



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI 1004499-0 A2**

(22) Data de Depósito: 05/11/2010
(43) Data da Publicação: 19/02/2013
(RPI 2198)



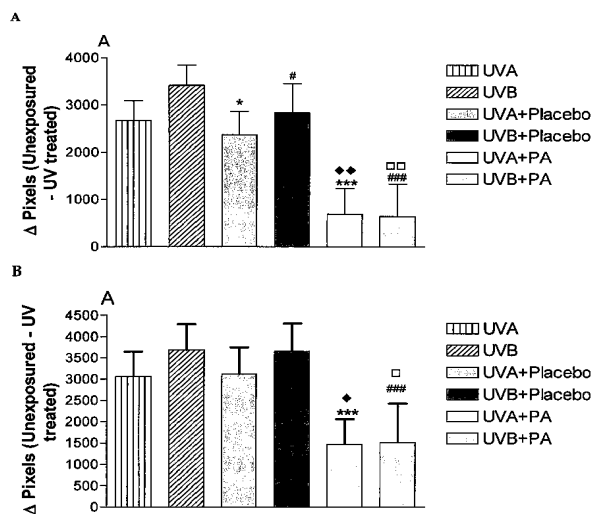
(51) *Int.Cl.:*
A61K 8/29
A61K 8/36
A61K 8/97
A61Q 17/04

(54) Título: COMPOSIÇÃO E FOTOPROTETORA, SEU USO NA PROTEÇÃO DAS TERMINAÇÕES NERVOSAS DA PELE, MÉTODO PARA PROTEÇÃO DE TERMINAÇÕES NERVOSAS E PROCESSO PARA SUA PRODUÇÃO

(73) Titular(es): União Brasileira de Educação e Assistência - Mantenedora da PUC RS

(72) Inventor(es): Betânia Longaray Fonseca, Moisés Evandro Bauer

(57) Resumo: COMPOSIÇÃO FOTOPROTETORA, SEU USO NA PROTEÇÃO DAS TERMINAÇÕES NERVOSAS DA PELE, MÉTODO PARA PROTEÇÃO DE TERMINAÇÕES NERVOSAS E PROCESSO PARA SUA PRODUÇÃO A presente invenção está direcionada a uma composição fotoprotetora compreendendo extrato de Echinacea purpurea, protegendo a pele contra os danos causados pelas radiações solares, em especial a UVA e UVB, bem como o seu uso para proteção da pele e a processos para sua preparação.



Relatório Descritivo de Patente de Invenção

COMPOSIÇÃO FOTOPROTETORA, SEU USO NA PROTEÇÃO DAS TERMINAÇÕES NERVOSAS DA PELE, MÉTODO PARA PROTEÇÃO DE TERMINAÇÕES NERVOSAS E PROCESSO PARA SUA PRODUÇÃO

5

Campo da Invenção

A presente invenção está direcionada a uma composição fotoprotetora sinérgica compreendendo um composto fotoprotetor e um composto antioxidante, como por exemplo o extrato de *Echinacea purpurea*, protegendo a pele contra os danos causados pelas radiações solares, em especial a UVA e UVB, bem como o seu uso para proteção da pele e a processos para sua preparação.

Antecedentes da Invenção

15 A pele é a parte mais exposta de nosso corpo e suscetível a diversas agressões, como machucados, pressão excessiva, regeneração contínua. Devido a essas razões, a ocorrência de lesões na pele é o evento mais comum na vida das pessoas.

A pele é composta basicamente de 3 partes.

20 A epiderme é um epitélio de revestimento estratificado e pavimentoso. Os queratinócitos são as células que formam este epitélio, representando 80% do conjunto das células epidérmicas. Entre as células da epiderme estão presentes os lipídios intercelulares, que são constituídos principalmente por ceramidas, colesterol e ácidos graxos livres, formando as estruturas lipídicas lamelares intercelulares. Juntamente com os corneócitos (células da epiderme), os lipídios intracelulares formam o cimento intercelular, o qual é responsável pela maior parte da função de barreira de permeabilidade e pela função de coesão intercelular da pele.

25 A derme está localizada abaixo da epiderme e contém uma matriz nutritiva rica em água e glicoproteínas. A derme hidrata e fornece nutrientes

30

para as camadas celulares mais profundas, que gera a pele, chamada de lâmina basal. A lâmina basal contém as células epiteliais, que crescem rapidamente, migrando para cima de forma a constituir a epiderme. Durante a migração, essas células perdem substâncias, transformando-se em queratinócitos, que transformam-se então na camada mais externa de células mortas.

A hipoderme está localizada abaixo da derme e é rica em células contendo gordura, e em fibroblastos. Abaixo da hipoderme, dependendo do tipo de órgão, pode-se encontrar músculos, como ligamentos ou tendões.

Os presentes inventores descobriram que a radiação UV destrói as terminações nervosas da pele.

A *Echinacea* já é bem utilizada na área da saúde. Uma das tecnologias que se aproxima da presente invenção é a utilização de chá verde contendo *Echinacea* em formulações tópicas, com ação antioxidante.

Outra abordagem conhecida é seu uso em um creme à base de extractos de *Echinacea* 5%, e *Viola tricolor* 5%, como descrito no artigo (www.jardimverde.pt/index.php?page=shop.product_details&flypage=flypage.tpl&product_id=1679&category_id=11&option=com_virtuemart&Itemid=2). Este creme possui atividade hidratante, e em nenhum momento é dita ou sugerida alguma atividade sinérgica neuroprotetora.

Outro artigo relacionado ao tema é "Skin improvement and stability of *Echinacea purpurea* dermatological formulations (www.skincaretreated.com/international-journal-of-cosmetic-science/skin-improvement-and-stability-of-echinacea-purpurea-dermatological-formulations.html), que trata de um cosmético a base de *Echinacea* para regressão de rugas e hidratação da pele sem descrever nenhuma atividade sinérgica neuroprotetora da *Echinacea purpurea*.

Além disso, o documento WO2010/045969 apresenta uma composição contendo *Echinacea purpúrea* em associação com *Alchemilla vulgaris* ou *Mimosa tenuiflora*, porém é utilizado para tratar pele e mucosas lesadas.

Outra composição que pode conter *Echinacea purpurea* também tem sido usada para uso tópico antiinflamatório como apresentado no documento WO2010/011541. Outras aplicações descritas contendo extrato de *Echinacea* são pra uso tópico para tratamento de inflamações (US5455033), tratamento de doenças infecciosas (WO 98/11778A1), enquanto que as composições da presente invenção têm um efeito sinérgico de fotoprotetores e antioxidantes com objetivo de prevenção e/ou tratamento dos danos causados pela radiação UV nas terminações nervosas livres.

Até a presente data não se conhece nenhum cosmético que tenha sido testado para este fim. Os protetores solares são testados para prevenir eritema solar, mas nunca foram testados com relação a sua proteção em terminações nervosas. Os testes aqui apresentados mostram que os produtos existentes atualmente não são capazes de proteger tais terminações. Por essa razão os inventores utilizaram um protetor solar como placebo e observou-se que a formulação da presente invenção com *Echinacea purpurea* e fotoprotetores apresenta um efeito sinérgico que proporciona proteção das terminações nervosas.

Sumário da Invenção

A radiação destrói terminações nervosas, sendo a terminação nervosa fundamental para sentirmos dor e toque e também para a manutenção da homeostasia do sistema imune. O produto que é utilizado para proteção da radiação solar na pele humana são protetores solares, observamos que estes protetores não protegem as terminações nervosas da pele, além de alguns apresentarem potencial tóxico, alergênico e serem instáveis. É importante ressaltarmos que os filtros solares não previnem melanoma, nem depleção de células de Langerhans. Como a ação dos protetores é medida pela formação ou não de eritema solar, não há como saber se estes protegem a pele dos danos celulares causados pela radiação, sendo estes danos cumulativos ao longo da vida. As pesquisas atuais mostram que os filtros solares utilizados atualmente não previnem estes danos.

Em um primeiro aspecto, a presente invenção proporciona uma composição fotoprotetora sinérgica capaz de proteger as terminações nervosas da pele dos danos causados pelos raios ultravioletas.

5 É um objeto da presente invenção uma composição fotoprotetora sinérgica compreendendo um ativo fotoprotetor e um composto antioxidante, conferindo proteção às terminações nervosas dos danos causados pelos raios ultravioletas.

É um adicional objeto da presente invenção um processo de produção de uma composição fotoprotetora sinérgica compreendendo as etapas de:

10 a) adicionar em um primeiro recipiente os componentes oleosos, sob aquecimento até fusão completa dos ingredientes, e adicionar em um segundo recipiente os componentes solúveis em água, sob aquecimento até total solubilização, homogeneizando-os;

b) verter a fase aquosa sobre a fase oleosa, formando a emulsão;

15 c) adicionar os conservantes após resfriamento da emulsão;

Em um segundo aspecto, a presente invenção apresenta um método de proteção das terminações nervosas da pele dos danos da radiação ultravioleta, bem como o uso de uma composição fotoprotetora sinérgica na proteção da pele dos danos da radiação ultravioleta.

20 É um adicional objeto da presente invenção um método de proteção das terminações nervosas da pele compreendendo a etapa de administrar a composição fotoprotetora sinérgica da presente invenção de forma tópica na pele.

25 É um adicional objeto da presente invenção o uso de uma composição fotoprotetora sinérgica de forma tópica sobre a pele para protegê-la dos danos causados pela radiação ultravioleta.

Esses e outros objetos da presente invenção serão melhor exemplificados na descrição detalhada a seguir.

30 **Breve Descrição das Figuras**

Figura 1 – Efeitos da radiação UVA nas terminações nervosas livres. (a) Pele controle; (b) Radiação UVA; (c) Placebo+UVA; (d) Creme1+UVA (200X).

Figura 2 – Análise quantitativa do dano nas terminações nervosas livres causado pela radiação UVA e UVB e efeito neuroprotetor do Creme1. O creme1 bloqueou completamente os danos causados pela radiação UV nas terminações nervosas ($p < 0.001$, vs. controle e vs. placebo). Diferenças estatisticamente significativas: *** $p < 0,001$.

Figura 3 – Análise quantitativa do dano nas terminações nervosas livres causados pela radiação UVA e UVB na mama(A) e no abdômen(B). Efeitos do placebo na mama ($p = 0.262$) e abdômen ($p = 0.000$); placebo não mostrou efeito protetor na pele da mama e no abdômen o placebo mostrou algum efeito neuroprotetor ($p < 0.05$). O Creme1 mostrou significância em todos os tecidos ($p = 0.000$). Diferenças estatisticamente significativas: *** $p < 0,001$.

Figura 4 – Análise quantitativa do dano nas terminações nervosas livres causados pela radiação UVA e UVB no grupo 1 (A)(20-39 anos) e grupo 2 (B)(40-60 anos). Não há diferença entre os grupos na resposta a radiação UV ($p = 0.454$). O creme1 mostrou ter efeito neuroprotetor em todas as idades ($p = 0.000$). Diferenças estatisticamente significativas: *** $p < 0,001$.

Descrição Detalhada da Invenção

Os exemplos a seguir são apenas para fins de ilustração da invenção, não devendo ser encarados como restritivos das inúmeras possibilidades de realização da invenção.

Composição Fotoprotetora

A composição fotoprotetora da presente invenção compreende:

- a) um composto fotoprotetor; e
- b) um composto antioxidante

Onde a associação de ambos promove um efeito sinérgico de proteção das terminações nervosas da pele dos efeitos dos raios UV.

Exemplos de compostos fotoprotetores incluem os comumente utilizados em formulações, como cinamatos e seus derivados, benzofenonas e seus

derivados, óxidos de titânio e combinações dos mesmos. Preferencialmente o composto fotoprotetor é compreende derivados de cinamatos e benzofenonas.

Exemplos de compostos antioxidantes incluem, sem limitações, os extratos de plantas, em especial das plantas pertencentes ao gênero *Echinacea*. Preferencialmente utiliza-se um extrato de *Echinacea purpúrea*, que possui % p/p de polifenóis maior que 1% e taninos maior que 2%.

É importante ressaltarmos que a *Echinacea purpúrea* é uma planta cultivada no Brasil, apesar de ser característica da América do Norte. Esta espécie se adapta ao clima subtropical, sendo assim cultivada na região sul do Brasil.

A proporção de composto fotoprotetor para composto antioxidante listado acima está compreendida na faixa que vai de 1:0,5 a 1:5, sendo preferencial a proporção de 1:2.

As principais vantagens da composição acima são:

- Aliviar a percepção da dor, melhorar a circulação, fotoproteção anti envelhecimento, ou seja, neuroproteção cutânea, ação antioxidante, pode aliviar dor de pacientes com hanseníase que se expõe ao sol, queimaduras, herpes, atividade antimicrobiana, regeneração celular, efeito sinérgico anti-aging; preventivo para queimaduras cutâneas; tratamento de queimaduras cutâneas.

- A formulação foi eficaz para proteção de pele da mama, do abdômen, podendo servir para proteção de pele de outras partes do corpo também.

- É uma ótima recomendação pra idosos, pois apresentam perda de sensibilidade na pele, provavelmente devido a uma diminuição de terminações nervosas

O método de proteção das terminações nervosas da pele descrito na presente invenção compreende a etapa de administrar a composição fotoprotetora sinérgica da presente invenção de forma tópica na pele. Como a composição possui efeito profilático, ela deve preferencialmente ser aplicada antes da exposição ao sol, em especial pelo menos 20 minutos antes.

Exemplos

Formulação: Será formulada uma emulsão óleo/água. Os componentes foram pesados em balança analítica e transferidos para um recipiente de vidro, esta será a fase oleosa. A mistura foi colocada em banho-maria e aquecida até 80°C até fusão dos componentes. Após, os componentes da fase aquosa foram pesados e aquecidos até 85°C. Com agitação contínua, a fase aquosa foi vertida na fase oleosa. A agitação continuou após emulsão formada, para garantir a completa emulsificação. A emulsão foi resfriada e foi adicionado o sistema conservante.

Foi formulada uma emulsão com o princípio ativo pesquisado e uma emulsão placebo. Cada emulsão permaneceu no mínimo 30 minutos na pele para penetração, posteriormente foram expostas à radiação.

Tabela 1

Componentes	%
Ésteres ácido berrênico	6
Triéster de poliol com ácidos graxos	2,5
Derivados de óleo	2
Dicapril eter	4
Derivado de glicóis	2
Derivado de glicerol	1,5
Óleo de macadâmia	3
Miristato de Isopropila	10
EDTA dissódico	0,1
Ureia	3
Parabenos	0,3
Derivados de benzofenonas	5
Derivados de cinamatos	5
Echinacea purpúrea	10

Voluntários: Foram recrutados 20 pacientes no setor de cirurgia do Hospital São Lucas (Porto Alegre, Brasil). Apresentou-se para todos os pacientes um termo de consentimento e os mesmos, se concordarem, assinam, autorizando a utilização da pele, retirada na cirurgia, para fins científicos. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética da Pontifícia

Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Os critérios de exclusão incluíram diabetes, neoplasias, infecções e doenças inflamatórias crônicas (exs: artrite, lupus, psoríase e vitiligo).

Biópsias: As biópsias consistiram em fragmentos de pele de, aproximadamente, 4cm² mantidas em solução salina durante a cirurgia e após foram imediatamente levadas ao laboratório para o início do processo.

Radiação UV: Foram utilizadas lâmpadas UVA e UVB com 45 cm (Phillips, 15W) para irradiar as secções de pele, por pelo menos 60 minutos. As amostras controle foram irradiadas também nesse intervalo de tempo. O nível de radiação foi de $2.18 \pm 0.10 \text{ W / m}^2$ (UVA) e $2.48 \pm 0.11 \text{ W / m}^2$ (UVB), com radio-espectrofotômetro.

Imunofluorescência: As biópsias de pele, após irradiadas, foram tratadas com isopenteno e congeladas em nitrogênio líquido. Em criostato (Sundown) foram feitas secções longitudinais de pelo menos 10µm; sendo colocados em cada lâmina 4 secções (pele controle sem exposição, controle UVA, controle UVB, com PA e com placebo), sendo essa aquecida por pelo menos 5 minutos, em uma chapa de aquecimento a pelo menos 42 °C, e fixadas em acetona por no mínimo 20 minutos. Lâminas não utilizadas imediatamente foram congeladas a -20°C por no máximo 1 semana.

Antes de utilizadas, as lâminas congeladas permaneceram à temperatura ambiente por no mínimo 10 minutos, em seguida foram reidratadas em PBS 1X, após as lâminas permaneceram em FC blocking por pelo menos 20 minutos. As lâminas foram, então, lavadas com PBS e incubadas, durante overnight, com anti-CD56 (NCAM), diluído em FC block. As NCAM (moléculas de adesão as células neurais) foram expressas nas células de Schwann não mielinizadas e nas fibras da pele sem mielinização (Niedecken *et al.* 1988; Le Forestier *et al.* 1993). Após esse procedimento, as lâminas foram novamente lavadas com PBS e incubadas com anticorpo FITC labeled goat anti mouse IgG), diluído em PBS por pelo menos 60 min. Utilizou-se DAPI em PBS, por pelo menos 2 minutos para coloração das lâminas,

posteriormente montadas em Vectasheild (Vector) para análise de microscopia de fluorescência.

Análise de Imagens: Quatro campos, por tratamento, foram capturados em microscópio de fluorescência captadas em até 5 segundos. A densidade de terminações nervosas foi avaliada por pixel de seleção automática nas imagens adquiridas por μm^2 .

Análise Estatística: As variáveis foram analisadas através de Kolmogorov-Smirnov. Os dados foram analisados por teste ANOVA. As diferenças entre os tratamentos foram investigadas através de análise de contraste Tukey. Os dados foram apresentados com uma média de erro padrão e analisados com software.

RESULTADOS:

Neste estudo foi possível identificar várias fibras nervosas cutâneas NCAM positivas, geralmente responsável pela estimulação sensorial. O padrão de coloração NCAM corresponde à distribuição das fibras sensoriais, bem como do sistema nervoso autônomo simpático da pele. Portanto, utilizando técnicas de imunofluorescência, constatou-se que as radiações UV aguda diminui as terminações nervosas da epiderme.

Ambos os raios UVA e UVB reduziram a densidade das terminações nervosas em amostras de pele não tratadas ($p < 0,001$). A Figura 1 mostra imagens representativas das amostras expostas à UVA. Amostras tratadas com Cream1 bloquearam completamente os efeitos nocivos relacionados com UV sobre as terminações nervosas ($p < 0,001$, contra amostras expostas à radiação UV e contra o placebo). As biópsias de pele foram obtidas a partir de mama e abdômen que poderia, teoricamente, apresentar um padrão diferenciado de inervações ou exposição solar. Assim, UV induziu efeitos diferentes para a mama e o abdômen, quando analisados separadamente, o amplo espectro de efeitos neuroprotetores placebo na mama ($p = 0,262$) e abdômen ($p = 0,000$) são diferentes.

Em outras palavras, o placebo na pele da mama não mostrou nenhum efeito protetor e placebo na pele do abdômen mostrou algum efeito protetor ($p < 0,05$). Cream1 mostrou uma diferença significativa em todos os tratamentos ($p = 0,000$). E. purpurea provou eficaz na pele da mama, diferentemente do placebo que mostrou não possuir nenhuma ação neste tecido. Na pele do abdômen a E. purpúrea bloqueou quase completamente a ação da radiação UVB, o que não observamos nas peles com creme placebo. O envelhecimento provoca alterações morfológicas e anatômicas na pele, por isso nós pesquisamos se havia alguma diferença para as mulheres até 39 anos e após 40 anos de idade, em resposta à radiação ultravioleta e efeito protetor de emulsões na pele. Não houve diferença entre idade na resposta à radiação UV ($p = 0,454$). O cream1 mostrou uma diferença significativa nos dois grupos (todos $p = 0,000$).

A implicação desse achado é que a Echinacea purpurea, devido ao seu efeito antioxidante, quando combinados com formulações tópicas que contêm filtros solares tradicionais, que têm efeitos fotoprotetores aditivo, quando comparado com qualquer um destes agentes sozinho. É importante ressaltarmos novamente que o placebo possui filtros solares UVA e UVB; contudo a formulação com E. purpurea protegeu as terminações nervosas mais de 85% para UVA e 90% para UVB, bloqueando quase totalmente a ação da radiação na terminações nervosas, diferentemente do placebo que mostrou não possuir esta ação. Assim, o presente estudo tem duas importantes implicações clínicas: (a) identificação de um novo composto cuidado da pele com propriedades neuroprotetoras e (b) confirmar a redução de terminações dos nervos da pele após a radiação UV. A ação da composição é pelo menos de 5 horas.

Reivindicações

COMPOSIÇÃO FOTOPROTETORA, SEU USO NA PROTEÇÃO DAS TERMINAÇÕES NERVOSAS DA PELE, MÉTODO PARA PROTEÇÃO DE TERMINAÇÕES NERVOSAS E PROCESSO PARA SUA PRODUÇÃO

5

1. Composição fotoprotetora caracterizada por compreender:

- a) um composto fotoprotetor; e
- b) um composto antioxidante

10 onde a associação de ambos promove um efeito sinérgico de proteção das terminações nervosas da pele dos efeitos dos raios UV.

2. Composição fotoprotetora, conforme reivindicação 1, caracterizada pelo composto fotoprotetor ser escolhido do grupo que compreende cinamatos e seus derivados, benzofenonas e seus derivados, óxidos de titânio e combinações dos mesmos.

15

3. Composição fotoprotetora, conforme reivindicação 1, caracterizada pelo composto antioxidante ser um extrato de plantas pertencentes ao gênero *Echinacea*.

4. Composição fotoprotetora, conforme reivindicação 3, caracterizada pelo extrato ser um extrato de *Echinacea purpúrea*.

20

5. Composição fotoprotetora, conforme reivindicação 4, caracterizado pelo extrato compreender mais que 1% p/p de polifenóis e mais que 2% p/p de taninos.

25

6. Composição fotoprotetora, conforme reivindicação 1, caracterizada pela proporção de composto fotoprotetor para composto antioxidante estar compreendida na faixa que vai de 1:0,5 a 1:5.

7. Composição fotoprotetora, conforme reivindicação 6, caracterizada pela proporção ser 1:2.

8. Composição fotoprotetora, conforme reivindicação 1, caracterizada por ser aplicada na pele da mama, do abdômen e outras partes.

9. Uso de uma composição conforme definido nas reivindicações de 1 a 8 caracterizado por ser para proteger as terminações nervosas da pele da radiação UV.

5 10. Método para proteger as terminações nervosas da pele da radiação UV caracterizado por compreender a etapa de administrar uma composição fotoprotetora sinérgica conforme descrita nas reivindicações de 1 a 8 de forma tópica na pele.

10 11. Método, conforme a reivindicação 10, caracterizado pela administração ocorrer pelo menos 20 minutos antes da exposição à radiação UV.

15 12. Método, conforme reivindicação 10, caracterizado por proporcionar alívio na percepção da dor, melhorar a circulação, proteger do foto-envelhecimento, neuroproteção, prevenção e/ou tratamento de queimaduras cutâneas; atividade antimicrobiana, regeneração celular, efeito sinérgico anti-aging; e combinações dos mesmos.

13. Processo de produção de composição fotoprotetora caracterizado por compreender a etapa de adicionar o composto fotoprotetor e o composto antioxidante a um veículo adequado.

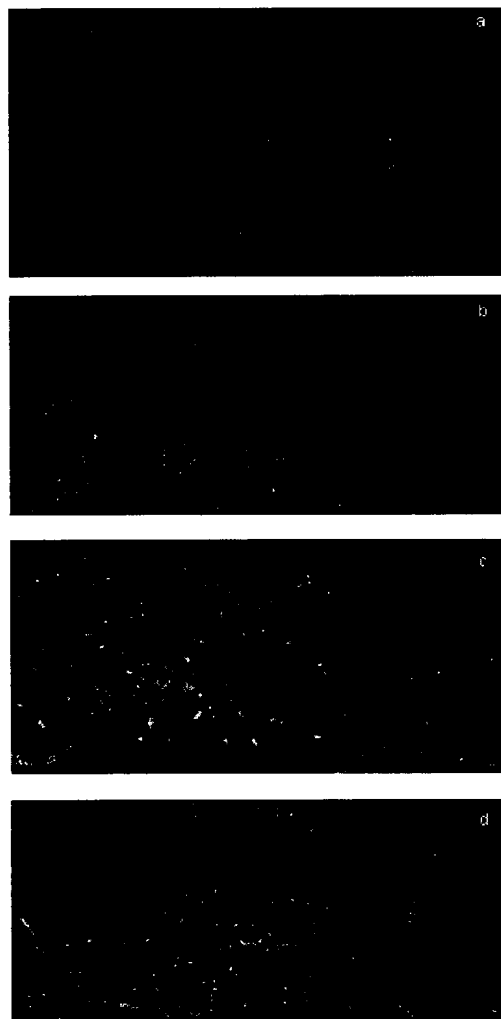


FIGURA 1

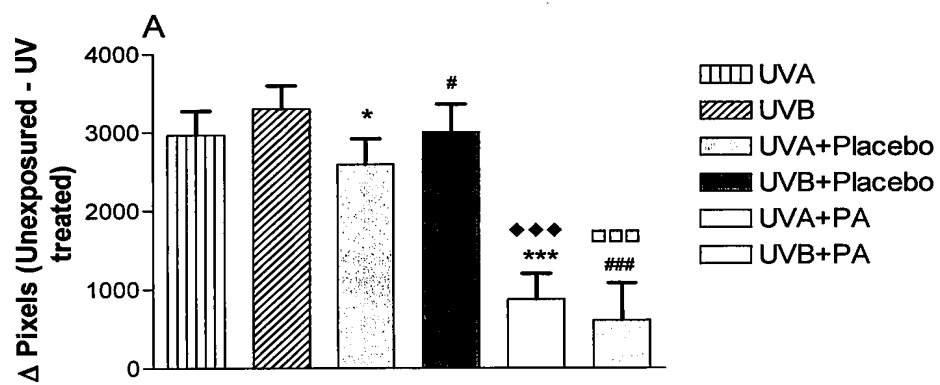
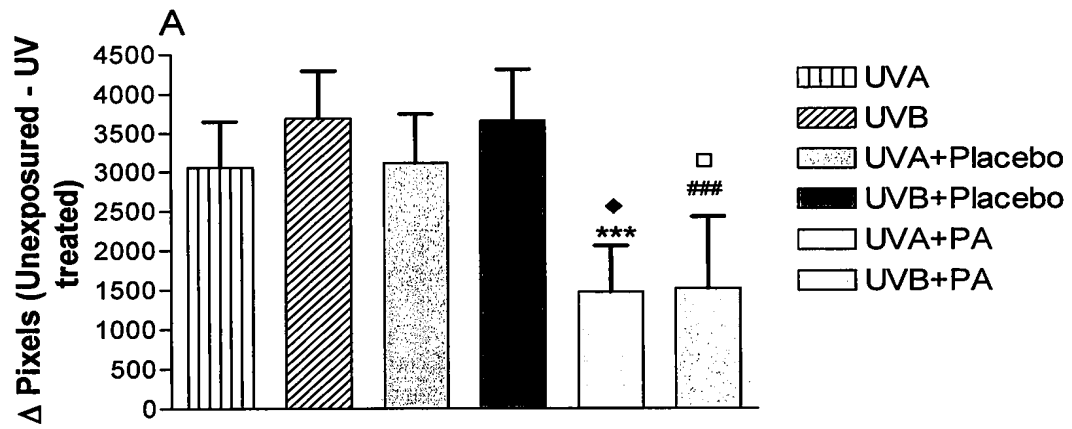


FIGURA 2

A



B

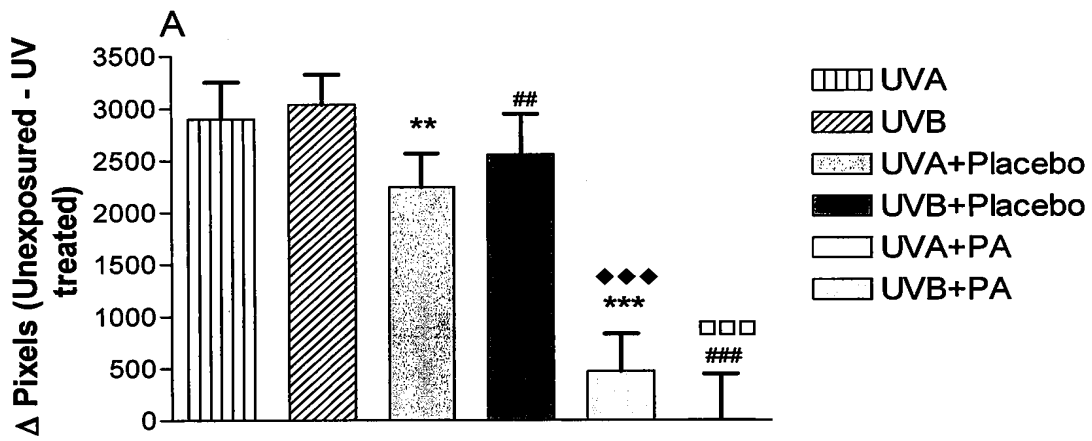
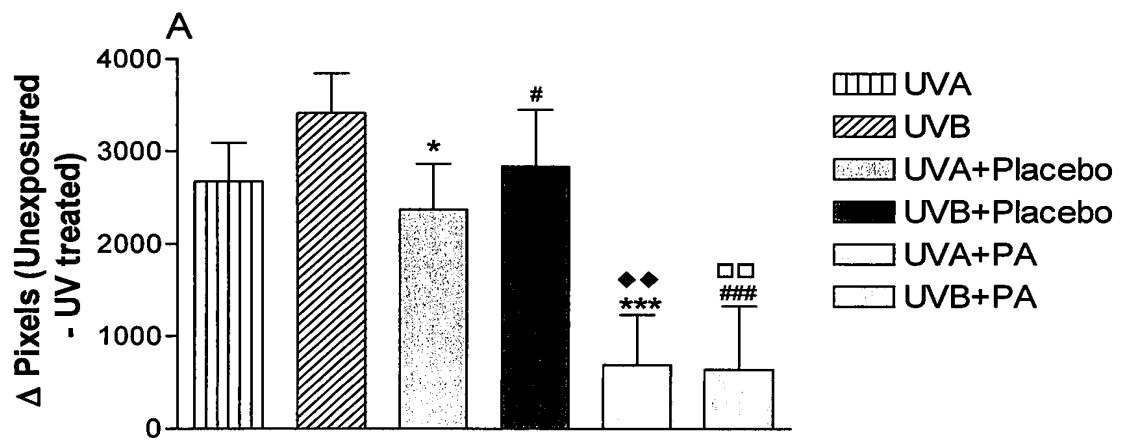


FIGURA 3

A



B

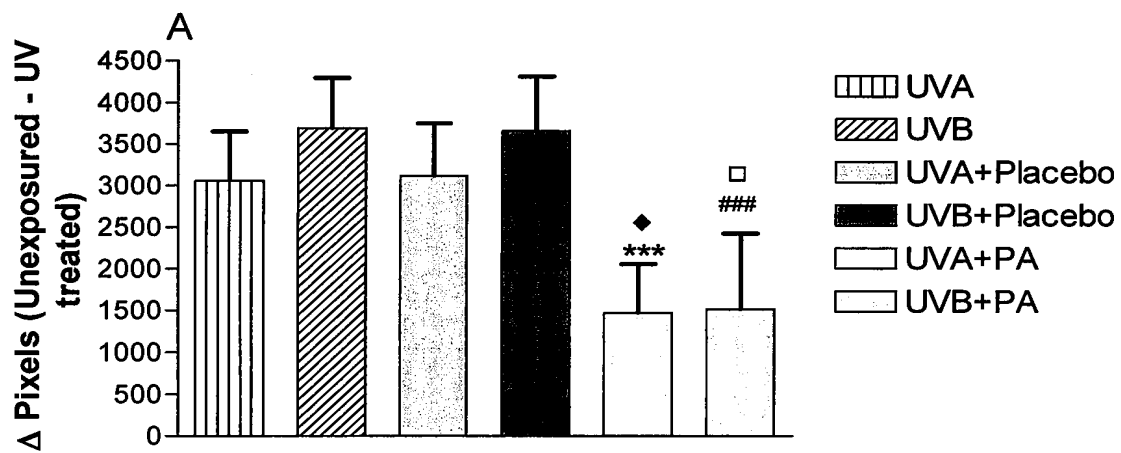


FIGURA 4

Resumo

**COMPOSIÇÃO FOTOPROTETORA, SEU USO NA PROTEÇÃO DAS
TERMINAÇÕES NERVOSAS DA PELE, MÉTODO PARA PROTEÇÃO DE
TERMINAÇÕES NERVOSAS E PROCESSO PARA SUA PRODUÇÃO**

5

A presente invenção está direcionada a uma composição fotoprotetora compreendendo extrato de *Echinacea purpurea*, protegendo a pele contra os danos causados pelas radiações solares, em especial a UVA e UVB, bem como o seu uso para proteção da pele e a processos para sua preparação.

10