



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETÀ INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UTBM

DOMANDA NUMERO	101999900784918
Data Deposito	09/09/1999
Data Pubblicazione	09/03/2001

Titolo

MELANINE E PIGMENTI VEGETALI

Carlo Ghisalberti

DESCRIZIONE

Annessa a domanda di brevetto d'INVENZIONE INDUSTRIALE avente per titolo:

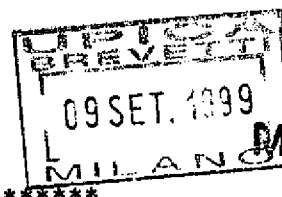
MELANINE E PIGMENTI VEGETALI

A nome: Dr. Carlo Ghisalberti, Via Piero della Francesca 6 - 20154 Milano (I)

Inventori designati: Carlo Ghisalberti

Mandatari:

Depositato il 09-09-1999



MI 99 A 00 1896

DESCRIZIONE

La presente invenzione si riferisce a melanine vegetali ottenute per polimerizzazione ossidativa di soluzioni di precursori polifenolici e/o L-dopa vegetale.

La presente invenzione si riferisce anche a pigmenti vegetali solidi ottenuti
5 mediante precipitazione o coprecipitazione delle soluzioni alcaline delle melanine vegetali o dei loro precursori premelanizzati

La presente invenzione si riferisce composizioni cosmetiche colorate, fluide o solide, contenenti melanine e pigmenti vegetali, da soli, in combinazione o in associazione con altre sostanze pigmentanti vegetali, in particolare polichetidi da *Monascus*, dette
10 composizioni cosmetiche aventi proprietà dermoprotettive nei confronti della pelle, mucose e capelli dall'esposizione alla radiazione UV o all'ambiente ossidativo.

Tra i pigmenti esistenti in natura, le melanine si distinguono per essere biopolimeri fotoassorbenti con diverse funzioni: schermatura fotorecettoriale, termoregolazione, "camouflage", chelazione di cationi e cattura di radicali liberi.

15 Le melanine umane sono almeno di 3 tipi: eumelanina bruno-nera (poli-5,6-diidrossi-indolo, poli-5,6-diidrossi--3-carbossi-indolo e poli-3,4-diidrossi-fenilalanina); feomelanina giallo-rossastra (polidiidrobenzotiazina); e neuromelanina (polidopamina).

Nella sequenza sintetica dell'eumelanina, detta di Raper-Mason, la L-dopa evolve in dopa-semichinone, dopachinone, leucodopacromo (DHICA), dopacromo, 5,6-diidrossiindolo (DHI), e indolo-5,6-chinone. I vari stati semichinonici citati polimerizzano a formare il polimero melanico. Tali passaggi in vivo richiedono l'assistenza enzimatica, mentre in sistemi in vitro le condizioni autossidative alcaline (Fisiol. Rev. 8, 245, 1928; J. Biol. Chem. 172, 83, 1948) rendono possibile l'intera sequenza ossidativa-polimerizzativa.
20

5

Esiste una varietà di melanine in natura, dette "allomelanine" (altre melanine), vasta classe di biopolimeri ad ampio spettro di assorbimento UV-visibile riscontrabile in diverse specie animali (seppia, polipo, ecc.) e vegetali (funghi, piante), prodotte da precursori azotati e non, ad es. catecoli o 1,8-diidrossinaftalene (via pentachetidica),
5 come illustrato da Bell et al. (Ann. Rev. Phytopatol., 24:411-51, 1986).

Le melanine vegetali si formano in vivo a partire da polifenoli vegetali con assistenza enzimatica della polifenolossidasi, in grado di effettuare l'orto-ossidrilazione (attività cresolasica) e la successiva ossidazione di o-difenoli a semichinoni e orto-chinoni, con successiva polimerizzazione a dare melanine vegetali.

10 Dato che le melanine sono utilizzate commercialmente quali componenti di cosmetici ad uso fotoprotettivo ed anti-invecchiante, è desiderabile disporre di un'ampia gamma cromatica di melanine e pigmenti vegetali ad elevata attività antiossidante.

Abbiamo ora trovato che è possibile preparare in vitro delle melanine di tipo vegetale, con caratteristiche pretettive ed anallergiche, per copolimerizzazione
15 autossidativa di monomeri costituiti da polifenolici vegetali e/o precursori eumelanici.

Le melanine vegetali della presente invenzione presentano un'ampia gamma di colori, in combinazione con i corrispondenti precursori non melanizzati ed eventualmente altri pigmenti di origine vegetale, consentendo la produzione di vari cosmetici per il trucco al viso, la colorazione dei capelli, creme e lozioni
20 dermoprotettive ed antiruga, di prodotti solari.

Mentre i precursori eumelanici utili ai nostri scopi sono la 3,4-diidrossifenilalanina (L-dopa) di tipo estrattivo a origine vegetale, capace di convertire in situ in precursori eumelanici (DHICA e DHI) nella soluzione alcalina acquosa in presenza di ossigeno.

Nelle stesse condizioni ossidative i frammenti orto-difenolici contenuti nei
25 polifenoli vegetali sono spontaneamente convertiti in semichinoni e chinoni, rendendo le posizioni vicinali sono disponibili all'autocondensazione o copolimerizzazione.

E' pertanto un oggetto della presente invenzione il procedimento di polimerizzazione di precursori vegetali a dare melanine vegetali (da qui in poi citate anche come "fitomelanine") in forma liquida e solida.

30 Un ulteriore oggetto della presente invenzione sono i pigmenti vegetali solidi ottenuti a partire dalla soluzione alcalina dei precursori melanici (i polifenoli vegetali)

non melanizzati con processi di precipitazione.

Le melanine ed i pigmenti vegetali sono caratterizzati da attività antiossidante, da un'ampia gamma di colori, in grado quindi di soddisfare una varietà di applicazioni cosmetiche fornendo allo stesso tempo proprietà dermoprotettive ed eudermiche.

5 Alcuni polifenoli vegetali sono specialmente contemplate per gli scopi della presente invenzione.

I flavanoli sono polifenoli diffusi nei tessuti vegetali, come (+)-catechina ed il suo stereoisomero (-)-epicatechina, sia agliconi che in forma glicosilata, esterificata, o condensata, le proantocianidine (OPC). La gallocatechina e suoi esteri gallici sono catechine 5'-ossidilate, particolarmente diffuse nelle varie specie di tè, mentre le catechine classiche e oligomeriche ritrovano nelle piante lignee superiori e nel catecù (gambir e acacia), ma sono generalmente estratte da vinacciolo.

15 Altri polifenoli vegetali d'interesse sono le antocianine, che appaiono nei petali dei fiori, nelle foglie di molte piante, nella verdura e nella frutta colorata, ad esempio nell'uva. Trattasi di sostanze a struttura 2-fenilbenzopirilica (ioni flavilio) con gruppi idrossi e metossilici, sovente glicosilati anche mono-, di- e tri-saccaridi, con la posizione 3 eventualmente esterificata, ad es. con acido p-cumarico.

La vite e i suoi derivati (es. vinaccia e vino) contengono ulteriori polifenoli vegetali, quali i flavandioli (diidroquercetina), flavanonoli (miricetina) e flavoni (luteolina).

20 I flavonoidi contenuti negli agrumi sono noti "bioflavonoidi". A questi appartengono i flavonoli, i cui agluconi principali sono chempferolo, morina e quercetina, quest'ultima come 3-ramnoside (quercitrina) si concentra nell'ippocastano, e come 3-rutinoside (rutina), flavonoide ubiquitario presente in elevate concentrazioni nel tabacco, tè, eucalipto, vite, ed in specie tropicali, ad esempio la *Dimophandra mollis*.

25 Tra i bioflavonoidi agrumari si trovano i flavanoni, quali l'esperetina e il suo glicoside esperidina, presenti nell'arancio dolce e, in misura inferiore, nell'arancia amara, pompelmo e limone. Flavoni come la naringenina e i suoi glicosidi (naringina, narirutina, neosperidina e poncirina) si ritrovano nel pompelmo e nell'arancio amaro.

30 Numerose altre piante contengono una grande varietà di polifenoli flavonoidi, e possono essere utilizzate come fonti estrattive di polifenoli vegetali per la presente invenzione. Tra queste citiamo i flavanonoli e favanonoli, rispettivamente fisetina e fustina,

ottenibili da "legno fustello" (sommacco).

Ulteriori polifenoli vegetali di nostro interesse sono i 3,4-diidrossifenili, sostanze diidrossibenzoiche vegetali in forma di agluconi, glucosidi e esteri.

5 L'acido protocatechico, acido 3,4-didrofenilacetico, si ritrova in molte piante, tra le quali il frumento mentre la corrispondente aldeide è un componente aromatico vegetale, presente ad esempio nella vanillina (*Vanilla fragrans*).

L'idrossitirosolo, 2-(3,4-dididrofenil)-etanolo, e i suoi esteri (oleuropeina e verbascoside) contenuti nella druposa e nelle foglie dell'ulivo.

10 L'acido gallico ed suoi oligomeri, definiti tannini o acido tannico, si ritrovano in gran parte delle piante superiori.

La pirocatechina si ritrova come metabolita in diversi funghi e muffe, mentre il l'1,4-isomero è l'idrochinone, presente come glucoside (arbutina) nell'uva ursina.

La maclurina è contenuta in varie piante tintorie e nelle Moracee.

15 I polifenoli vegetali a struttura catechica e flavonoide possono essere estratte e purificate da una serie di fonti vegetali, quelli a struttura aglicone-diidrossibenzenica sono convenientemente ottenibili anche per sintesi chimica.

Fonti preferite di L-dopa vegetali sono estratte da varietà di *Mucuna* e da alcune leguminose, ad esempio *Vicia faba* e *Stizolobium deeringianum*.

20 Per gli scopi sin qui indicati, le melanine vegetali sono ottenute per (co)polimerizzazione ossidativa dei precursori vegetali mediante procedimenti noti.

Tra questi, è preferito il processo di autossidazione per gorgogliamento di aria o ossigeno nella soluzione alcalina dei precursori a $\text{pH} \geq 10$, eventualmente con catalisi da metalli proossidanti, ad esempio Cu^{2+} o Fe^{2+} 1-10 mM.

25 Si contempla inoltre la polimerizzazione in presenza di agenti ossidanti chimici, (es. ammonio persolfato, perossido/ioduro di idrogeno, potassio ferricianuro, cloruro ferrico-oso, magnesio perclorato) dei precursori fenolici (es. la tirosina e polifenoli monofenolici), convertibili in situ nei corrispondenti difenolici, e quindi polimerizzati "one-pot".

30 Le melanine vegetali della presente invenzione possono essere inoltre ottenute per sintesi enzimatica in presenza di una fonte di ossigeno atmosferico, ad esempio mediante tirosinasi, laccasi, perossidasi, o miscele di questi.

Le melanine vegetali possono essere utilizzate direttamente nella loro soluzione

acquosa alcalina nativa, e come tali sono in grado di conferire alle composizioni cosmetiche un'ampia gamma di colori dall'apparenza naturale e, contemporaneamente, prevenire dagli effetti deleteri della radiazione UV e dello stress ossidativo.

5 Le composizioni cosmetiche contenenti le soluzioni delle melanine vegetali disperse da ingredienti cosmetici hanno tendenzialmente un comportamento colorante (tanning).

10 Tra gli ingredienti preferiti come disperdenti si citano gli emulsionanti e i tensioattivi, scelti tra le sostanze di tipo cationico, anionico, non-ionico o anfoterico, naturale o sintetico, in grado di stabilizzare le melanine della presente invenzione caratterizzate. Particolarmente preferite sono le betaine sintetiche e i fosfolipidi naturali.

La presente invenzione include inoltre melanine e pigmenti vegetali in forma solida, ottenibili mediante una serie di procedimenti, tra i quali si citano:

- a) Acidificazione a pH 1-8, preferibilmente pH 2-3, con precipitazione per acidi minerali (es. HCl, H₂SO₄) o organici idrosolubili (es. acido acetico, lattico, tartarico).
- 15 b) Addizione di solventi organici idrosolubili (es. acetone, etanolo, metanolo), che annullano la solubilità della melanine in soluzione alcalina.
- c) Scambio ionico con ioni metallici divalenti, ad es. ossidi, idrossidi e sali di Z, Mg, Ca, Ba, con formazione di legami per scambio ionico con i gruppi carbossilici, fenolici, amminici, alcolici del biopolimero melanico.
- 20 d) Adesione su substrati polimerici inerti. Le melanine vegetali possono essere associate con un supporto polimerico naturale o sintetico, organico o inorganico. Esempi di supporti inorganici a struttura lamellare sono la mica, il diossido di titanio lamellare, il talco, il nitrato di boro. Esempi di supporti inorganici sferoidali sono gli ossidi di zinco, titanio, alluminio, ferro, cerio o zirconio. Esempi di supporti organici sintetici
- 25 sono le poliolefine, il polistirene, il PVC, il poliacrilonitrile, le poliamidi, i poliacrilati e i siliconi reticolati. Esempi di supporti organici naturali sono il carbone vegetale, la cheratina, la chitina, la cellulosa ed i suoi derivati.
- e) Formazione di lacche e lacche miste, ad esempio per coprecipitazione con ioni alluminio o bivalenti (es. Ca, Zn, Mg) a pH tra 2 e 9, preferibilmente tra 5 e 8.
- 30 f) Una qualsiasi combinazione dei procedimenti (a), (b), (c), (d) ed (e).

C. B. B. B.

I prodotti insolubili possono essere isolati per filtrazione, sedimentazione frazionata, liofilizzazione, atomizzazione, o centrifugazione.

Le melanine vegetali della presente invenzione possono peraltro essere polimerizzate in presenza di supporto inerte - sulla cui superficie si sviluppa il biopolimero
5 melanico - e/o per sintesi enzimatica.

E' preferibile utilizzare melanine e/o pigmenti vegetali in forma solida insolubile quando l'effetto tanning non è desiderabile, particolarmente per i cosmetici per il trucco del viso, quali ad esempio ombretti, matite, fondo tinta, mascara, ecc.

I polifenoli della soluzione alcalina non sottoposta a polimerizzazione ossidativa costituiscono difatti materiali idonei per la preparazione di pigmenti vegetali solidi, che
10 costituiscono un ulteriore oggetto della presente invenzione.

Pigmenti vegetali solidi a base di polifenoli vegetali possono essere prodotti come pigmenti e lacche secondo i procedimenti (c), (d), (e) e (f).

Un ulteriore oggetto della presente invenzione è quindi l'utilizzo dei pigmenti
15 ottenuti mediante coprecipitazione delle melanine vegetali o dei corrispondenti polifenoli vegetali dalla soluzione alcalina monomerica non melanizzata.

In una realizzazione preferita della presente invenzione le melanine e i pigmenti vegetali solidi sono utilizzati in combinazione con altri pigmenti vegetali naturali.

Esempi di tali pigmenti vegetali sono le lacche e le forme solide ottenute da
20 sostanze antrachinoniche (es. alizarina, aloina, emodina, orceina), naftochinoniche (es. lawsone, juglone), carotenoidi, xantofille, clorofille, caramello, indaco e bromoindaco.

Un pigmento vegetale particolarmente preferito proviene da Monascus ("Monascus red"), miscela di polichetidi ottenuta per fermentazione con microorganismi vegetali della serie Monascus (es. M. ruber, M. anka), dai quali si ottengono pigmenti
25 insolubili supportati su amido di riso oppure coloranti idro- e liposolubili.

Un ulteriore oggetto della presente invenzione sono i pigmenti rossi di Monascus resi insolubili per precipitazione dei polichetidi solubili con i procedimenti (c), (d), (e) e (f).

Un oggetto inventivo è anche rappresentato dalle composizioni cosmetiche contenenti melanine e pigmenti vegetali, presenti in quantità tra 0,001 e 30% in peso, preferibilmente tra 0,1 e 5% in peso, eventualmente in combinazione con altri pigmenti
30 vegetali, la restante parte costituita da ingredienti cosmeticamente accettabili.

Gli ingredienti cosmeticamente accettabili includono ad esempio: acqua, alcoli, addensanti, conservanti, sostanze grasse, emollienti, filtri solari, anti-schiuma, agenti idratanti, stabilizzanti, antiossidanti, sequestranti, addensanti polimerici anionici, cationici, nonionici o anfoterici, propellenti, agenti alcalinizzanti o acidificanti.

5 Una varietà di applicazioni cosmetiche delle melanine e pigmenti vegetali della presente invenzione sono facilmente praticabili da un esperto del settore cosmetico.

Gli esempi seguenti illustrano in maniera preferenziale l'invenzione, non essendo intesi a limitarne gli scopi.

Esempi 1-18 - Melanine vegetali da flavonoidi e antociani

10 In un pallone con gorgogliatore d'aria (500 ml), sono posti 10 g di monomeri, 90 ml di acqua e 10-14 ml di NaOH 30% (a seconda del peso eq. dei monomeri).

La miscela sviluppa rapidamente colore per formazione di fitomelanine ad assorbimento esteso nell'UV-visibili (220-700 nm), variabile in base alla composizione dei monomeri, al tempo di reazione e alle eventuale Modifiche (*).

15 L'assorbimento delle fitomelanine é misurabile spettrofotometricamente da soluzioni di circa 4 mg in 100 ml di NaOH 0.1 N a 200-700 nm in cuvetta da 1 cm, come illustrato dagli esempi rappresentativi nel DISEGNO allegato.

L-dopa purificato (qualità BP 93) dalla Mucuna di provenienza cinese è utilizzata in tutti gli esperimenti come monomero eumelanico delle fitomelanine miste.

20 Modifiche (*) al metodo generale sopra descritto possono includere:

i) Uso di catalizzatori metallici pro-ossidanti (Fe, Cu, Co, e altri metalli di transizione). negli esempi per aggiunta di rame solfato 0,5-1 mM/l, fornendo un tono più scuro.

ii) Uso di perossidi organici ed inorganici, negli esempi realizzata per aggiunta progressiva di 50 ml/l di H₂O₂ 20-35 vol., dando fitomelanine dalla colorazione tenue.

25 iii) Uso di ammoniaca in luogo della soluzione alcalina sodico o potassica, negli esempi eseguendo la reazione in soluzione ammoniacale 2,2-2,5 N.

iv) Uso dell'acido borico o dei suoi sali, con effetto di blocco della polimerizzazione per formazione di esteri ciclici inattivi, negli esempi per aggiunta di 2 eq. di acido borico.

30 I risultati della polimerizzazione ossidativa di 10 g di flavonoidi in 100 ml di NaOH 0,8-1,2 N sono illustrati nella Tabella I.

TABELLA I

6

	Monomeri di Polifenoli vegetali (PV)	PV / L-dopa in peso (g+g)	in moli (mol:mol)	Tempo di reazione (ore)	Modi_ fiche (*)	Colore ottenuto (indicativo)	Esem_ pio n°
5	(a) Flavanoli e OPC	10+0	100:0	12	(iv)	rosso porpora	1
	"	9+0,9	6:1	24	-	rosso scuro	2
	"	8+2	5:2	18	-	rosso-marrone	3
	"	6,1+3,8	1:1	12	-	marrone	4
10	(a-bis) Flavanoli gallici	10+0	100:0	12	-	rosso porpora	5
	"	10+0	1:1	12	(ii)	rossiccio spento	6
	(b) Enocianina mix	10+0	100:0	20	-	arancio spento	7
	"	10+0	100:0	20	(iii)	marrone-rosso	8
	"	9+1,1	4:1	20	-	rosso-marrone	9
15	"	4+4	1:4	24	-	aranciato scuro	10
	(c) Esperidina	10+0	100:0	12	-	giallo oro	11 (§)
	"	7,8+2,1	1:1	36	-	giallo arancio	12 (§)
	(c") Naringina	10+0	100:0	12	-	giallo oro	13 (§)
	"	7,8+2,2	1:1	24	-	giallo arancio	14 (§)
20	(d) Quercetina	10+0	100:0	12	-	marrone-rosso	15
	"	7,7+2,2	2:1	22	-	rosso-nerastro	16
	(d") Rutina	10+0	100:0	12	-	marrone-ocra	17
	"	7,5+2,3	1:1	22	-	marrone scuro	18
25	(a) Flavanoli: catechine e OPC (circa 1:1 p/p, da vinacciolo); 90%; Centroflora Ltd (Sao Paulo, Brasile). PM medio = 290, calcolato come catechina.						
	(a-bis) Flavanoli gallici: catechina, gallocatechina, gallocatechina gallato, catechina gallato; (da té verde); 95%; Xinguang Ind. Prod. (Sichuan, Cina). PM=306 come gallocatechina.						
30	(b) Enocianina mix: Antocianine, Flavandioli, Flavanonoli, Flavoni (antocianine, diidroquercetina, miricetina, luteolina; da vinaccia), 50%; Aldeina/R® da Enocianina Fornaciari Srl (RE, Italia). PM medio = 338.7 come delfinidina.						

Chelberti

^(c) Flavanoni: ^(c') Esperidina (PM = 610.5), ^(c'') Naringina (PM = 580.5); origine: agrumi; $\geq 80\%$ (esperidina) ; $\geq 95\%$ (naringina); Freeman Industries Inc. (New York, NY, USA).

^(d) Flavonoli: ^(d') Quercetina 2H₂O (PM = 338), ^(d'') Rutina 3H₂O (PM = 664.5); $\geq 99\%$ (quercetina), $\geq 95\%$ (rutina); Austin Chem Co Inc. (Buffalo Grove, IL, USA).

5 (§) Gli esempi 12-15 non costituiscono casi di melanine vegetali vere e proprie per assenza di sistemi orto-difenolici in grado di polimerizzare via intermedi o-chinonici.

Esempi 19-31 - Fitomelanine da sistemi diidrossibenzenici

Il procedimento degli Esempi 1-19 e relative Modifiche (*) sono applicate su 10 g di difenolici naturali in soluzione alcalina, a dare fitomelanine come da Tabella II.

10 TABELLA II

	Monomeri di Polifenoli vegetali (PV)	PV / L-dopa		Tempo di reazione (ore)	Modi_ fiche (*)	Colore ottenuto (indicativo)	Esem_ pio n°
		in peso (g+g)	in moli (mol:mol)				
15	^(e) Idrossitirosolo	10+0	100:0	24	-	porpora scuro	19
	^(f) Acido gallico	10+0	100:0	24	-	verde-marrone	20
	^(g) Acido proto_ catechico	7+3 4,3+5,4	3:1 1:1	12 16	(iv) (iv)	giallastro terra di siena	21 22
20	^(h) Aledeide protocatechica	8,1+1,9 4,2+6	3:1 1:1	24 48	- (i)	marrone-scuro marrone-nero	23 24
	⁽ⁱ⁾ Pirocatechina	10+0	100:0	24	-	nero verdastro	25
	"	7,7+2	2:1	24	-	ocra-marrone	26
	^(j) Idroquinone	8,2+1,8	4:1	24	-	marrone-nero	27
25	"	5+4,6	2:1	24	(i)	marrone scuro	28
	^(k) Diidrossina_ ftalene	8,4+2 4,5+5,4	5:1 1:1	12 24	- (ii) (iii)	giallo-oro scuro giallo-verdastro	29 30
	^(l) Acido tannico	10+0	100:0	24	-	verdastro scuro	31

30 ^(e) Idrossitirosolo (PM = 168); $> 98\%$; Istituto di Scienze Farmac., Univ. di Milano (I).

^(f) Acido gallico H₂O (PM = 188); $> 99\%$; Fluka AG (Buchs, CH).

3

^(g) Acido protocatechico (PM = 154), ^(h) Aledeide protocatechica (PM = 138); > 98%; Ubichem Plc (Eastleigh, UK).

⁽ⁱ⁾ Pirocatechina, ⁽ⁱ⁾ Idroquinone (PM = 110); 99%; Borregard SpA (Ravenna, I).

^(k) Diidrossinaftalene (PM = 160); ^(l) Acido tannico; > 90%; Fluka AG (Buchs, CH)

5 Esempi 31-37 ed Esempi Comparativi 1-3 C - Eumelanine da precursori eumelanici

10 g di precursori eumelanici in 100 ml di NaOH 1 N sono soggetti a polimerizzazione ossidativa. I risultati sono illustrati in Tabella III.

TABELLA III

10	Precursore eumelanico	Tempo di reazione (ore)	Modifiche alla reazione	Colore ottenuto	Esempio n°
	⁽ⁱ⁾ L-dopa BP93	24	-	marrone	32
	“	24	(i)	marrone scuro	33
15	“	24	(ii)	beige chiaro	34
	“	12	(iii)	marrone	35
	^(m) L-dopa estratto al 95%	16	-	marrone scuro	36
	⁽ⁿ⁾ L-dopa estratto al 91,7%	12	-	marrone scuro	37
	^(o) DL-dopa	24	-	marrone chiaro	1 C
20	^(p) 5,6-Diidrossindolo	24	-	nero-marrone	2 C
	^(q) Dopamina	24	-	marrone scuro	3 C

^{(l), (m), (n)} L-dopa BP93; 95%; 91,7%. (PM = 197); Taiye Co. (Kunshan, Cina).

^(o) DL-dopa (PM = 197); > 98%; Fluka AG (Buchs, CH).

25 ^(p) 5,6-diidrossindolo (PM = 149); > 98%; Istituto di Scienze Farmac., Univ. Milano (I).

^(q) Dopamina HCl (PM = 190); > 99%; Recordati Srl (Milano, Italia).

Esempi 37-42 - Fitomelanine “miste”

10 g di polifenoli vegetali in 100 ml di NaOH 0,8-1,2 N sono soggetti ad autopolimerizzazione ossidativa in aria, a dare fitomelanine come da tabella IV.

30 TABELLA IV – Eumelanine miste (in assenza di precursori eumelanici)

	Precursore polifenolico vegetale (I)	Precursore polifenolico vegetale (II)	Rapporto molare (I):(II)	Tempo di reazione (ore)	Colore ottenuto	Esempio n°
5	^(h-bis) Aledeide prot	^(d) Rutina	3:1	24	marrone-nero	38
	^(d) Quercetina	^(d) Rutina	1:1	12	rosso-bruno	39
	^(d) Quercetina	^(b) Enocianina	1:1	24	marrone rossastro	40
	^(k) Diidrossinanaftalene	^(d) Quercetina	1:2	12	aranciato scuro	41
	^(d) Quercetina	⁽ⁱ⁾ Pirocatechina	1:1	12	rosso-bruno	42

10

NB: per i simboli in apice vedere gli Esempi precedenti.

Esempio 43-46 - Pigmenti melanici solidi per precipitazione a) con HCl b) con alcol etilico c) come sale di Mg d) come sale di Zn su allumina

- Le melanine degli Esempi 1-52 sono precipitate e coprecipitate - a dare pigmenti dalle tonalità corrispondenti alle melanine di partenza - mediante le 4 modalità di seguito:
- 15 a) Una porzione di 10 ml delle soluzioni delle fitomelanine degli Esempi 1-52 è addizionata con HCl 3N fino a pH 2-4, il precipitato è lavato, filtrato, essiccato e macinato.
- b) Un'altra porzione di 10 ml è addizionata con 20 ml di etanolo 96%, il precipitato è filtrato, lavato, essiccato e macinato, con resa quantitativa.
- 20 c) Una terza porzione di 10 ml porzione diluita in 10 volumi di acqua, è addizionata sotto agitazione 20 ml di magnesio cloruro 1 M, e il precipitato lavato con acqua. Per essiccamento si ottiene un pigmento finemente suddiviso, posto in essiccazione.
- d) Una quarta porzione di 10 ml è posta in una sospensione con 4 g di allumina, e trattata a caldo con 20 ml di zinco cloruro 1M, si neutralizza con NaOH 1N a pH 7. Il precipitato è filtrato, lavato, asciugato e macinato.
- 25

Esempio 47 - Sintesi enzimatica

- Seguendo il procedimento descritto da Ito, S., Biochimica et Biophysica Acta 883 (1986) 155-161, si sciolgono 20 mg di tirosinasi da fungo a 2200 U/mg di attività di polifenolossidasi (Sigma, St.Louis, USA), 4 g di L-dopa, 6,6 g di quercetina in 800 ml di tampone sodio-fosfato pH 6.5, ponendo la soluzione sotto gorgogliamento in aria per 20 ore. Al termine della reazione si ottiene una fitomelanina bruno-rossastra.
- 30

Esempio 48 - Sintesi della melanina vegetale direttamente su supporto inerte

In un reattore a tre colli si caricano 4 g di L-dopa, 6,6 g di quercetina, 12 ml di NaOH 1N, 300 ml d'acqua, e si sospendono 20 g di caolino.

La miscela è agitata e posta sotto gorgogliamento d'aria per 24 ore, al termine si acidifica con HCl 1N fino a pH 4-5, si filtra lavando il filtrato con acqua acidulata. Il precipitato è quindi seccato in stufa e macinato, a dare un pigmento color mattone scuro.

Esempi 49-57 - Pigmento melanico solido su carbone vegetale

Ad una sospensione di carbone vegetale in acqua (Carbo vegetabilis grado alimentare) si aggiungono diverse quantità della Melanina dell'Esempio 32 e precipitanti, eventualmente precedute da un'aggiunta di NaOH 1N, come illustrato nella Tabella IV:

TABELLA IV

Melanine da L-dopa coprecipitate su carbone vegetale									
Esem_	Carbo	Mela_	Mela_	Mela_		NaOH	Precipitante utilizzato		
pio	veget.	nina	nina/C	nina		1 N			
n°	(g)	(ml)	(p:p)	(%)	pH	(ml)	(ml)	tipo e concentrazione	
49	3	1	1:3	20	5-6	-	10	ZnCl ₂ 1,25N	
50	3	1	1:3	25	4-5	-	4,5	HCl 3N	
51	3	1	1:3	21	5-6	-	10	CaCl ₂ 1M	
52	2	2	1:1	38	7	10,1	20	AlK(SO ₄) ₂ 0,2 M a caldo	
53	2	1	1:2	15	7	1	20+6,5	" + CaCl ₂ 1M a caldo	
54	1	0,3	1:3	8,5	7	50	25	ZnCl ₂ 1,25N a caldo	
55	1	0,3	1:3	11,4	8	30	15	ZnCl ₂ 1,25N a caldo	
56	1	0,3	1:3	13	6-7	31	60	AlK(SO ₄) ₂ 0,2 M a caldo	
57	0,3	0,3	1:1	28	7	8,5	17	AlK(SO ₄) ₂ 0,2 M a caldo	

, filtrando si ottengono i pigmenti melanici di tonalità da bruno-grigio a nero.

Esempio 58 - Pigmento vegetale supportato su allumina

Si sciolgono 10 g di rutina in 90 ml di acqua e 13 ml di NaOH 10N, si aggiunge 1 l di una sospensione acquosa di Al₂O₃ (80 g/l) in porzioni, alternate da HCl 3N tale da

}

mantenere pH circa 9. Al termine si scalda a 50°C per 20', quindi si raffredda e neutralizza (pH 6-7) con ulteriore HCl. Il pigmento giallo oro è filtrato, lavato, essicato e macinato.

Esempio 59 - Pigmento vegetale, sale di Ba

Si sciolgono 10 g di flavanoli gallici (estratto da tè 95%) in 11 ml di NaOH 10 N, si aggiungono 70 ml di una BaCl₂ sol. 10% in porzioni alternate a NaOH 1 N per mantenere pH c.a. 9. La soluzione è neutralizzata con HCl, ottenendosi un precipitato giallo-arancio.

Esempio 60 - Pigmento vegetale, sale di Ca-Al

Si sciolgono 10 g di naringina in 90 ml di acqua e 10 ml di NaOH 10N, si diluisce a 500 ml con acqua e riscalda a 70° C, quindi si procede alla contemporanea aggiunta di 15 g di NaAlO₂ (o 25 ml di sol. 600 g/l) e con NaOH 1N tale da mantenere pH circa 11.

La sospensione è addizionata in 10' con 40 ml di CaCl₂ 1 M, dopo 20' a 70° C si procede all'acidificazione graduale con HCl a pH 9,5 e quindi in 30' a pH 7. Quando il pH si è stabilizzato, e dopo altri 60' a 70° C si filtra, lava, asciuga e macina.

Esempio 61 - Pigmento vegetale, sale di Zn su allumina

Si sciolgono 10 g di rutina in 300 ml di NaOH 0,4 N, si sospendono 80 g di allumina, scaldando a 70° C, quindi si aggiungono 200 ml di ZnCl₂ 1 M, scaldando per 30'. La soluzione è neutralizzata con NaOH, quindi si filtra, lava, asciuga e macina, ottenendo un pigmento di colore giallo molto intenso.

Esempio 62 - Pigmento vegetale, sale di Ca su allumina

Si effettua lo stesso procedimento dell'Esempio 61 utilizzando 200 ml di CaCl₂ 1M in luogo del ZnCl₂, ottenendo pigmento un giallo oro.

Esempio 63 - Pigmento vegetale, sale di Al su mica-titanio, con effetto perlato

6 g di mica lamellare ricoperta di TiO₂ (10-50 um, TiO₂ 28%, mica 72%) è sospesa in 0,2 l di acqua e riscaldata, sotto mescolamento a 75° C. Si aggiunge NaOH dil. in modo da ottenere pH 8, e in contemporaneamente si aggiungono, in 1 ora, 0,85 g AlCl₃.6H₂O in 35 ml di acqua, e NaOH dil., tale da mantenere pH 8 per l'intero periodo.

La sospensione è mescolata per un'ora, si filtra e si lava il precipitato, quindi sospeso in 10 ml d'acqua, alla quale si addiziona 100 ml di quercetina sol. 1% in NaOH 0,1N, scaldando a 90° C sotto agitazione. Dopo circa 30', si filtra, lava e asciuga, ottenendo un pigmento arancio perlescente.

5

Esempio 64 - Pigmento vegetale da Monascus, sale di Al

Si sciolgono 10 g di rosso Monascus idrosolubile, FRP 4000 (Allok GmbH, Amburgo, Ger) in 1 l di acqua e si aggiungono 1 l di una soluzione di $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2$ 0,2 M, quindi si scalda per 10' a 80-90° C.

- 5 Si aggiunge NaOH 10N a pH 8-9, agitando per 60' a 50-60°C, quindi si filtra, lava, asciuga e macina, ottenendo un prodotto rosso mattone.

Esempio 65 - Pigmento vegetale da Monascus, sale di Zn

Si segue il procedimento dell'Esempio 63 sostituendo la soluzione di $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2$ con 200 ml di soluzione di ZnCl_2 1M, ottenendo un pigmento rosso vivo.

10 Esempi Applicativi 1-3 - Ombretto per gli occhi

100 g di emulsioni (usate per il trucco delle palpebre, in varie tonalità) contengono:

	Cera di carnauba	1,1 g	1,1 g	1,1 g
	Olio di oliva idrogenato	1,9 g	1,9 g	1,9 g
15	Trietanolamina stearato	5,0 g	5,0 g	5,0 g
	PEG-1000	13,0 g	13,0 g	13,0 g
	Magnesio silicato	0,7 g	0,7 g	0,7 g
	Conservanti	0,5 g	0,5 g	0,5 g
	Titanio biossido (rutilo)	3,0 g	3,0 g	3,0 g
20	Mica ricoperta di titanio biossido	15,0 g	15,0 g	15,0 g
	Soluzione 10% della Melanina dell'Esempio 9	3,5 g	-	-
	Soluzione 10% della Melanina dell'Esempio 33	0,5 g	2,9 g	-
	Soluzione 10% della Melanina dell'Esempio 42	-	-	3,2 g
	Sodio polimetacrilato	0,5 g	0,5 g	0,5 g
25	Acqua deionizzata qb	a 100 g	a 100 g	a 100 g

Esempi Applicativi 4-6 - Mascara nero

100 g di emulsioni (usate come mascara) contengono:

30	Trietanolamina stearato	15,0 g	15,0 g	15,0 g
	Cera di carnauba	5,0 g	5,0 g	5,0 g

}

Carla Berti

16

	Paraffina	3,0 g	3,0 g	3,0 g
	Burro di karitè	10,0 g	10,0 g	10,0 g
	Idrolizzato di cheratina	2,0 g	2,0 g	2,0 g
	Carbossimetil cellulosa	0,3 g	0,3 g	0,3 g
5	Diossido di titanio (rutilo)	2,0 g	2,0 g	2,0 g
	Melanina su C vegetale dell'Esempio 51	4,0 g	-	-
	Melanina su C vegetale dell'Esempio 55	-	5,0 g	-
	Melanina su C vegetale dell'Esempio 56	-	-	6,5 g
	BHT	0,4 g	0,4 g	0,4 g
10	Acqua demineralizzata qb	a 100 g	a 100 g	a 100 g

Esempi Applicativi 7-9 - Fondotinta (foundations)

100 g di emulsioni (usate come fondotinta) contengono:

15	Trietanolamina stearato	2,5 g	2,5 g	2,5 g
	Glicerol mono- e distearato	0,4 g	0,4 g	0,4 g
	Magnesio silicato	1,9 g	1,9 g	1,9 g
	Pigmento vegetale giallo dell'Esempio 60	3,0 g	-	-
	Pigmento vegetale giallo dell'Esempio 61	-	1,0 g	1,0 g
20	Pigmento vegetale rosso (*)	0,6 g	-	0,6 g
	Pigmento vegetale rosso dell'Esempio 64	-	0,7 g	-
	Pigmento vegetale nero dell'Esempio 51	0,3 g	0,25 g	0,35 g
	Diossido di titanio (rutilo)	10,0 g	12,0 g	13,4 g
	Miscela di PEG-6 e PEG-32	9,0 g	9,0 g	9,0 g
25	Nylon micronizzato	9,0 g	9,0 g	9,0 g
	Ciclometicone	13,0 g	13,0 g	13,0 g
	Glicole propilenico	5,0 g	5,0 g	5,0 g
	Glicerina	4,5 g	4,5 g	4,5 g
	Preservanti	0,5 g	0,5 g	0,5 g
30	Acqua demineralizzata qb	a 100 g	a 100 g	a 100 g

Claudia Ratti

(*) Monascus rosso insolubile su amido di riso, FRP 2000 (Allok GmbH, Amburgo, Ger) micronizzato con mulino colloidale, fino ad una granulometria compresa tra 1 e 10 μ m.

Esempi Applicativi 10-12 - Crema protettiva-colorante

100 g di emulsioni (utilizzate come crema corpo e viso) contengono:

5				
	Alcol cetostearilico	3 g	3 g	3 g
	Gliceride oleico poliossietilenico	5 g	5 g	5 g
	Gliceril monostearato	4 g	4 g	4 g
	2-Etilesil cocoato	2 g	2 g	2 g
10	Tocoferil acetato	0,5 g	0,5 g	0,5 g
	Ascorbil palmitato	0,1 g	0,1 g	0,1 g
	Fosfolipidi di soia (lecitina in granuli)	1 g	1 g	1 g
	Sol. 10% della Melanina dell'Esempio 4	1 g	-	-
	Sol. 10% della Melanina dell'Esempio 35	-	0,8 g	-
15	Sol. 10% della Melanina dell'Esempio 39	-	-	1,2 g
	BHT	0,1 g	0,1 g	0,1 g
	Imidazolinil urea	0,2 g	0,2 g	0,2 g
	Acqua demineralizzata qb	a 100 g	a 100 g	a 100 g

20 Esempio Applicativo 10 - Gel per capelli

100 g di gel (usato come colorante semipermanente per capelli) contengono:

	Celquat L 200	1,0 g
	Copolimero acido metacrilico/metil metacrilato 50:50	1,0 g
25	Liposoma della Melanina dell'Esempio 18 (*)	4,0 g
	Alcol etilico 96°	8,5 g
	Profumo, conservanti	qb
	Acqua demineralizzata qb	a 100 g

30 (*) ottenuta per dispersione a 20.000 rpm per 10' della sol. dell'Esempio 18 (10%), lecitina di soia (30%) ed acqua demineralizzata (60%).

2

Celine Danti

RIVENDICAZIONI

1. Melanina vegetale ottenuta mediante polimerizzazione ossidativa di uno o più precursori di origine vegetale.
- 5 2. Melanina vegetale secondo la Rivendicazione 1 dove il precursore è L-dopa estratto da fonte vegetale.
3. Melanina vegetale secondo la Rivendicazione 1 dove il precursore è un polifenolo vegetale a struttura flavonoide, catechica, antocianica o orto-diidrossibenzenica naturale scelto nel gruppo comprendente catechina, epicatechina, gallocatechina, 10 proantocianosidi, pelargonidina, cianidina, delphinidina, diidroquercetina, diidrochempferolo, miricetina, armadendrina, morina, quercetina, chempferolo, apigenina, luteolina, fisetina, fustina, idrossitirosolo, acido gallico, idrochinone, pirocatechina, acido e aldeide protocatechici, maclurina, o loro miscele.
4. Melanina vegetale secondo le Rivendicazioni 3 dove detto polifenolo vegetale è in 15 forma di O-glicoside, di estere o di etere di origine naturale.
5. Procedimento per ottenere una melanina vegetale secondo le Rivendicazioni 1-4 mediante polimerizzazione ossidativa per gorgogliamento di aria o ossigeno nella soluzione alcalina o ammoniacale dei precursori vegetali.
6. Procedimento secondo la Rivendicazione 5 che prevede inoltre l'aggiunta di 20 sali di rame, nickel, ferro, cobalto, di acido borico o dei suoi sali, di perossidi organici ed inorganici, o combinazione di questi.
7. Composizione cosmetica contenente melanine vegetali secondo le Rivendicazioni 1-5 ed ingredienti cosmeticamente accettabili.
8. Composizione cosmetica secondo la Rivendicazione 7 in forma di emulsione, 25 pomata, lozione, gel, detergente fluido, schiuma aerosol, o stick, detta composizione intesa per applicazione quale crema protettiva, filtro solare, colorante cutaneo (tanning), o bagno schiuma, o per uso tricologico come gel colorante, lozione, o shampoo.
9. Melanina vegetale in forma solida ottenuto per precipitazione delle melanine 30 secondo una o più delle Rivendicazioni 1-6 per trattamento con acidi, per diluizione con solventi organici idrosolubili, per aggiunta di cationi bivalenti, per adsorbimento

5

su carbone vegetale o su substrati polimerici inerti o su ossidi ed idrossidi metallici, per formazione di lacche con alluminio e/o cationi bivalenti, o combinazione di questi.

10. Pigmento vegetale solido ottenuto per precipitazione di un precursore delle melanine vegetali dalle loro soluzioni alcaline non polimerizzate.

5 11. Pigmento vegetale solido secondo la Rivendicazione 10 dove detto precursore è un polifenolo vegetale a struttura flavonoide, catechica, antocianica o ortodiidrossibenzenica naturale scelto nel gruppo comprendente catechina, epicatechina, galocatechina, proantocianosidi, pelargonidina, cianidina, delfinidina, diidroquercetina, diidrochempferolo, miricetina, armadendrina, morina, quercetina, 10 esperetina, naringenina, chempferolo, apigenina, luteolina, fosetina, fustina, acido gallico, maclurina, loro glicosidi, esteri ed eteri, o miscele di questi.

12. Pigmento vegetale solido secondo la Rivendicazione 11 ottenuto per coprecipitazione con cationi bivalenti, per adsorbimento su substrati polimerici inerti, per formazione di lacche di alluminio e/o cationi bivalenti, o combinazione di questi.

15 13. Pigmento vegetale solido contenente polichetidi da *Monascus* spp. supportato su amido di riso in forma micronizzata, avente una dimensione media delle particelle compresa tra 0,1 e 100 μ m.

14. Pigmento vegetale solido ottenuto dai polichetidi solubili da *Monascus* spp. per precipitazione con cationi bivalenti, per adsorbimento su substrati polimerici inerti, per 20 formazione di lacche di alluminio e/o cationi bivalenti, o combinazione di questi.

15. Composizione cosmetica contenente melanine o pigmenti vegetali secondo una o più delle Rivendicazioni da 9 a 14 ed ingredienti cosmeticamente accettabili.

16. Composizione cosmetica secondo la Rivendicazione 15 in forma anidra o acquosa, emulsione o pasta, stick o matita, detta composizione intesa per il trucco del 25 viso (makeup) applicabile alla pelle del viso, labbra, palpebre, ciglia e contorno occhi.

17. Composizione cosmetica secondo ciascuna delle Rivendicazioni 7, 8, 15, e 16, detta composizione contenente inoltre uno o più pigmenti naturali scelti tra antrachinoni, naftochinoni, carotenoidi, xantofille, clorofille, caramello, e indaco.

18. Composizione cosmetica contenente melanine e pigmenti vegetali secondo una 30 o più delle Rivendicazioni precedenti, detta composizione avente proprietà protettive della radiazione UV e dallo stress ossidativo nei confronti di pelle, mucose e capelli.



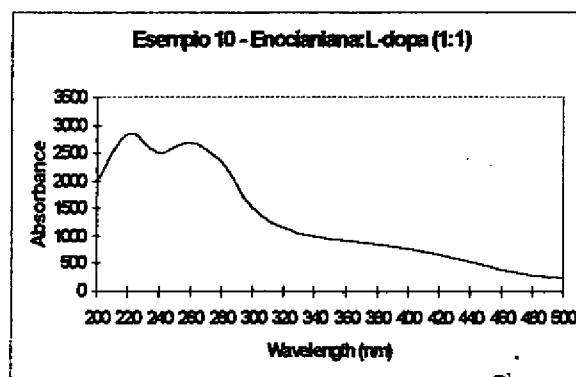
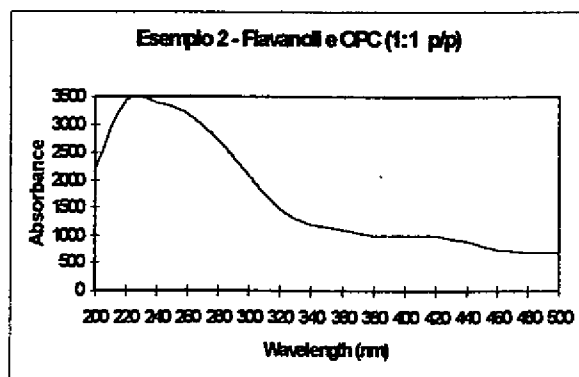
6

Checco Ratti

200 1/1

DISEGNO

SPETTRI UV-VISIBILE DI MELANINE VEGETALI



M199A001896

