



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2014 00767**

(22) Data de depozit: **15/10/2014**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/12/2020** BOPI nr. **12/2020**

(41) Data publicării cererii:
29/04/2016 BOPI nr. **4/2016**

(73) Titular:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
CHIMIE ȘI PETROCHIMIE - ICECHIM,
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.202,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **ION RODICA MARIANA, STR. VOILA
NR. 3, BL. 59, SC.3, ET.1, AP. 36,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;**

• **NUȚĂ ALEXANDRINA, ALEEA PLEȘEȘTI
NR.3, BL.Z 12, SC.3, AP.32, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **SORESCU ANA ALEXANDRA,
STR. DR. OBEDENARU NR. 25, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **BUNGHEZ RALUCA IOANA,
CARTIERUL CHIOSEȘTI NR. 268,
COMARNIC, PH, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
WO 2005067880 A1

(54) **GEL DE PROTECȚIE SOLARĂ A PIELII ȘI PROCEDEU
DE OBȚINERE ȘI UTILIZARE A ACESTUIA**



RO 131024 B1

1 Prezenta invenție se referă la obținerea unui gel de protecție solară pe baza unor noi
2 compuși antioxidanți cu structuri de tipul 5,6-benzocumarine-3-substituite. Gelul obținut se
3 folosește pentru protecția pielii împotriva proceselor de deteriorare celulară induse de radicalii
4 liberi generați în urma expunerii la soare, precum și pentru regenerarea pielii prin efect
5 fotodinamic al unor afecțiuni ale pielii (răni supurante, arsuri etc).

6 Sunt cunoscute diverse produse cosmetice pentru protecție solară sub formă de creme,
7 emulsii, loțiuni care au în compoziția lor o mare varietate de ingrediente sintetice (compuși
8 chimici) cu rol de filtre ale radiațiilor UV, care fie ecranează radiațiile UV fie absorb aceste
9 radiații din domeniul UVA (320-400 nm) sau UVB (280-320 nm]. De exemplu, oxidul de zinc sau
10 oxidul de titan pot forma o barieră fizică ce reflectă sau împrăștie toată lumina solară, în timp
11 ce compuși organici precum acidul *p*-aminobenzoic (PABA), metil-2-aminobenzoat etc, absorb
12 lumina UV și sunt așa-numite bariere chimice. Cele mai populare și mai frecvente creme solare
13 aflate în uz au în compoziție cinați sintetici, cum ar fi cinoxatul (2-etoxietil *p*-metoxi cinamat),
14 cinamat octilmetoxi sau MDC (2-etilhexil *p*-metoxi cinamat), octocriolen (2-etilhexil-2-ciano-3,3-
15 difenil acrilat) și 3 dietanolamino-*p*-metoxi cinamat. Printre acestea, 2-etilhexil-*p*-metoxi cinamat
16 absoarbe atât radiația UV-A cât și UV-B. Un număr mare de esteri cinamil prezenți pe piață, au
17 fost izolați din surse naturale în cantități de ordinul miligramelor. Însă acestea asigură prea
18 puțină sau deloc protecție solară, deoarece ele nu conțin bariere chimice (cinați etc.) la
19 radiațiile UV. De fapt ele conțin unii antioxidanți naturali, cum ar fi vitaminele C și E, dar care
20 nu oferă protecția necesară.

21 Cumarinele sunt distribuite pe scară largă în regnul vegetal mai ales *Umbelliferae*,
22 *Rutaceae* și *Leguminosae*. Ele formează un grup important de compuși cu rol important în acti-
23 vitățile vitale ale organismelor vii. De la izolarea cumarinei simple, structural cunoscută ca 2H1-
24 benzopiran-2-onă de către Vogel în 1820, mai mulți alți derivați cumarinici cu substituenți la unul
25 sau mai multe dintre cele șase poziții disponibile de la C-3 la C-8 au fost izolate și clasificate
26 ca derivați hidroxilați, alchilați, prenilați, furano-cumarine, piranocumarine, isocotunarine, bis-
27 coumarine, coumarino-lignoide, coumarino-glicozide etc. Dintre acestea, cumarinele 3-substituite
28 și 4-substituite naturale mai ales cele cu substituent alchil sau aril, sunt rare și sunt de obicei
29 dovedite a fi comune componentelor plantelor aparținând familiei Leguminosae.

30 Cumarinele și derivații lor sunt utilizate ca aditivi în alimente, parfumuri, cosmetice,
31 produse farmaceutice și agrochimice [Egan, D.; Kennedy, R.O.; Moran, E.; Cox, D.; Prosser,
32 E.; Thornes, R.D. **The pharmacology, metabolism, analysis, and applications of coumarin
33 and coumarin-related compounds. Drug Metab. Rev. 1990, 22, 503-529**], datorită
34 proprietăților lor spasmolitice, antivirale și anticanceroase. Compușii cumarinici sunt încorporați
35 în numeroase medicamente utilizate ca și anticoagulante, hipertensive, antiaritmice și
36 imunomodulante [Abyshv, A.Z.; Gindin, V.A.; Semenov, E.V.; Agaev, E.M.; Abdulla-zade,
37 A.A.; Guseinov, A.B. **Structure and biological properties of 2H-1-benzopyran-2-one
38 (coumarin) derivatives. Pharm.Chem. J. 2006, 40, 607-610**].

39 Până în prezent, în literatură există puține date despre derivații coumarinici-3-carboxilați
40 cu activitate anticanceroasă [I. Kempen, M. Hemmer, S. Counerotte, L. Pochet, P. de Tullio J.
41 Foidart, S. Blacher, A. Noel, F. Frankenne, B. Pirotte, **Eur. J. Med. Chem., 2008, 43, 2735**].
42 Unele cumarine 3- și 4-substituite sunt cunoscute și pentru capacitatea lor anticoagulantă, anti-
43 tumorală, pentru proprietățile lor antibiotice, precum și pentru hepatotoxicitatea lor. Cumarinele
44 3-aril substituite având substituenți la ciclul 3-fenil, în particular, 3 - [2'-hidroxifenil] cumarinele,
45 își găsesc utilizare ca materii prime pentru sinteza colunestan-ului, o clasă de compuși naturali
46 cu proprietăți estrogenice. O abordare simplă este cea a esterilor acidului malonic și utilizarea
47 lor în sinteza naturală ca esteri cinamil utilizați ca agenți de protecție solară puternici.

RO 131024 B1

În brevetul **EP 2731679 A1 (WO 2013009733 A1)**, sunt prezentate soluții de protecție solară cu antioxidanți cu capacitate mare de protecție a pielii, precum și formulările antioxidante care protejează pielea de radiațiile UV. Formularea antioxidantă poate include opțional hidrochinonă, resveratrol, acid uric și/sau atorvastatină. Dezavantaj compușii chimici de tip hidrochinonă pot genera efecte adverse, inclusiv efecte toxice asupra organismului uman.

Brevetul **WO 2014/100348 A1**, prezintă o compoziție protectoare la soare, ce conține cel puțin un filtru UV [din clasa butil metoxidibenzoilmetan], un intensificator [microsfere din clasa copolimerilor stiren/acrilat, borosilicat de calciu și aluminiu etc), un polimer termosensibil (din clasa polietilenglicolilor singuri sau copolimerizați cu polipropileniglicoli] și un agent de umectare (copolioli cu dimeticonă). Însă această compoziție este destul de complicată, iar efectele acesteia nu sunt satisfăcătoare aplicațiilor pentru care este concepută.

Brevetul **US 3712947**, tratează compoziții sub formă de uleiuri ce conțin eteri cumarinici pentru protecție solară, 7-substituite, stabile, fără miros, fără iritații ale pielii, fără sensibilizarea pielii la lumina solară, compatibile. Acest brevet are dezavantajul că substituția la pozițiile 6 sau 7 ale ciclului benzopironă induce capabilitate fotoalergenă, în timp ce hidrogenarea anulează activitatea protectoare [Kaidbey; Kligman, Arch Dermatol. 1981;117(5): 258-263].

Brevetul indian, **227724**, intitulat „**Proces pentru prepararea hidroxi-metil cumarinelor**”, prezintă prepararea hidroxil metil cumarinelor în utilizarea sărurilor polianiline ca și catalizatori în prepararea cumarinelor substituite. Însă nu este prezentată acțiunea protectoare a acesteia la nivelul pielii.

Brevetul UK, **GB 2251552 A**, cu titlul „**Compoziție de îngrijire a pielii conținând cumarina sau un derivat al acesteia**”, prezintă o cremă sau loțiune conținând un compus cumarinic, o substanță naturală conținând cumarina, un derivat cumarinic și un derivat natural ce conține cumarina. Compozițiile preferate conțin până la 5% în greutate având în compoziție ester cumarinic format din tocoferol și/sau alcool amilic chiral. Dezavantajul acestei compoziții constă în prezența alcoolului amilic, cu potențial alergen.

Din motivele expuse anterior, se impune descoperirea și aplicarea unor creme cu ingrediente noi și eficiente care să ofere protecția de care este nevoie la expunerea la soare și, în unele cazuri, să ofere tratamentul de care este nevoie la apariția unor afecțiuni dermatologice tratabile prin terapia fotodinamică solară. Produsele de protecție solară folosesc o combinație de antioxidanți, care sunt, în general, selectate la întâmplare, fără a lua în considerare factorii fizico-chimici, care ajută la prevenirea deteriorării citotoxice.

Spre deosebire de brevetele prezentate mai sus, prezenta invenție tratează obținerea unui gel pentru protecție solară a pielii pe baza unor noi compuși antioxidanți cu structuri de tipul 5,6-benzocumarine-3-substituite, cu o foarte bună activitate antioxidantă, o activitate fotodinamică și un randament cuantic mare de generare a oxigenului singlet.

Prezenta invenție se referă la noi antioxidanți eficienți pentru protecția straturilor exterioare ale pielii împotriva radiațiilor UV, include utilizarea derivaților 5,6-benzocumarine-3-substituite, pentru protecția straturilor epidermei și pentru a ajuta la minimizarea daunelor cauzate de descompunerea la lumină a materialelor exogene ce penetrează suprafața pielii în timp ce se aplică pentru scopuri cosmetice sau farmaceutice. Se evaluează capacitatea acestora de a proteja pielea și de a acționa fotodinamic ca un medicament capabil să trateze și să vindece eventualele răni sau afecțiuni dermatologice.

Surprinzător, noi am observat că acești compuși 5,6-benzocumarinici-3-substituiți pot fi utilizați la prepararea unui agent fotosensibilizator cu efecte fotodinamice în combinație cu iradierea cu radiație solară.

RO 131024 B1

1 Se definește ca agent fotosensibilizator un compus chimic cu structură chimică bine
stabilită, unitară, care sub influența radiațiilor luminoase (provenite de la lasere sau lămpi are
3 capacitatea de a transforma oxigenul prezent în mediul de reacție în specii foarte reactive:
oxigen singlet, anion superoxid, radicali liberi etc.

5 Parametrii cei mai importanți ai fotosensibilizatorilor sunt:

7 - randamentul cuantic de generare al oxigenului singlet [$\phi(^1O_2)$], care semnifică numărul
de moli de specii active (în cazul nostru - oxigen singlet) generate în unitatea de timp;

9 - activitatea fotodinamică (PA), definită ca parametru de supraviețuire a celulelor tratate
în unitatea de timp și funcție de iradianța sursei de lumină.

11 Problema tehnică pe care o rezolvă prezenta invenție constă în obținerea unui gel de
protecție solară pe baza unor noi compuși antioxidanți cu structuri de tipul 5,6-benzocumarine-
3-substituite, pentru protecția pielii împotriva proceselor de deteriorare celulară induse de
13 radicalii liberi generați în urma expunerii la soare, precum și pentru vindecarea prin efect
fotodinamic a unor afecțiuni ale pielii (răni supurante, arsuri etc), prin expunere la radiația solară
15 timp de 15-20 min. Sunt evaluate activitatea antioxidantă, randamentul cuantic de generare
al oxigenului singlet și acțiunea fotodinamică a derivaților 5,6-benzocumarinici-3-substituiți.

17 Avantajele pe care le oferă invenția constau în aceea că acești derivați 5,6-benzo-
cumarinici-3-substituiți pot fi utilizați pe de o parte, la prepararea unui agent fotosensibilizator
19 cu acțiune fotodinamică în combinație cu iradierea cu radiație solară și la protecția pielii de
radicali liberi prezenți, datorită capacității antioxidante a acestora. De asemenea, agentul
21 fotosensibilizator conform invenției prezintă o serie de avantaje cum ar fi accesibilitatea, lipsa
de toxicitate și compatibilitatea biologică, precum și activitatea fotodinamică ridicată, conform
23 tabelului 1.

25 Conform acestei invenții, derivații 5,6-benzocumarinici-3-substituiți în soluție de alcool
etilic sunt stabili termic, fără vreo modificare a aspectului, culorii, sau clarității acesteia, și se
27 testează și se utilizează în concentrație $1-10 \times 10^{-3}$ M, prin încorporare sub formă de gel, așa
cum este prezentat în continuare.

29 Acțiunea antioxidantă a acestor derivați cumarinici, pe de o parte reduce numărul de
specii reactive ale oxigenului, iar pe de altă parte oxigenul singlet generat permite vindecarea
zonelor afectate dermatologic. Prin iradierea unei zone potențial patologice, sub acțiunea
31 radiației luminoase, derivații 5,6-benzocumarinici-3-substituiți participă la transformarea
oxigenului prezent în mediul biologic în specii reactive precum oxigenul singlet, care produc
33 ulterior ocluzia secundară a vaselor nutritive și infarctizarea (necroza tumorală) sau distrugerea
țesuturilor afectate dermatologic.

35 Pentru determinarea ratei de generare a oxigenului singlet s-a utilizat metoda de
fotooxidare a 1,3 difenilzobenzofuran (DPBF), în care s-a cuantificat rata de scădere a
37 concentrației DPBF în soluție după iradiere cu radiația cu lungime de undă specifică - 420 nm
și prin monitorizarea spectrului de absorbție.

39 Datele obținute privind generarea de oxigen singlet sunt prezentate în tabelul 1 pentru
derivații 5,6-benzocumarinici-3-substituiți și comparativ, pentru alți fotosensibilizatori.

RO 131024 B1

Datele privind generarea de oxigen singlet pentru derivați
5,6-benzocumarinici-3-substituiți și alți fotosensibilizatori

Tabelul 1

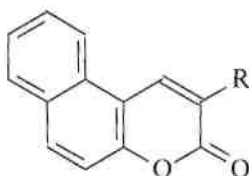
Fotosensibilizator	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$\phi(O_2)$	0,44	0,23	0,67	0,27	0,153	0,12	0,525	0,234	0,575
Activitatea antioxidantă	82,23	20,9	30,31	12,496	13,62	18,8	13,9	18,86	12,37
Activitatea fotodinamică (PA) (W.s)	14,52	20,9	30,31	12,496	13,62	18,8	13,9	18,86	12,37
Substituent (R)	COO-C ₂ H ₅	CO-NH-C ₂ H ₅	CO-NH-C ₃ H ₆ 3-OCH ₃	CO-NH-C ₄ H ₉ -izo	CO-NH-C ₆ H ₁₁	CO-NH-C ₆ H ₅	CO-N-C ₄ H ₈ O	CO-NH-C ₄ H ₉	CO-NH ₂

$\phi(^1O_2)$ = randamentul cuantic de generare al oxigenului singlet;

AA (%) = Activitatea antioxidantă;

PA (W.s) = Activitatea fotodinamică.

Structura 5,6-benzocumarinelor-3-substituie este prezentată mai jos.



Se dau în continuare câteva exemple de realizare a invenției.

Exemplul 1

Prezentul brevet de invenție se referă la o metodă și o compoziție pentru protecția pielii prin aplicarea topică a unui agent fotosensibilizator benzocumarinic 3- substituit în gel de soluție de polietilen glicol cunoscută sub denumirea de carboxax și activarea sa de către o radiație luminoasă, în acest caz, de radiație solară. Agentul fotosensibilizator este un cromofor capabil să fie activat de fotoni la lungimi de undă specifice, ce se regăsesc în spectrul său de absorbție. În ultimele decenii, a existat un interes considerabil pentru utilizarea Carbopol ca un excipient într-o gamă diversă de aplicații farmaceutice. Polimerii Carbopol sunt polimeri ai acidului acrilic reticulați cu eteri poli alchil sau divinil glicol. Ele sunt produse din particule de polimer primare de circa 0,2-6,0 micrometri diametru mediu. Aceștia sunt excelente vehicule pentru eliberare medicamente, manifestă o eliberare controlată de medicamente încapsulate cu ajutorul său, îmbunătățește biodisponibilitatea medicamentelor, sunt siguri și eficienți, nu provoacă iritare sau sensibilizare a pielii, datorită masei lor moleculare mari nu penetrează pielea și nu afectează activitatea medicamentului, au proprietăți de suspendare și emulsifiere adecvate pentru formulări topice.

Metoda de preparare a gelului a fost următoarea: Agentul fotosensibilizator selectat [5,6-benzocumarine-3-substituie] a fost dizolvat în alcool etilic realizându-se o soluție stock de concentrație 1-10 x 10⁻³ M. La 25 ml de soluție de agent fotosensibilizator, se adaugă o soluție

RO 131024 B1

1 de Carbovax în apă [5-20 mg/ml) după care s-a adăugat o soluție salină de tampon fosfat și o
2 soluție 1-5 N NaOH [picurare la 37°C timp de 30 min] până la valoarea pH-ului fiziologic [7,2-
3 7,4]. La acest amestec s-au adăugat 15-50 ml de 1,3-propilenglicol [intensificator de penetrare
4 dermică] și 1-5 grame de ZnO. S-au obținut 100 g de gel.

5 Exemplul 2

6 Determinarea activității antioxidante utilizând metoda cu DPPH (2,2-diphenil-1-picril-
7 hidrazil), s-a efectuat conform literaturii de specialitate [OM. Mosquera et. al, 2009), căreia i s-
8 au mai adus mici modificări: Dintr-o soluție de 1 mg DPPH [furnizor Sigma Aldrich] într-un balon
9 de 50 ml, și adusă la semn cu metanol, considerată ca soluție stoc, ținută la întuneric la tem-
10 peratura camerei, valabilă 1 zi, se iau în lucru 0,5 g proba + 1 mL soluție stoc DPPH, iar pentru
11 soluția blank: 0,5 g apa distilată + 1 mL soluție stoc DPPH. Probele se agită [400 rpm/30min]
12 se lasă a întuneric încă 30 min la temperatura camerei și apoi citite cu un spectrofotometru la
13 $\lambda = 517$ nm, folosind formula de calcul:

$$AA\% = [(A_{\text{blank}} - A_{\text{proba}})/A_{\text{blank}}] * 100$$

15 Exemplul 3

16 Pentru a cuantifica activitatea fotodinamică a 5,6-benzocumarinelor-3-substituite, am
17 folosit metoda cu acid uric [Neri, 2002), 10 ml din fiecare fotosensibilizator [$c = 5-10 \times 10^{-3}M$],
18 au fost apoi iradiate cu radiație cu lungime de undă specifică [radiație integrală lampă cu vapori
19 de mercur de medie presiune, 125 W]. Citirea se face cu un spectrofotometru UV-Vis, la
20 lungimea de undă 293 nm. Activitatea fotodinamică a fost determinată cu următoarea formulă:

$$21 PA = \Delta A \cdot 10^5 / E_o \cdot t \cdot A_{p\lambda}$$

22 unde: PA = activitate fotodinamică;

23 ΔA_{sc} = scăderea absorbantei la 293 nm singură și în prezența agenților fotosensibilizatori
24 după iradiere;

25 E_o = puterea lămpii, 125 W;

26 t = timp de iradiere;

27 $A_{p\lambda}$ = absorbanta agenților fotosensibilizatori după iradiere.

28 Rezultatele activității fotodinamice pentru diferiți fotosensibilizatori este prezentată în
29 tabelul 1.

RO 131024 B1

Revendicări

1. Gel de protecție solară, **caracterizat prin aceea că**, este constituit din $1-10 \times 10^{-3}$ M agent fotosensibilizator de tip 5,6-benzocumarine-3-substituite, 5-20 mg/ml carbovax, 1-5 N NaOH hidroxid de sodiu, 1-5 grame ZnO și 15-50 ml 1,3-propilenglicol. 3 5
2. Procedeu de obținere a gelului de protecție solară definit în revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că**, acesta constă în dizolvarea 5,6-benzocumarinelor-3-substituite în alcool etilic, adăugarea soluției de carbovax în apă (5-20 mg/ml) urmată de adăugarea soluției saline de tampon fosfat și a soluției 1-5 N de NaOH prin picurare la 37°C, timp de 30 min, până la valoarea pH-ului fiziologic 7,2-7,4, apoi adaugarea a 15-50 ml de intensificator de penetrare dermică, 1,3-propilenglicol, și filtrul fizic 1-5 g ZnO. 7 9 11
3. Procedeu de utilizare a gelului de protecție solară definit în revendicarea 1 pentru refacerea tisulară a pielii afectate de răni sau arsuri. 13



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 525/2020