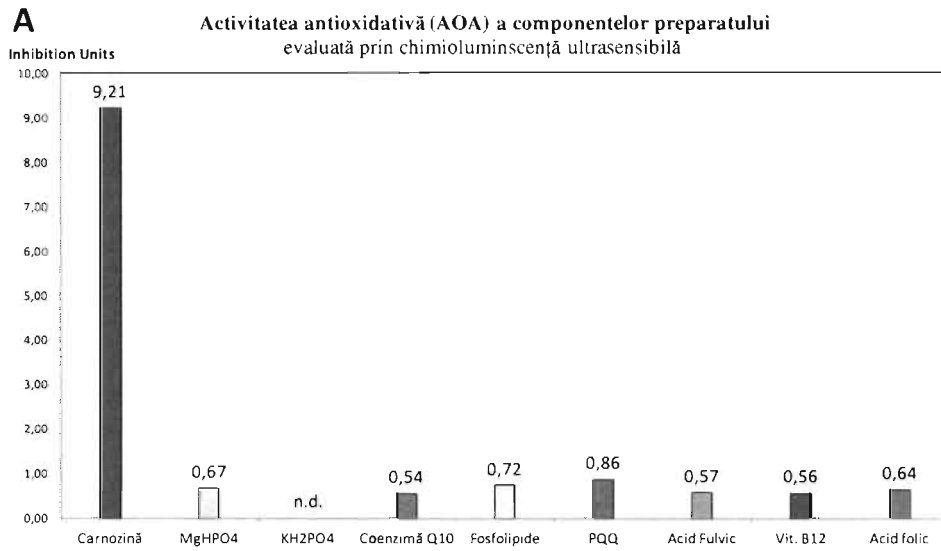
Suplimentul alimentar conform invenției prezintă o gamă largă de aplicații practice în patologia umană asociată stresului oxidativ (ca de exemplu: boli neurodegenerative, cardiovasculare, autoimune, reumatismale, diabet și boli de mediu prin acumularea cronică a organo-toxinelor și metalelor grele).

## Revendicări

1. Supliment alimentar pentru utilizarea în combatere a stresului oxidativ și a inflamației în sisteme biologice umane **caracterizat prin aceea că** este un amestec care cuprinde trei sau mai multe din următoarele ingrediente: carnozină, coenzima Q10, fosfolipide, pirolochinolin chinona (PQQ), acid fulvic, oligoelemente, vitamine.
2. Supliment alimentar conform revendicării 1 **caracterizat prin aceea că** este un amestec în care fosfolipidele sunt reprezentate de fosfatidilcolina.
3. Supliment alimentar conform revendicării 1 **caracterizat prin aceea că** este un amestec în care oligoelementele sunt unul sau mai multe dintre potasiu, magneziu sau fosfor, sub formă de săruri compatibile cu celelalte ingrediente.
4. Supliment alimentar conform revendicării 1 **caracterizat prin aceea că** este un amestec în care vitaminele sunt una sau mai multe dintre acid folic și vitamina B12.
5. Supliment alimentar conform revendicării 1 **caracterizat prin aceea că** este un amestec care cuprinde coenzima Q10 1-80%, PQQ 1-50% și acid fulvic 1-50% și de preferință, cuprinde coenzima Q10 5-50%, PQQ 1-30% și acid fulvic 2-20%, procentele fiind exprimate în greutate.
6. Supliment alimentar conform revendicării 1, 2 și 3 **caracterizat prin aceea că** este un amestec care cuprinde L-carnozină 10-70%, fosfat de magneziu 5-50%, fosfat de potasiu 5-50%, coenzima Q10 2-60%, fosfatidilcolină 2-50% și PQQ 0,3-30,0%, și de preferință, cuprinde L-carnozină 15-45%, fosfat de magneziu 10-30%, fosfat de potasiu 10-30%, coenzima Q10 10-30%, fosfatidilcolină 2-20% și PQQ 0,5-15%, și mai de preferință, cuprinde L-carnozina 25-27%, fosfat de magneziu 16-21%, fosfat de potasiu 16-21%, coenzima Q10 12-17%, fosfatidilcolina 3-8%, PQQ 0,8-6%, procentele fiind exprimate în greutate.
7. Supliment alimentar conform revendicării 1, 2, 3 și 4 **caracterizat prin aceea că** este un amestec care cuprinde L-carnozină 10-70%, fosfat de magneziu 5-50%, fosfat de potasiu 5-50%, coenzima Q10 2-60%, fosfatidilcolină 2-50%, dioxid de

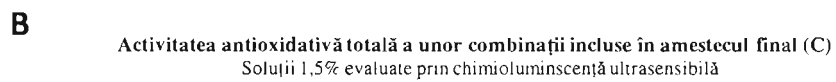
siliciu 1,5-10,0%; PQQ 0,3-40,0%, acid fulvic 0,02-15,0%, acid folic 0,01-0,5% și vitamina B12 0,01-0,5%, și de preferință, cuprinde L-carnozină 15-45%, fosfat de magneziu 10-30%, fosfat de potasiu 10-30%, coenzima Q10 10-30%, fosfatidilcolină 2-20%, dioxid de siliciu 5-10,0%, PQQ 0,5-15%, acid fulvic 0,2-10%, acid folic 0,1-0,3% și vitamina B12 0,1-0,3%, și mai de preferință, cuprinde L-carnozina 25-27%, fosfat de magneziu 16-18%, fosfat de potasiu 16-18%, coenzima Q10 12-14%, fosfatidilcolina 3-5%, dioxid de siliciu 12-14%, PQQ 0,8-2,5%, acid fulvic 0,2-1,1%, acid folic 0,14-0,2%, vitamina B12 0,14-0,2%, procentele fiind exprimate în greutate.

8. Supliment alimentar conform oricăreia dintre revendicările de la 1 la 7 caracterizat prin aceea că amestecul este condiționat pentru administrare pe cale orală, sub formă de tablete, capsule, pulberi, sau pentru administrare intravenoasă, sub formă de soluții perfuzabile, care conțin doze unitare pentru administrare o dată sau de mai multe ori pe zi.



Prof.Dr. John Ionescu, Oct. 2019

Figura 1A



Prof.Dr. John Ionescu, Oct. 2019

Figura 1B



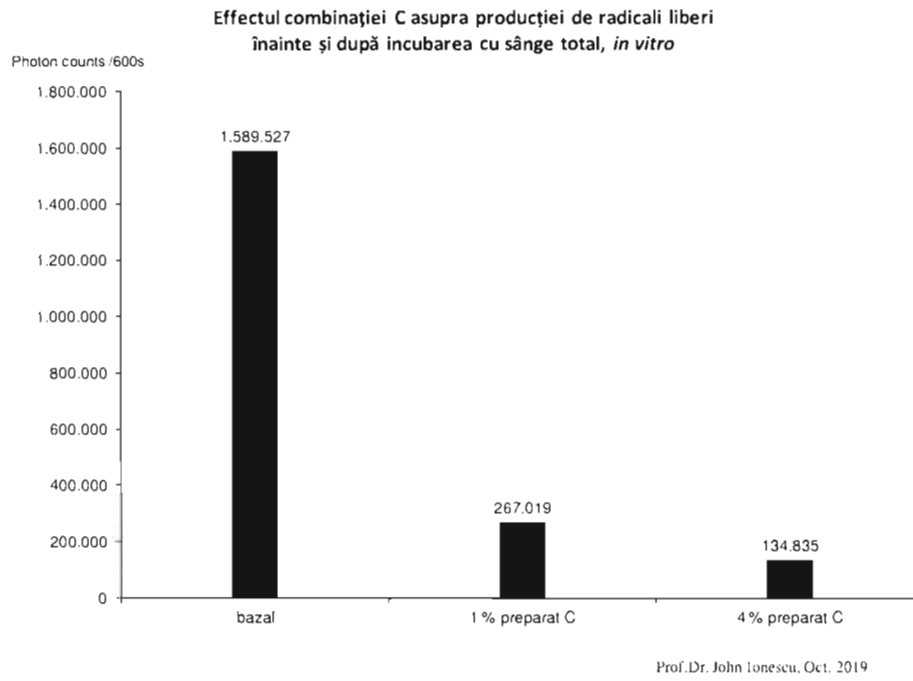


Figura 2

### Efectul unei soluții 1% a complexului C asupra producției de radicali liberi în plasma sanguină

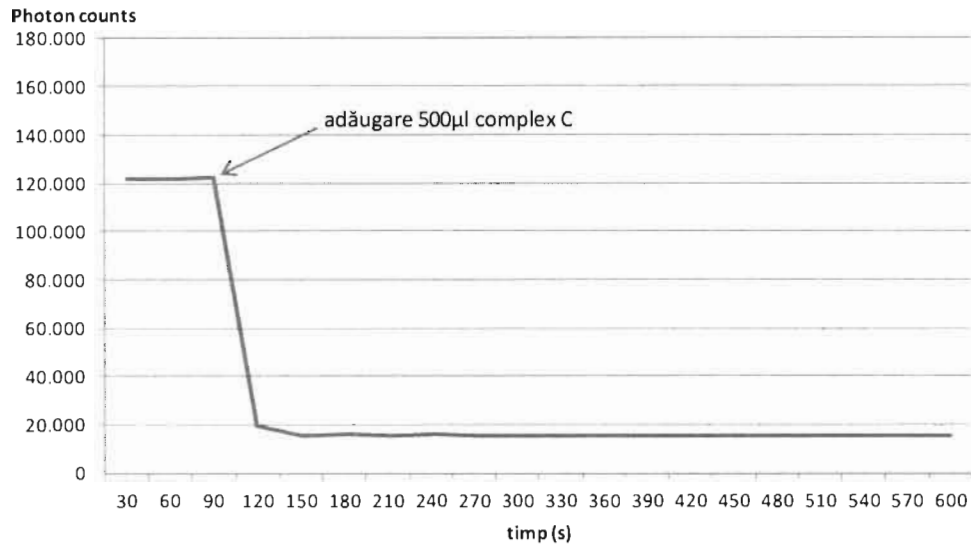


Figura 3A

### Efectul unei soluții 4% a complexului C asupra producției de radicali liberi în plasma sanguină

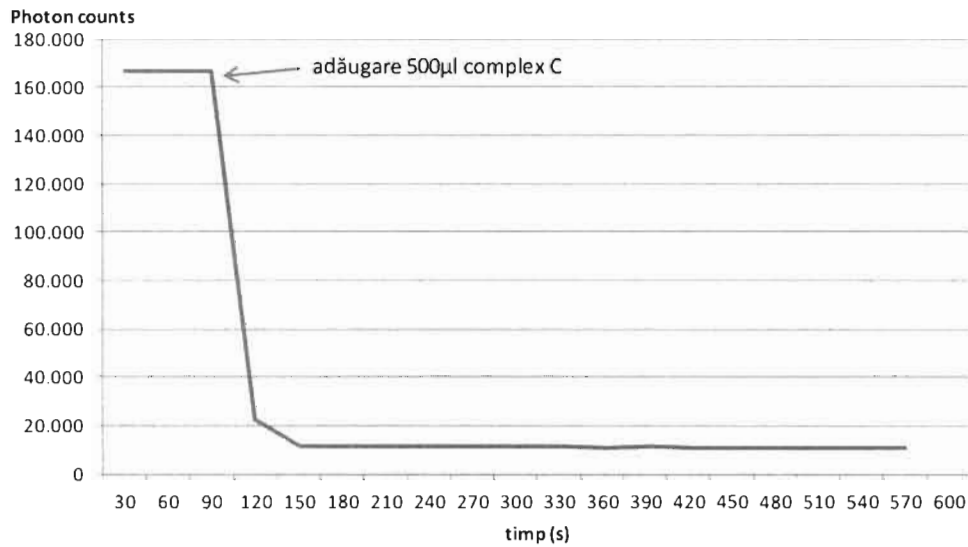
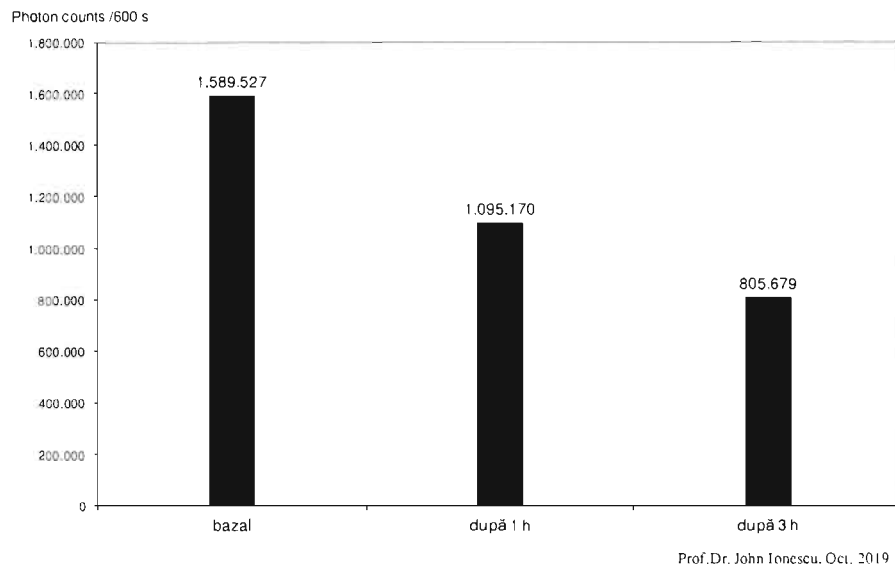


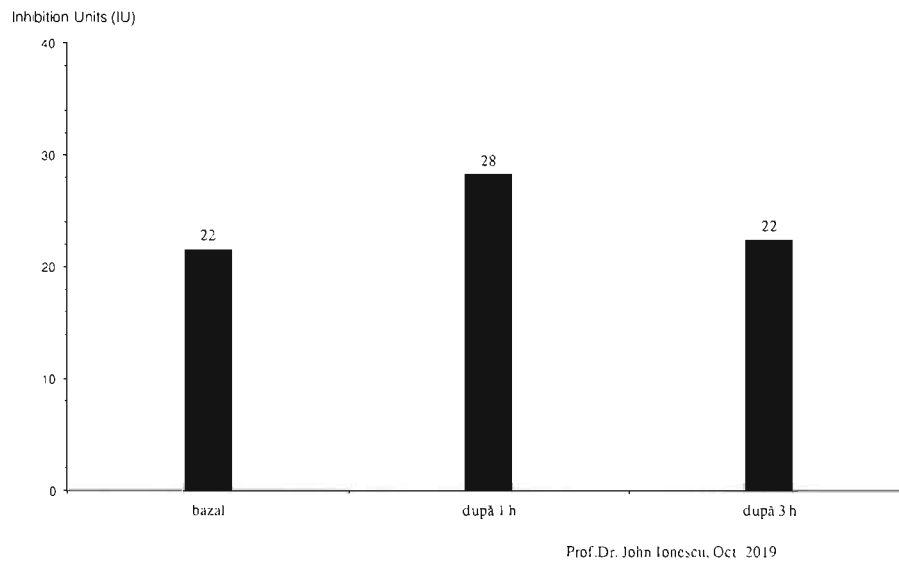
Figura 3B

**Efectul preparatului C asupra producției de radicali liberi în sânge total, *in vivo***

Pacient: B. R., 53 ani, Neurodermită atopică acută  
Administrare a jeun a 2 capsule preparat

**Figura 4****Efectul preparatului C asupra activității antioxidative (AOA) în plasmă, *in vivo***

Pacient: B. R., 53 ani, Neurodermită atopică acută  
Administrare a jeun a 2 capsule preparat

**Figura 5**

**Efectul preparatului C asupra producției de radicali liberi în sânge total, *in vivo***

Pacientă: M.A., 47 ani, CFS  
Administrare a jeun 1 capsulă + seara 1 capsulă preparat C

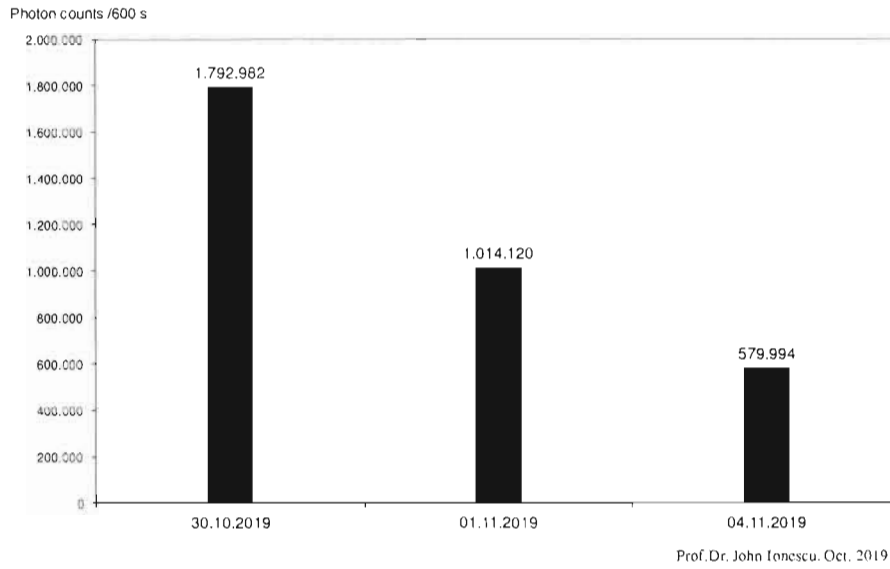


Figura 6



Cont IBAN: RO05 TREZ 7032 0F33 5000 XXXX  
Trezoreria Sector 3, București  
Cod fiscal: 4266081

Serviciul Examinare de Fond: Chimie-Farmacie

## RAPORT DE DOCUMENTARE

CBI nr. a 2019 00718	Data de depozit: 08/11/2019	Data de prioritate
----------------------	-----------------------------	--------------------

Titlul invenției	SUPLIMENT ALIMENTAR CU PROPRIETĂȚI ANTIOXIDANTE ȘI ANTIINFLAMATOARE
------------------	---

Solicitant	IONESCU JOHN, BOEHMERWALDSTRASSE 4, RIMBACH, DE; ZENYTH PHARMACEUTICALS S.R.L., STR.PETRU RAREȘ, NR 50A, SAT BISTRIȚA, COM ALEXANDRU CEL BUN, RO
------------	--

Clasificarea cererii (Int.Cl.)	A61K31/4172 <sup>[2006.01]</sup> , A61KP17/18 <sup>[2006.01]</sup>
--------------------------------	--

Domenii tehnice cercetate (Int.Cl.)	A61K
-------------------------------------	------

Colecții de documente de brevet cercetate	EpoqueNet, RoPatent
Baze de date electronice cercetate	
Literatură non-brevet cercetată	

Documente considerate a fi relevante		
Categoria	Date de identificare a documentelor citate și, unde este cazul, indicarea pasajelor relevante	Relevant față de revendicarea nr.
A	EP2236146 B1, cu data publicării cererii 06.10.2010, solicitant Nutri Co., Ltd., JP, întregul document	1-8
A	EP3412292 B1, cu data publicării cererii 12.12.2018, solicitant Nanjing Shupeng Lifescience Co., Ltd., CN, întregul document	1-8

Strada Ion Ghica nr. 5, Sector 3, Cod 030044, București, România  
Telefon centrală: +40-21-306.08.00 01 02 .... 28 29  
Fax: +40-21-312.38.19  
E-mail: office@osim.ro  
www.osim.ro



Documente considerate a fi relevante - continuare		
Categoria	Date de identificare a documentelor și, unde este cazul, indicarea pasajelor relevante	Relevant față de revendicarea nr.
Unitatea invenției (art.18)	Cererea de brevet de invenție nu satisface condiția de unitate a invenției, aceasta conținând mai mult decât o invenție, astfel:	
Observații:		

Data redactării: 10.09.2020

Dr. Ing., Jun



Litere sau semne, conform ST.14, asociate categoriilor de documente citate	
<p><b>A</b> - Document care definește stadiul general al tehnicii și care nu este considerat de relevanță particulară;</p> <p><b>D</b> - Document menționat deja în descrierea cererii de brevet de invenție pentru care este efectuată cercetarea documentară;</p> <p><b>E</b> - Document de brevet de invenție având o dată de depozit sau de prioritate anterioară datei de depozit a cererii în curs de documentare, dar care a fost publicat la sau după data de depozit a acestei cereri, document al cărui conținut ar constitui un stadiu al tehnicii relevant;</p> <p><b>L</b> - Document care poate pune în discuție data priorității/lor invocată/e sau care este citat pentru stabilirea datei de publicare a altui document citat sau pentru un motiv special (se va indica motivul);</p> <p><b>O</b> - Document care se referă la o dezvăluire orală, utilizare, expunere, etc;</p>	<p><b>P</b> - Document publicat la o dată aflată între data de depozit a cererii și data de prioritate invocată;</p> <p><b>T</b> - Document publicat ulterior datei de depozit sau datei de prioritate a cererii și care nu este în contradicție cu aceasta, citat pentru mai buna înțelegere a principiului sau teoriei care fundamentează invenția;</p> <p><b>X</b> - document de relevanță particulară; invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau nu poate fi considerată ca implicând o activitate inventivă, când documentul este luat în considerare singur;</p> <p><b>Y</b> - document de relevanță particulară; invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând o activitate inventivă, când documentul este combinat cu unul sau mai multe alte documente de aceeași categorie, o astfel de combinație fiind evidentă unei persoane de specialitate;</p> <p><b>&amp;</b> - document care face parte din aceeași familie de brevete de invenție.</p>