



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2014 00767

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

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

(71) Solicitant:
• 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 3,
BL. 59, SC.3, 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

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

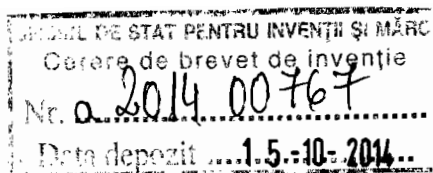
(57) Rezumat:

Invenția se referă la un gel de protecție solară și la un procedeu de obținere a acestuia. Gelul conform invenției conține $1...10 \times 10^{-3}$ M agent fotosensibilizator de tip 5,6-benzocumarine-3-substituie, 5... 20 mg/ml excipient pe bază de polietilenglicol, 1...5 N hidroxid de sodiu, 1...5 g oxid de zinc și 15...50 ml 1,3-propilenglicol. Procedeu conform invenției constă în dizolvarea agentului fotosensibilizator în alcool etilic, după care se adaugă o soluție pe bază de polietilenglicol, o soluție

salină de tampon fosfat și o soluție de NaOH, prin picurare la o temperatură de 37°C, timp de 30 min, până la o valoare pH de 7,2...7,4, la amestecul rezultat se adaugă un intensificator de penetrare dermică 1,3-propilenglicol și, în final, un filtru de protecție de tip ZnO.

Revendicări: 3





Gel de protecție solară a pielii și procedeu de obținere și utilizare al acestuia

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

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

Cumarinele sunt distribuite pe scară largă în regnul vegetal mai ales Umbelliferae, Rutaceae și Leguminosae. Ele formează un grup important de compuși cu rol important în activitățile vitale ale organismelor vii. De la izolarea cumarinei simple, structural cunoscută ca 2H-1-benzopiran-2-onă de către Vogel în 1820, mai mulți alți derivați cumarinici cu substituenți la unul sau mai multe dintre cele șase poziții disponibile de la C-3 la C-8 au fost izolate și clasificate ca derivați hidroxilați, alchilați, prenilați, furanocumarine, piranocumarine, isocotunarine, biscumarine, coumarino-lignoide, coumarino-glicozide, etc. Dintre acestea, cumarinele 3-substituite și 4-substituite naturale mai ales cele cu substituent alchil sau aril, sunt rare și sunt de obicei dovedite a fi comune componentelor plantelor aparținând familiei Leguminosae.



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

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

În brevetul nr. **EP 2731679 A1 (WO2013009733A1)**, 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, nr. 227724, intitulat „Proces pentru prepararea hidroxi-metil cumarinelor”, prezintă prepararea hidroxil metil cumarinelor în utilizarea sărurilor polianiline ca și catalizatori în prepararea cumarinelor substituie. Inșă nu este prezentată acțiunea protectoare a acesteia la nivelul pielii.

Brevetul UK, nr. GB 2251552A, 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-substituie, 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-substituie, 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-substituie pot fi utilizați la prepararea unui agent fotosensibilizator cu efecte fotodinamice în combinație cu iradierea cu radiație solară.



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 capacitatea de a transforma oxigenul prezent în mediul de reacție în specii foarte reactive: oxigen singlet, anion superoxid, radicali liberi, etc. Parametrii cei mai importanți ai fotosensibilizatorilor sunt:

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

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

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 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 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.

Avantajele pe care le oferă invenția constau în aceea că acești derivați 5,6-benzocumarinici-3-substituiți pot fi utilizați pe de o parte, la prepararea unui agent fotosensibilizator 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 fotosensibilizator conform invenției prezintă o serie de avantaje cum ar fi accesibilitatea, lipsa de toxicitate și compatibilitatea biologică, precum și activitatea fotodinamică ridicată, conform tabelului 1.

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 testează și se utilizează în concentrație $1-10 \times 10^{-3}$ M, prin încorporare sub formă de gel, așa cum este prezentat în continuare.

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 radiației luminoase, derivații 5,6-benzocumarinici-3-substituiți participă la transformarea oxigenului prezent în mediul biologic în specii reactive precum oxigenul



singlet, care produc ulterior ocluzia secundară a vaselor nutritive și infarctizarea (necroza tumorală) sau distrugerea țesuturilor afectate dermatologic.

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

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

Tabel 1

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

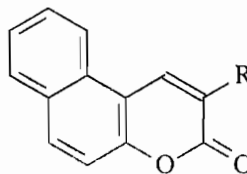
Fotosensibilizator	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$\varphi(O_2)$	0.44	0.23	0.67	0.27	0.153	0.12	0.525	0.234	0.575
Activitatea antioxidantă (AA) (%)	82.23	81.29	87.06	84.731	81.390	81.928	86.382	85.367	86.31
Activitatea fotodinamică (PA) (W.s)	14,52	20,9	30,31	12,496	13,62	18,8	13,9	18,86	12,37
Substituent (R')	COO-C 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

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

AA (%) = Activitatea antioxidantă

PA (W.s) = Activitatea fotodinamică

Structura 5,6-benzocumarinelor-3-substituite 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 carbovax și activarea sa de către o radiație luminoasă, în acest caz, de radiația 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 microni diametru mediu. Aceștia sunt excelente vehicule pentru eliberare de 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-substituite) a fost dizolvat în alcool etilic realizându-se o soluție stock de concentrație $1-10 \times 10^{-3}$ M. La 25 ml de soluție de agent fotosensibilizator, se adaugă o soluție de Carbovax în apă (5-20 mg/ml) după care s-a adăugat o soluție salină de tampon fosfat și o soluție 1-5 N NaOH (picurare la 37°C timp de 30 minute) până la valoarea pH-ului fiziologic (7,2-7,4). La acest amestec s-au adăugat 15-50 ml de 1,3-propilenglicol (intensificator de penetrare dermică) și 1-5 grame de ZnO. S-au obținut 100 g de gel.

Exemplul 2

Determinarea activității antioxidante utilizând metoda cu DPPH (**2,2-diphenil-1-picrilhidrazil**), s-a efectuat conform literaturii de specialitate (*O.M. Mosquera et. al., 2009*), căreia i s-au mai adus mici modificări: Dintr-o soluție de 1 mg DPPH (furnizor Sigma Aldrich) într-un balon de 50 ml, și adusă la semn cu metanol, considerată ca soluție stoc, ținută la întuneric la temperatura camerei, valabilă 1 zi, se iau în lucru 0.5 g proba + 1 mL soluție stoc DPPH, iar pentru soluția blank: 0.5 g apa distilată + 1 mL soluție stoc DPPH. Probele se agită (400rpm/30 minute) se lasă la întuneric încă 30 minute la temperatura camerei și apoi citite cu un spectrofotometru la $\lambda = 517$ nm, folosind formula de calcul:

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



Exemplul 3:

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

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

unde: PA=activitate fotodinamică;

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

E_o = puterea lămpii, 125W;

t=timp de iradiere;

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

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



Gel de protecție solară a pielii și procedeu de obținere și utilizare al acestuia

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 carbox, 1-5 N NaOH hidroxid de sodiu, 1-5 grame ZnO și 15-50 ml 1,3-propilenglicol.
2. Procedeu de obținere a gelului de protecție solară conform revendicarea 1 care constă în dizolvarea agentul fotosensibilizator selectat în alcool etilic, adăugarea soluției de Carbox în apă (5-20 mg/ml) după care se adaugă o soluție salină de tampon fosfat și o soluție 1-5 N NaOH prin picurare la 37°C timp de 30 minute, până la valoarea pH-ului fiziologic 7,2-7,4. La acest amestec se adaugă intensificator de penetrare dermică 15-50 ml de 1,3-propilenglicol și filtrul fizic 1-5 grame ZnO.
3. Procedeu de protecție solară a pielii, pe baza agentului fotosensibilizator definit în revendicarea 1, caracterizat prin aceea că acesta constă în aplicarea unui strat subțire de gel pe piele, obținându-se un efect de protecție solară (prin existența oxidului de zinc cu rol de barieră fizică) și de reparare tisulară (prin existența agentului fotosensibilizator cu caracter antioxidant mai-sus menționat, cu rol de generare de oxigen singlet capabil să vindece eventualele răni sau arsuri de pe piele, cât și a 1,3-propilenglicolului folosit ca intensificator de penetrare dermică) cu expunere la radiația solară timp de 20 de minute.

