



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2010 01195**

(22) Data de depozit: **25.11.2010**

(41) Data publicării cererii:  
**30.08.2012** BOPI nr. **8/2012**

(71) Solicitant:

- UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "IULIU HAȚIEGANU" DIN CLUJ-NAPOCA, STR. EMIL ISAC NR.13, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- INSTITUTUL ONCOLOGIC " PROF. DR. ION CHIRICUȚĂ" DIN CLUJ- NAPOCA, STR. REPUBLICII NR.34-36, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(72) Inventatori:

- POSTESCU ION DAN, ALEEA BĂIȚA NR. 2, SC. 3, ET. 4, AP. 34, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- FILIP GABRIELA ADRIANA, STR. BÎRSEI NR.1, SC.2, BL. K, ET. 3, AP. 17, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- ACHIM MARCELA ANA, CALEA MÂNĂȘTUR NR. 93, AP.46, CLUJ- NAPOCA, CJ, RO;
- MUREȘAN ADRIANA VIORICA, STR. TITU MAIORESCU NR.7, AP.2, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- TATOMIR CORINA, STR. GENERAL EREMIJA GRIGORESCU NR.34, BL.III, SC. A, ET. 2, AP. 7, CLUJ- NAPOCA, CJ, RO;
- CHERECHEȘ GABRIELA, STR. CIREȘILOR NR. 80, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;

- DAICOVICIU DOINA GABRIELA, ALEEA MUSCEL NR. 10, AP. 4, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- PERDE SCHREPLER MARIA, STR. RENE DESCARTES NR.14, CLUJ- NAPOCA, CJ, RO;
- SUCIU ȘOIMIȚA MIHAELA, STR. MESTECENILOR NR.1, AP. 13, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- VIRAG PIROSKA, STR. TATRA NR.12, SC. 1, BL. V. S, AP. 10, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- CLICHICI SIMONA VALERIA, STR.GH.DIMA NR.27, BL.4C, SC.1, AP.3, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- FISCHER FODOR EVA, STR. CÂMPULUI NR.139B, AP.2, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- ȘORITĂU OLGA, STR. SOMEȘUL RECE NR.1233C, GILĂU, CJ, RO;
- MOLDOVAN REMUS, STR. GRIGORE ALEXANDRESCU NR. 22, AP. 37, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- BRIE IOANA, STR. PADIS NR. 3, SC.1, ET. 2, AP. 7, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- BĂRBOS OTILIA, STR. GALAXIEI NR. 15, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- DICU TIBERIU, STR. PLOPILOR NR.79, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(74) Mandatar:

**CABINET DE PROPRIETATE INDUSTRIALĂ CIUPAN CORNEL,**  
STR. MESTECENILOR NR. 6, BL. 9E, AP. 2,  
CLUJ NAPOCA, JUDEȚUL CLUJ

(54) **CREMĂ FOTOCHEMOPROTECTOARE ȘI PROCEDEU DE OBTINERE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o cremă destinată protecției împotriva radiațiilor ultraviolete și la un procedeu de obținere a acesteia. Conform invenției, crema este constituită din 2...12 părți extract fluid din sămburi de struguri, 0,5...10 părți acid stearic, 10...25 părți ulei de parafină, 0,5...5 părți alcool cetilic, 0,4...4 părți polisorbit 80, 0,25...3 părți trietanolamină, 1...10 părți glicerină, 0,03...0,1 părți *p*-hidroxibenzoat de metil, 0,01...0,05 părți *p*-hidroxibenzoat de propil, 0,3...5 părți alcool etilic și apă până la 100 părți, părțile fiind exprimate în unități de masă. Procedeu conform invenției constă în

obținerea unei emulsii, în una sau două etape, din acid stearic, alcool cetilic, ulei de parafină, polisorbit 80, trietanolamină, glicerină și apă, prin încălzire, pe baie de apă, la 70...75°C, sub agitare energetică, după răcire, la emulsia rezultată se adaugă soluția etanolică a esterilor metilic și propilic ai acidului *p*-hidroxibenzoic, și extractul fluid din sămburi de struguri, sub agitare continuă, pentru omogenizare, până la răcire la 25°C.

Revendicări: 4

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



35

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI
Cerere de brevet de invenție
Nr. a 2010 01195
Data depozit 25-11-2010

## CREMA FOTOCHEMOPROTECTOARE ȘI PROCEDEU DE OBTINERE

Invenția se referă la o compoziție pentru o cremă, emulsie de tip ulei în apă, cu proprietăți de fotochemoprotecție, destinată aplicării topice pentru uz cosmetic în vederea protejării pielii față de efectele nocive ale radiațiilor ultraviolete și la două procedee de obținere ale acesteia.

Invenția se referă la un produs farmaceutic sub formă de cremă cu proprietăți chemoprotectoare pentru piele uscată și normală, utilizat pentru prevenția cancerelor epiteliale fotoinduse. Invenția de față combină un extract natural, obținut din semințe de struguri (cel mai cunoscut antioxidant) varietatea Burgund Mare, și ingrediente simpli și ieftini care asigură o bună pătrundere a extractului în piele (alcool cetilic, parafină lichidă, lauril sulfat de sodiu, nipagin, nipasol). Compoziția farmaceutică a produsului prezentat în invenția de față își menține stabilitatea fizică și chimică o perioadă lungă de timp.

Efectele cremei fotoprotectoare din invenția de față, la nivelul pielii, sunt multiple: reduce efectul radicalilor liberi generați de expunerea la radiații ultraviolete asupra componentelor din piele (acizi nucleici, lipide, proteine), inhibă apariția de mutații în celulele normale și îmbunătățește repararea ADN-ului [1], reface structura secundară a proteinelor modificate de stresul oxidativ [2], are efect antiinflamator, antiproliferativ și asigură protecția celulelor normale împotriva apoptozei declanșate de expunerea la radiații ultraviolete [3]. În plus, elimină uscăciunea pielii, reduce formarea și profunzimea ridurilor și îmbunătățește textura pielii.

Carcinoamele cutanate reprezintă aproximativ 30% dintre cazurile noi de cancer diagnosticate, cu o incidență în continuă creștere, în etiologia cărora radiațiile ultraviolete, în special cele de tip B, sânt incriminate în proporție de 90% [4]. Deși beneficiază de multiple posibilități terapeutice, în ultimii ani există un interes crescând în ceea ce privește descoperirea de metode noi, mai bune, de prevenție. Și aceasta deoarece metodele curente de prevenție sunt limitate și nu asigură o protecție eficientă. Chemoprevenția își propune de fapt să întrerupă semnalele intracelulare ce transmit stimuli aberanți cu scopul de a împiedica constituirea procesului carcinogenetic și poate fi realizată prin administrarea sistemică sau aplicarea topică de compuși polifenolici din plante și fructe. Crema fotoprotectoare din invenția de față este un produs cu efect preventiv, bazată pe manipularea celor mai fine reacții implicate în carcinogeneza

fotoindusă și în dezechilibrul redox celular în scopul potențării proceselor reparative fiziologice ale ADN-ului și în împiedicarea apariției neoplaziilor cutanate.

O sursă potențială de compuși polifenolici sunt strugurii (în special cei roșii). În studiile noastre anterioare, am investigat un extract din semințe de struguri roșii (*Vitis vinifera* L.), soiul Burgund Mare (BM), obținut în soluție hidroetanolică, (1/1, v/v), la reflux. Acesta a fost selectat din 30 de produse obținute din cinci varietăți de struguri, folosind cele trei părți ale plantei (semințe, pielite și radis), atât la temperatura ambiantă (macerare) cât și la fierbere cu reflux. Acest extract a fost standardizat la 3,0 g EAG/l (echivalenți acid galic) [5]. Criteriile de selectare pentru studiul efectelor biologice au fost: conținutul în polifenoli totali (PFT), activitatea antioxidantă (AO), toxicitatea celulară *in vitro* prin teste de viabilitate celulară, efecte antioxidante și antiapoptotice *in vivo*. Extractul BM menționat mai sus a avut cel mai înalt conținut în PFT, activitate antioxidantă (AO) ridicată<sup>†</sup> [5] și citotoxicitatea cea mai scăzută la nivelul celulelor normale (fibroblaști umani, Hfl-1) [6, 7].

Sunt cunoscute preparate de uz local de tip cremă și gel pentru piele normală și uscată cu proprietăți de emolierie (RU 2384322 “Day gel cream for dry and normal skin”). Agenții activi sânt multipli și constau în extracte obținute din caise și semințe de struguri, în germeni de grâu, jojoba, aloe vera și colagen. Gelul are ca efect îmbunătățirea microcirculației la nivelul pielii, moderarea proceselor de îmbătrânire, eliminarea efectului de uscure a pielii, calmarea erupțiilor cutanate, normalizarea pH-ului pielii, reducerea ridurilor, etc. Compoziția farmaceutică, conform invenției amintite prezintă dezavantajul unei compoziții mai complexe, cu ingrediente multipli care pot alergiza, nu este indicată tenului mixt sau gras.

Un alt compus farmaceutic cunoscut cu extract de semințe de struguri este de tip gel oftalmic sau soluție oftalmică, destinat utilizării în oftalmologie (KR20100060673 “Pharmaceutical composition in forms of ophthalmic solution or gel containing vitis vinifera pip extract”). Preparatul conține extract de semințe de *Vitis Vinifera* și un antioxidant de tip acid ascorbic sau o sare a acestuia, sulfat acid de sodiu, pyrosulfat de potasiu și L-treonină. Compoziția farmaceutică, conform prezenței invenției, este destinată aplicării topice la nivelul mucoasei oculare și are dezavantajul prezentării într-un vehicul cosmetic adaptat aplicării pe

---

<sup>†</sup> măsuratori UV și RES, au indicat ca activitatea antioxidantă a extractelor este corelată proporțional cu conținutul lor în polifenoli totali [2].

suprafețe mucoase și nerecomandat aplicării pe suprafețe mari, expuse la soare (față, decolteu, dosul mâinilor, etc.).

Se cunosc capsule cu efect antioxidant (WO 0211744 (A1), cu efect imunomodulator și de întârziere a procesului de îmbătrânire. Capsulele conțin extract din semințe de struguri, gypenoside, Ganoderma Lucidum și Vitamina C. Dezavantajul compusului este că el se administrează sistemic și are efect minor asupra pielii expusă radiațiilor solare.

De asemenea, este cunoscut un compus farmaceutic destinat aplicării topice la nivelul pielii și părului cu extract de semințe de struguri. Invenția US 2006147567, Methods of using grape seed extract to stimulate tyrosinase expression or melanin synthesis, prezintă o metodă de creștere a sintezei de melanină, de creștere a expresiei și activității tirozinazei în celulele pielii și părului în vederea asigurării unei pigmentații naturale a părului gri sau încărunit. Compoziția farmaceutică, conform prezentei invenții deși conține extract de semințe de struguri prezintă dezavantajul că este destinată aplicării la nivelul pielii păroase într-o formulă farmaceutică neadekvată aplicării în scop fotochemopreventiv pe pielea fără păr.

Problema pe care o rezolvă invenția de față este de a realiza o cremă cu efect fotochemoprotector, formulată ca emulsie de tip ulei în apă, ce se absoarbe rapid în piele după aplicare și nu lasă reziduu gras, hidratează și hrănește pielea uscată sau normală, indicată prevenirii efectelor dăunătoare ale radiațiilor ultraviolete. În plus, prin compușii polifenolici din compoziție, împiedică rupturile colagenului, întărește pereții vaselor de sânge din piele, menține o circulație cutanată adecvată hrănirii optime și reparării pielii. Se poate aplica ca și cremă cu efect fotoprotector pe pielea feței, decolteului și suprafețelor fotoexpuse ale mâinilor dar și pe buze cărora le menține delicatețea și suplețea. Este ușor de aplicat, nu pătează și calmează senzația de prurit.

În plus are avantajul că are în compoziție un singur extract natural obținut dintr-o varietate de struguri autohtonă (Burgund Mare) și ingrediente ieftine, accesibile. Procedeu de obținere al extractului este inovativ pentru că oferă un randament mai bun în polifenoli la un consum mai redus de solvent, fapt care permite o mai bună înglobare a produsului activ în formulările cosmetice.

Procedeu de obținere a extractului din semințe de struguri roșii (*Vitis vinifera* L.) varietatea Burgund Mare: 1 parte în greutate semințe uscate și măcinate sub formă de pulbere fină, s-au reluat cu 10 părți în volum soluție etanol - apă, 60 % (v/v) și amestecul s-a refluxat pe

baie de apă, timp de 30 minute. După răcire (la temperatura camerei) și îndepărtarea prin filtrare a fracțiunii solide, filtratul a fost analizat pentru evaluarea conținutului în polifenoli totali (PFT) (în vederea standardizării), proantocianidine, antiociani, și a activității antioxidante (AO). Randamentul la extracție, în polifenoli totali a fost cuprins între 9,2 și 9.8gEAG/l. Faza lichida s-a evaporat la sec, cu un evaporator rotativ, la presiune redusă. Randamentul final la extracție a fost de  $11,2 \pm 0,19\%$  dintre care polifenolii reprezintă  $66,77 \pm 5,6\%$ . După standardizare:

- conținutul în polifenoli totali (metoda Folin-Ciocalteu) [8] a fost de: 9g EAG/l
- conținutul în proantocianidine (metoda Le Breton, substanța de referință leucocianidina) [9]:  $2,49 \pm 0,75 \text{g/l}$
- conținutul în antociani (metoda pH-ului diferențiat): [10]  $4,85 \pm 0,19 \text{mg/l}$
- activitatea antioxidantă: metoda cu 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonat (ABTS) [11]: 52.89 eq. mM Trolox.

Crema fotochemoprotectoare, conform invenției, conține extract fluid de sămburi de struguri, o cantitate cuprinsă între 2 – 12 părți, acid stearic, o cantitate cuprinsă între 0.5 – 10 părți, ulei de parafină, o cantitate cuprinsă între 10 – 25 părți, alcool cetilic, o cantitate cuprinsă între 0.5 – 5 părți, polisorbit 80, o cantitate cuprinsă între 0.4 – 4 părți, trietanolamină, o cantitate cuprinsă între 0.25 – 3 părți, glicerina, o cantitate cuprinsă între 1 – 10 părți, p-hidroxibenzoat de metil, o cantitate cuprinsă între 0.03 – 0.1 părți, p-hidroxibenzoat de propil, o cantitate cuprinsă între 0.01 – 0.05 părți, alcool etilic, o cantitate cuprinsă între 0.5 – 3 părți și apă până la 100 de părți, părțile fiind exprimate în unități de masă.

Crema fotochemoprotectoare este un sistem dispers eterogen bifazic ce conține o fază lipofilă (acid stearic, alcool cetilic, ulei de parafină) și o fază hidrofilă (esterii metilic și propilic ai acidului p-hidroxibenzoic, glicerina, apă, extractul fluid hidro-alcoolic). În sistemul emulsie de tip ulei în apă, stabilitatea este asigurată de către polisorbitul 80 și stearatul de trietanolamină care se formează în timpul preparării. Esterii acidului p-hidroxibenzoic au acțiune bacteriostatică, de stopare a dezvoltării microorganismelor, având rolul de conservanți antimicrobieni.

Procedeele de obținere a emulsiei, conform invenției, constau în următoarele faze:

Metoda 1.

- a) Acidul stearic, alcoolul cetilic și uleiul de parafină se încălzesc pe baia de apă la o temperatură de  $70-75^\circ\text{C}$ .
- b) Polisorbitul 80, trietanolamina, glicerina, apa se încălzesc pe baia de apă la  $70-75^\circ\text{C}$ .

- c) Peste amestecul de la punctul b) se adaugă treptat și sub agitare energetică faza lipidică de la punctul a), rezultând emulsia ulei în apă.
- d) Esterii acidului p-hidroxibenzoic se dizolvă în alcool etilic, iar soluția rezultată se adaugă extractului fluid de sămburi de struguri.
- e) Soluția obținută la punctul d) se adaugă, sub agitare continuă, peste emulsia de la punctul c) și totul se omogenizează până la răcire la 25°C.
- f) Se completează la 100 de părți cu apă distilată și se omogenizează.

#### Metoda 2.

- a) Acidul stearic, alcoolul cetilic, uleiul de parafină, polisorbitolul 80, trietanolamina, glicerina și apa se încălzesc pe baia de apă la 70-75°C și se mențin pe baie, sub agitare, până la obținerea unei emulsii omogene.
- b) Peste emulsia răcită la 40°C se adaugă soluția în etanol a esterilor acidului p-hidroxibenzoic și extractul fluid de sămburi de struguri.
- c) Se omogenizează continuu până la răcire la 25°C.
- d) Se completează la 100 de părți cu apă distilată și se omogenizează

Prin aplicarea invenției rezultă următoarele avantaje:

- crema fotochemoprotectoare asigură protecția pielii față de acțiunea dăunătoare a radiațiilor ultraviolete deoarece reduce efectul radicalilor liberi asupra componentelor din piele, îmbunătățește repararea ADN-ului, reface structura secundară a proteinelor modificate oxidativ, are efect antiinflamator și antiproliferativ;
- menține integritatea barierei cutanate prin două mecanisme. În primul rând filmul lipidic de la suprafața pielii împiedică evaporarea apei care trece în corneocite și reduce fisurile și în al doilea rând emolienții din structura cremei penetrează în stratul cornos și înlocuiesc lipidele deficitare. Prin menținerea integrității barierei cutanate practic se menține hidratarea pielii, dispare rugozitatea și formarea scuamelor și se reduce pruritul cutanat;
- crema este stabilă și prezintă proprietăți cosmetice foarte bune, conține conservanți cu efect bacteriostatic ce împiedică dezvoltarea microorganismelor;

- este o formulă simplă cu un singur ingredient activ care reduce la minim posibilitatea alergizării de contact.

Se prezintă, în continuare, un exemplu de realizare a acestei creme. Pentru obținerea unei cantități de 100 de grame, conform invenției, se asociază următoarele ingrediente: 2 – 12 g extract fluid de sâmburi de struguri, 0,5 – 10 g acid stearic, 10 – 25 g ulei de parafina, 0,5 – 5 g alcool cetilic, 0,4 – 4 g polisorbat 80, 0,25 – 3 g trietanolamina, 1 – 10 g glicerina, 0,03 – 0,1 g p-hidroxibenzoat de metil, 0,01 – 0,05 g p-hidroxibenzoat de propil, 0,5 – 3 g alcool etilic, la care se adaugă apă până la 100 g.

Procedul de obținere a unei cantități de 100 g cremă fotochemoprotectoare, conform invenției, constă în următoarele faze:

#### Varianta 1.

- a) Acidul stearic, alcoolul cetilic și uleiul de parafină se încălzesc pe baia de apă la o temperatură de 70-75°C.
- b) Polisorbatul 80, trietanolamina, glicerina, apa se încălzesc pe baia de apă la 70-75°C.
- c) Peste amestecul de la punctul b) se adaugă treptat și sub agitare energetică faza lipidică de la punctul a), rezultând emulsia ulei în apă.
- d) Esterii acidului p-hidroxibenzoic se dizolvă în alcool etilic, iar soluția rezultată se adaugă peste extractul fluid de sâmburi de struguri.
- e) Soluția obținută la punctul d) se adaugă, sub agitare continuă, peste emulsia de la punctul c) și se omogenizează până la răcire la 25°C.
- f) Se completează la 100 g cu apa distilată și se omogenizează.

#### Varianta 2.

- a) Acidul stearic, alcoolul cetilic, uleiul de parafină, polisorbatul 80, trietanolamina, glicerina și apa se încălzesc pe baia de apă la 70-75°C și se mențin pe baie, sub agitare, până la obținerea unei emulsii omogene.
- b) Peste emulsia răcită la 40°C se adaugă soluția în etanol a esterilor acidului p-hidroxibenzoic și extractul fluid de sâmburi de struguri.
- c) Se omogenizează continuu până la răcire la 25°C.
- d) Se completează la 100 g cu apa distilată și se omogenizează.

S-au efectuat cercetări experimentale privind toleranța cremei prin testări cutanate (patch-teste) pe voluntari care au demonstrat că preparatul este bine tolerat, nu determină reacții alergice locale sau la distanță.

Tratamentul cu cremă fotochemoprotectoare se aplică pe zonele de piele expuse la soare înainte cu 30 minute de expunere. Se reaplică în funcție de durata și intensitatea expunerii la radiații ultraviolete. Administrarea se poate face timp îndelungat fără a se înregistra fenomene secundare sau de intoleranță.

În urma cercetărilor efectuate s-au constatat următoarele avantaje:

- procedeul de obținere a extractului este simplu, rapid, puțin costisitor și nu comportă operațiuni suplimentare de purificare și de îmbogățire
- crema fotoprotectoare asigură o protecție eficientă prin mecanisme multiple împotriva efectelor nedorite ale radiațiilor ultraviolete și în primul rând împotriva efectelor carcinogenetice ale acestora
- asigură o pătrundere eficientă și rapidă a substanței active în piele
- menține o hidratare eficientă și optimă a pielii
- datorită consistenței se aplică foarte ușor, are capacitate bună de întindere, nu pătează și nu lasă reziduu gras pe piele
- calmează senzațiile neplăcute de prurit
- tratamentul a fost bine tolerat, nu a produs uscăciune sau alergizare cutanată
- menține o textură bună a pielii diminuând formarea ridurilor

#### **Bibliografie**

1. T. Dicu, ID Postescu, V Foriș, I Brie, Eva Fischer-Fodor, M. Moldovan, C. Cosma. The effect of a grape seed extract on radiation-induced DNA damage in human lymphocytes, Amer. Inst. Phys. Conf. Proceed 2009, 1131: 181-187.
2. L. Sabau, G. Damian, D. Daicoviciu, A. Muresan, I.D.Postescu, D. Mișu, C. Mișu. In vivo study regarding antioxidant effect of a grape polyphenol extract using biochemical and FTIR methods, J. Optoelect. Adv. Mater. (symp), 2010, 2(1): 44-49.
3. Filip A, Daicoviciu D, Clichici S, Mocan T, Muresan A, Postescu ID. Photoprotective effects of two natural products on UVB-induced oxidative stress and apoptosis in SKH-1 mice skin, J of Med Food (in press).



4. Yusuf N, Irby C, Katiyar KS., et al: Photoprotective effects of green tea polyphenols. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2007, 23: 48-56.
5. I.D. Postescu, C. Tatomir, G. Chereches, I. Brie, G. Damian, D. Petrisor, AM. Hosu, N Pop. Spectroscopic characterisation of grape extracts with potential role in tumor growth inhibition, *J. Optoelect. Adv. Mater.* 2007, 9: 564-567.
6. O. Soritau, I.D. Postescu, I. Brie, P. Virag, M. Perde-Schleper, C. Tatomir, M. Paul. Efecte citoprotectoare ale extractului de *Vitis vinifera* (BMR) in toxicitatea in vitro indusa cu doxorubicina, peroxid de hidrogen și iradiere. *Radiother. Oncol. Med*, 2007, XIII (1): 75-80.
7. S. Suci, I.D. Postescu, A. Muresan, P. Virag, D. Daicoviciu, E. Fischer-Fodor. In vitro and in vivo studies on the modulatory effects of a grape (*Vitis vinifera*) seed extract in normal and tumor cells. *J Clin Biochem Nutr* 2008, 43 (Suppl.1): 493-496.
8. L.V. Singleton, L. Orthofer, RM. Lamuela-Raventos. Analysis of total polyphenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent; In *Methods in enzymology, oxidants and antioxidants*, part A, Lester Packer (ed) 299, 1999, Academic Press, San Diego. pp 152-178.
9. P. Lebreton, M. Jay, B. Voirin. Sur l'analyse qualitative et quantitative de flavonoides, *Chim. Anal. Fr.* 1967, 49: 375-383.
10. GMM Giusti, RE Wrolstad. Antocyanins .Characterisation and measurement with UV-visible spectroscopy. In: *Current protocols in food analytical chemistry*, RE Wrolstad ed., J.Wiley, New York, 2001, F1.2.1-F1.2.13.
11. Re R, Pellegrini N, Protegente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med* 1999; 26: 1231-1237.

## REVENDICARI

1. Cremă fotochemoprotectoare emulsie de tip ulei în apă destinată aplicării topice în vederea protejării pielii față de efectele nocive ale radiațiilor ultraviolete, **caracterizată prin aceea că** pentru o absorbție rapidă în piele după aplicare, fără a lăsa reziduu gras, și pentru a menține o stare optimă de hidratare a pielii normale sau uscate are următorul conținut: extract fluid de sămburi de struguri, o cantitate cuprinsă între 2 – 12 părți, acid stearic, o cantitate cuprinsă între 0.5 – 10 părți, ulei de parafină, o cantitate cuprinsă între 10 – 25 părți, alcool cetilic, o cantitate cuprinsă între 0.5 – 5 părți, polisorbit 80, o cantitate cuprinsă între 0.4 – 4 părți, trietanolamina, o cantitate cuprinsă între 0.25 – 3 părți, glicerina, o cantitate cuprinsă între 1 – 10 părți, p-hidroxibenzoat de metil, o cantitate cuprinsă între 0.03 – 0.1 părți, p-hidroxibenzoat de propil, o cantitate cuprinsă între 0.01 – 0.05 părți, alcool etilic, o cantitate cuprinsă între 0.5 – 3 părți și apă pînă la 100 de părți, părțile fiind exprimate în unități de masă.
2. Procedeu de obținere a cremei fotochemoprotectoare conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** faza lipidică a emulsiei, compusă din acidul stearic, alcoolul cetilic și uleiul de parafină se încălzesc pe baia de apă la o temperatură de 70-75°C, apoi aceasta se adaugă treptat și sub agitare energetică peste amestecul polisorbit 80, trietanolamina, glicerina, apa, încălzită la 70-75°C. Separat esterii metilic și propilic ai acidului p-hidroxibenzoic, dizolvați în alcool etilic, se adaugă extractului fluid, se completează la 100 de părți cu apa distilată iar soluția obținută se adaugă treptat, sub agitare continuă, celorlalte componente și totul se omogenizează până la răcire la 25°C.
3. Procedeu de obținere a cremei fotochemoprotectoare conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** acidul stearic, alcoolul cetilic, uleiul de parafină, polisorbitul 80, trietanolamina, glicerina și apa se încălzesc pe baia de apă la 70-75°C și se mențin pe baie până la obținerea unei emulsii omogene, peste care după răcire la 40°C se adaugă soluția în etanol a esterilor acidului p-hidroxibenzoic și extractul fluid, se omogenizează continuu până la răcire la 25°C și se completează la 100 de părți cu apă distilată.

4. Procedeu de obținere a cremeii fotochemoprotectoare conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că**, extractul lichid de semințe de struguri roșii (*Vitis vinifera* L.) varietatea Burgund Mare rezultă prin următorul procedeu: 1 parte în greutate semințe uscate și măcinate sub formă de pulbere fină, s-au reluat cu 10 părți în volum soluție etanol - apă, 60 % (v/v) și amestecul s-a refluxat pe baie de apă timp de 30 minute, iar după răcire (la temperatura camerei), și îndepărtarea prin filtrare a fracțiunii solide extractul prezintă următoarele valori standardizate:
- conținutul în PFT (metoda Folin-Ciocalteu): 9g EAG/l
  - continutul în proantocianidine (metoda Le Breton, substanța de referință leucocianidina): 2.49g±0.75g/l
  - conținutul în antociani (metoda pH-ului diferențiat): 4.85±0.19 mg/l
  - activitatea antioxidantă: metoda cu 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonat (ABTS): 52.89 eq. mM Trolox