

Esame brevetti 2018

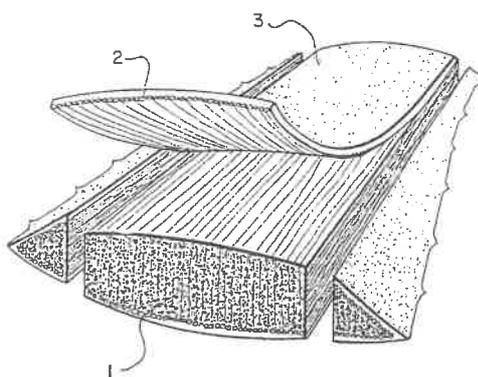
Prova chimica

La nostra società opera da anni nel settore dei principi attivi di origine vegetale ed è esperta nell'estrazione e purificazione di tali principi attivi per l'uso in terapia e/o cosmetica.

Recentemente abbiamo avviato un progetto di ricerca per l'estrazione e la purificazione del gel di aloe dalla relativa pianta.

Sono note molte specie di *Aloe*, tra le quali si citano l'*Aloe Barbadensis*, l'*Aloe Arborescens* e l'*Aloe Chinensis*, che si differenziano per provenienza, dimensione delle foglie e anche composizione e proprietà delle varie parti che compongono la foglia. Sezionando una foglia come mostrato in Fig. 1 si vede che essa comprende un'epidermide o corteccia 3, uno strato sub-corticale costituito da cellule pericicliche che contengono una linfa o succo giallo 2, ed una parte interna costituita da un gel 1, che è la parte di interesse per le sue proprietà cicatrizzanti, note da lungo tempo.

Fig. 1



Il succo giallo è ricco in glicosidi antrachinonici dal sapore fortemente amaro ed effetto lassativo. Sebbene le popolazioni delle regioni di crescita spontanea dell'aloë abbiano tradizionalmente utilizzato miscele di gel e succo giallo ottenute per semplice spremitura delle foglie, studi recenti hanno evidenziato che il succo giallo ha effetti citotossici ed infiammatori. E' dunque necessario separare il succo dal gel ed utilizzare un gel esente da succo, o contenente minime quantità di succo.

Un altro fattore che influenza la qualità del gel di aloë è la diminuzione della sua naturale acidità durante lo stoccaggio delle foglie dopo la raccolta, con variazione del pH verso valori neutri, ai quali si ha la tendenza alla formazione di solidi che rendono instabile il gel nel tempo e ne diminuiscono l'efficacia.

Gli obiettivi del nostro progetto di ricerca sono quindi stati quelli di realizzare un processo per la produzione di un gel di aloë altamente puro, in particolare esente da glicosidi antrachinonici, ma che sia anche stabile nel tempo, cioè non soggetto alla formazione di solidi sospesi o di precipitati.

Il processo che abbiamo messo a punto è descritto sinteticamente nel seguito.

Come di consueto, le foglie di aloë vengono tagliate come mostrato in Fig. 1, in modo da separare la corteccia (3) e lo strato di cellule pericicliche (2) dallo strato interno contenente il gel d'aloë (1). Quest'ultimo viene prelevato ed introdotto in un recipiente provvisto di un agitatore e miscelato con carbone attivo preferibilmente in una quantità dal 8 a 12 kg per 100 kg di gel di aloë. La miscela gel + carbone attivo viene mantenuta preferibilmente ad una temperatura tra 20 e 40°C e sotto agitazione per un tempo da 1 a 2 ore. Alla fine del trattamento con carbone attivo il gel d'aloë viene separato dal carbone attivo con tecniche note quali la filtrazione o la centrifugazione.

A. G. P.

AL G. P. M. M.

Abbiamo verificato che il trattamento sopra descritto è efficace nel rimuovere residui di succo giallo ad un livello tale da consentire che il gel così purificato sia esente da glucosidi antrachinonici, con ciò intendendosi un livello di glucosidi antrachinonici inferiore allo 0,05% in peso.

Nello sviluppo del processo ci siamo tuttavia accorti che questa fase di purificazione con carbone attivo non era sufficiente ad ottenere gli obiettivi prefissati. Infatti, le differenze di acidità dovute ai differenti tempi di stoccaggio influenzano la stabilità del gel, nonostante l'assenza di glucosidi antrachinonici.

Abbiamo pertanto perfezionato il processo introducendo una fase di stabilizzazione nella quale il gel purificato dopo il trattamento con carbone attivo viene fatto reagire con una composizione atta a regolare il pH nell'intervallo ottimale da 4,2 a 5,5.

Abbiamo provato varie composizioni di stabilizzazione, ma quella migliore si è rivelata essere una composizione binaria di acido citrico e glicina. Abbiamo eseguito varie prove con quantità variabili di acido citrico e glicina, riportate nella Tabella 1 seguente:

Tabella 1

Composizione di stabilizzazione	Es. 1	Es. 2	Es. 3	Es. 4	Es. 5
Acido citrico	8 g	10 g	15 g	2 g	8 g
Glicina	12 g	10 g	5 g	12 g	assente

Le composizioni binarie degli esempi di Tabella 1, in forma di polvere, sono state addizionate nelle quantità ivi riportate a 1000 g di gel di aloe per realizzare la fase di stabilizzazione, che viene condotta preferibilmente in un recipiente provvisto di un agitatore a temperatura ambiente sotto debole agitazione per un tempo da 1 a 2 ore. Le composizioni in forma di polvere si sciolgono facilmente nel gel e ne variano il pH. E' necessario che durante questa fase di stabilizzazione il gel sia sottoposto a radiazione ultravioletta, atta a rendere il prodotto finale sterile. Ciò può essere ottenuto, ad esempio, applicando sul recipiente un coperchio provvisto di una sorgente di radiazione UV. Abbiamo verificato che la lunghezza d'onda preferita della radiazione UV è di 2600 Å. Questo trattamento permette di ottenere una efficace sterilizzazione del gel.

Il gel di aloe così stabilizzato e sterilizzato viene poi testato al fine di valutarne la stabilità nel tempo ("shelf life") osservando la eventuale presenza di precipitati e determinandone l'entità. La Tabella 2 seguente riporta il pH del gel dopo il trattamento di stabilizzazione e sterilizzazione e fornisce una valutazione della stabilità basata sulla formazione o meno di precipitati o particelle solide sospese:

Tabella 2

Aspetti valutati	Gel + Comp. Es.1	Gel + Comp. Es. 2	Gel + Comp. Es. 3	Gel + Comp. Es. 4	Gel + Comp. Es. 5
Presenza di solidi sospesi o precipitato	no	no	no	si	si
pH	5.5	4.8	4.2	6.0	5.5

Mentre il gel portato al pH 4,2-5,5 con la composizione degli esempi 1, 2 e 3, nelle quantità indicate in Tabella 1, si è dimostrato indefinitamente stabile, quello ottenuto con le composizioni degli esempi 4 e 5 ha evidenziato, dopo pochi giorni, la formazione di solidi in una percentuale significativa, che all'analisi sono risultati essere prevalentemente lignine. Per quanto riguarda la composizione dell'esempio 4, si ritiene che ciò sia dovuto al pH troppo alto.

Abbiamo inoltre verificato che la presenza di un amminoacido è necessaria in quanto fornisce un gruppo amminico che esplica la funzione di mantenere in soluzione le lignine, che in sua assenza precipitano indipendentemente dal pH. La glicina si è dimostrata essere l'unico amminoacido non alterato o distrutto dalla radiazione UV utilizzata durante la sterilizzazione.

Abbiamo verificato che l'acido citrico può essere sostituito da altri acidi quali l'acido malico, l'acido tartarico, l'acido fumarico, l'acido succinico, l'acido lattico e l'acido fosforico. L'acido citrico è comunque preferito. Quantità di acidi superiori a quelle provate negli esempi abbassano il pH del gel sotto l'intervallo ottimale definito sopra e non sono utilizzabili. Abbiamo anche verificato che il rapporto tra acidi e glicina può variare come indicato nei rapporti ponderali della Tabella 1 ma non oltre.

Sulla scorta di questa esperienza, abbiamo provato la composizione di stabilizzazione della Tabella 1 in altri processi ai quali stiamo lavorando ed abbiamo ottenuto gli stessi risultati ottenuti con il gel di aloe. Pertanto vorremmo utilizzarla e commercializzarla anche per queste altre applicazioni.

Il gel purificato, sterilizzato e stabilizzato come descritto sopra è stato oggetto di studi in vivo condotti su cavie per testarne eventuali proprietà terapeutiche. Gli studi hanno evidenziato un effetto ipoglicemizzante, predittivo della capacità di migliorare il profilo glucidico di soggetti diabetici. Riteniamo pertanto che ulteriori studi clinici potranno portare all'approvazione del gel d'aloe da noi ottenuto come medicinale da assumere per via orale nel trattamento del diabete mellito di tipo 2 nell'uomo. Questo effetto del gel ottenuto da aloe non era noto in letteratura.

Arte nota

Dalla domanda di brevetto europeo D1 era noto trattare il gel dell'aloe, separato dalle altre parti della foglia, con carbone attivo ma questo trattamento non portava ad ottenere un gel esente da precipitati e stabile nel tempo.

Sulla base delle nostre conoscenze e delle formulazioni disponibili in commercio risultano note composizioni contenenti acido citrico.

Si richiede al candidato di redigere una serie di rivendicazioni idonee a tutelare nel modo più efficace il trovato sopra descritto.

