

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101188995 B

(45) 授权公告日 2012.02.08

(21) 申请号 200680006566.9

1 页.

(22) 申请日 2006.01.23

CN 1346260 A, 2002.04.24, 权利要求 1-2、4-5、15-21, 说明书第 4 页最后一段至第 5 页第 2 段, 第 19 页第 1 段.

(30) 优先权数据

0501365.1 2005.01.21 GB

FR 1591570 A, 1970.05.04, 权利要求书, 说明书第 2 页第 18-26 行.

(85) PCT 申请进入国家阶段日

2007.08.30

US 2003/0206972 A1, 2003.11.06, 权利要求 1、5、25.

(86) PCT 申请的申请数据

PCT/GB2006/000220 2006.01.23

JP 7-224029 A, 1995.08.22, 摘要.

(87) PCT 申请的公布数据

W02006/077433 EN 2006.07.27

C.A. Llewellyn\*. A UV absorbing compound in HPLC pigment chromatograms obtained from icelandic Basin phytoplankton. Mar Ecol Prog Ser. 1997, 158283-287.

(73) 专利权人 普罗马公司

地址 挪威斯纳罗亚

审查员 豆波建

(72) 发明人 盖尔·约翰森 佩尔·阿格·利萨

克里斯廷·阿莫特

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

代理人 蔡胜有 刘晓东

(51) Int. Cl.

A61K 8/97(2006.01)

A61K 8/34(2006.01)

A61Q 17/04(2006.01)

(56) 对比文件

JP 7-224278 A, 1995.08.22, 摘要, 说明书第

权利要求书 3 页 说明书 18 页 附图 4 页

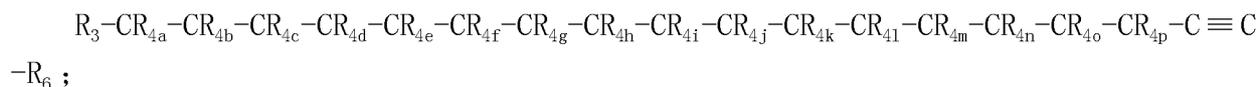
(54) 发明名称

包含类胡萝卜素的遮光组合物

(57) 摘要

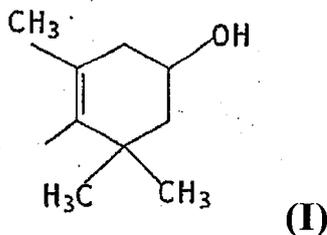
本发明涉及使用类胡萝卜素化合物优选硅甲藻黄素、硅藻黄素和 / 或墨角藻黄素来处理或预防在人或非人动物上的辐射影响的方法, 本发明还涉及光防护组合物, 以及它们用于制备光防护剂或光保护产品的用途。

1. 一种光防护组合物,其包含下式的类胡萝卜素化合物、或其药物上可接受的衍生物或盐、以及一种或多种药物上可接受的赋形剂和 / 或稀释剂:

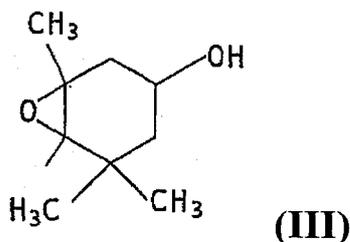


其中

$R_3$  和  $R_6$  可以相同或不同,它们分别为选自如下的环状基团:



和



$R_{4a} \sim R_{4p}$  中每一个为  $R_4$  基团,其中  $R_4$  为任选地取代的烷基、氢原子、氧原子或羟基,其中如果  $R_{4a} \sim R_{4p}$  中任一个为氧原子,则与该羰基相邻的碳原子具有两个  $R_4$  基团,其各自选自任选地取代的烷基、氢原子或羟基,

其中所述衍生物选自顺式-和反式-异构体,天然存在的开环、脱和降类胡萝卜素衍生物,环氧衍生物,降解产物或脱水产物、前药以及所述类胡萝卜素的低聚糖、脂肪酸、脂肪醇、氨基酸、肽或蛋白质缀合物。

2. 权利要求 1 的光防护组合物,其中  $R_{4a}$ 、 $R_{4b}$ 、 $R_{4d}$ 、 $R_{4e}$ 、 $R_{4f}$ 、 $R_{4h}$ 、 $R_{4i}$ 、 $R_{4j}$ 、 $R_{4k}$ 、 $R_{4m}$ 、 $R_{4n}$ 、 $R_{4o}$  为氢原子且  $R_{4c}$ 、 $R_{4g}$ 、 $R_{4l}$ 、 $R_{4p}$  为甲基基团。

3. 权利要求 1 或 2 的光防护组合物,其中  $R_6$  为环状基团 I。

4. 权利要求 1 的光防护组合物,其中所述类胡萝卜素化合物为 5,6-环氧-7',8'-二脱氢-5,6-二氢- $\beta$ , $\beta$ -胡萝卜素-3,3'-二醇或 7',8'-二脱氢- $\beta$ , $\beta$ -胡萝卜素-3,3'-二醇或其药物上可接受的衍生物或盐。

5. 权利要求 1 的光防护组合物,其中所述类胡萝卜素化合物为硅甲藻黄素或硅藻黄素或其药物上可接受的衍生物或盐。

6. 权利要求 1、2、4 和 5 中任一项的光防护组合物,其中所述药物上可接受的衍生物为顺式-和反式-异构体,天然存在的开环、脱和降类胡萝卜素衍生物,环氧衍生物,降解产物和脱水衍生物、或前药。

7. 权利要求 6 的光防护组合物,其中所述降解产物为硅甲藻色素。

8. 权利要求 1、2、4 和 5 中任一项的光防护组合物,其中在所述组合物中使用的所述类

胡萝卜素化合物被提纯到高于 30% 的纯度。

9. 权利要求 1、2、4 和 5 中任一项的光防护组合物,其中所述类胡萝卜素化合物得自或源自天然存在的源。

10. 权利要求 9 的光防护组合物,其中从属于浮游植物类的硅藻类、沟鞭藻类、定鞭金藻类、裸藻类和金藻类的微观藻类分离所述类胡萝卜素化合物。

11. 权利要求 1、2、4 和 5 中任一项的光防护组合物,其中所述类胡萝卜素化合物是合成产生的。

12. 权利要求 1、2、4 和 5 中任一项的光防护组合物,其中所述类胡萝卜素化合物在组合物中与另外的遮光化合物组合。

13. 权利要求 12 的光防护组合物,其中所述组合物含有如权利要求 1 ~ 11 中任一项所限定的两种或更多种类胡萝卜素化合物。

14. 权利要求 1、2、4 和 5 中任一项的光防护组合物,其中所述组合物处于溶液、悬浮液、凝胶、乳液、膏或霜的形式。

15. 权利要求 1、2、4 和 5 中任一项的光防护组合物,其中所述组合物适于局部施用。

16. 权利要求 1、2、4 和 5 中任一项的光防护组合物,其中将所述组合物配制为化妆品、护肤品或护发品,并任选地包含另外的遮光化合物。

17. 权利要求 1、2、4 和 5 中任一项的光防护组合物,其中所述组合物适于和一种或多种在处理或预防辐射影响中有效的活性成分结合施用。

18. 权利要求 1、2、4 和 5 中任一项的光防护组合物,其中所述组合物适于局部施用到人的皮肤或头发上。

19. 权利要求 1、2、4 和 5 中任一项的光防护组合物,其中所述组合物对波长为 400 ~ 500nm 的光辐射是光防护的。

20. 如权利要求 1、2、4 和 5 中任一项所限定的光防护组合物或类胡萝卜素化合物在制备化妆品制剂中的用途。

21. 如权利要求 1、2、4 和 5 中任一项所限定的光防护组合物或化合物在制备用于处理或预防在人或非人动物上的辐射影响的药物中的用途。

22. 如权利要求 21 的用途,其中所述药物适于和一种或多种在处理或预防辐射影响中有效的活性成分结合施用。

23. 权利要求 21 的用途,其中所述药物适于局部施用到人的皮肤或头发上。

24. 一种制备光防护或光保护产品的方法,包括将如权利要求 1 ~ 19 中任一项所限定的光防护组合物或化合物应用于所述产品,或者用所述化合物或组合物浸渍所述产品。

25. 一种光防护或光保护产品,其可通过权利要求 24 的方法得到。

26. 一种从含有如权利要求 1 所限定的类胡萝卜素的藻类中提纯所述类胡萝卜素的方法,包括以下步骤:

(i) 使藻类与 pH 值调到 8 ~ 12 的水混合;

(ii) 加入醇,使最终水与醇的比为 0.2 ~ 1.5 : 1.0;

(iii) 以 0.75 ~ 1.5 : 1.0 的水 - 醇与有机溶剂比,用液体有机溶剂(有机相)萃取所述醇 - 水混合物(水相);

(iv) 任选地在低于 10°C 下冷却所述有机相超过 5 分钟;和

(v) 收集所述水相和 / 或有机相, 并由其提纯类胡萝卜素。

27. 权利要求 26 的方法, 其中所述醇为乙醇, 所述有机溶剂为庚烷。

## 包含类胡萝卜素的遮光组合物

### 技术领域

[0001] 本发明涉及包含源自藻类化合物硅甲藻黄素、硅藻黄素、墨角藻黄素和相关化合物的组合物。优选地,该组合物为药物或化妆品组合物,尤其是具有光防护特性的组合物,例如遮光剂,其用于预防由将身体外层或表面例如皮肤和头发暴露于太阳光谱的 UV 和可见光谱区造成的损害。

### 背景技术

[0002] 阳光由电磁辐射的连续光谱组成,所述电磁辐射分为三个主要的波长区:紫外(UV)、可见和红外。UV 辐射包含 200 ~ 400nm 的波长,而可见光为 400 ~ 700nm。紫外光谱还进一步分为三个区段,分别具有截然不同的生物效应:UVA(320 ~ 400nm)、UVB(280 ~ 320nm) 和 UVC(200 ~ 280nm)。

[0003] 充分地记载了阳光对皮肤的破坏作用,多方面的有害作用包括皮肤灼伤、过早老化和皱纹(光老化(dermatoheliosis)),恶性前损害(阳光角化病)的发展和各种恶性肿瘤。

[0004] 虽然平流层臭氧层有效地阻止 UVC 射线达到地球表面,但是 UVA 和 UVB 辐射以足以对皮肤和眼睛造成重大生物后果的量到达地球表面。到达地球表面的 UV 辐射包含 90 ~ 99% 的 UVA 和 1 ~ 10% 的 UVB。已经广泛地记载了 UVB 的损害作用。这些高强度射线的短期作用是红斑和灼伤。从较长期来看,皮肤癌的风险是显著的,这是因为 245 ~ 290nm 的 UV 辐射被 DNA 最大地吸收,并且能够在二聚体形式的嘧啶附近的 DNA 中直接导致诱发光化产物或损害。

[0005] UVA 射线不直接被 DNA 吸收,但是可以通过形成能够与细胞蛋白质和 DNA 反应的自由基物质导致间接的有害影响。UVA 射线的强度较低;它们透过皮肤表面并导致长期损害,例如过早地形成皱纹和光老化,并认为是致癌的。皮肤癌是最普通的癌症类型,在美国每年大约发生 800000 例。大部分皮肤癌或者是基底细胞类型的或者是鳞状类型的,并倾向于缓慢地生长和扩散。恶性黑色素瘤是一种更加严重形态的皮肤癌形式,现在每年增加约 4%。

[0006] 太阳光谱中诱发黑色素瘤的的辐射的确切波长是未知的,但是可获得的有限数据表明 UVR 光谱是最重要的,尤其是 UVB 但也可能是 UVA 和可见的蓝光。随着逐渐意识到 UVA 损害加剧了黑色素瘤和其它肿瘤的风险,显然需要广泛的光谱保护。测量遮光剂功效的传统方法是防晒因子(SPF)值,其被定义为:与未处理的皮肤相比,在灼伤前皮肤可以忍受的延长地暴露于 UVB 射线。几项研究提到 SPF 因子给出的关于由 UVA 和可见的蓝光引起的伤害的潜在危险的安全假象。

[0007] 鉴于遮光剂使用方便,所以一直认为它们是保护免于太阳光线的主要组分。遮光剂通过吸收、反射或散射太阳光线而起作用,并由此或者遮蔽皮肤免于太阳光线或者将光能转换为无害的能量形式。可以将防晒剂粗略地分为化学和物理滤光剂。物理遮光剂为无机微粒,其通过反射或散射太阳光线作为广谱光防护剂。广泛使用的物理阻挡物为氧化锌

和二氧化钛。已知它们提供良好的光防护,但是在化妆品中缺少吸引力;它们不被皮肤吸收并作为白色层留在皮肤表面上。

[0008] 化学遮光剂被皮肤吸收,通过吸收由太阳发射的射线并作为振动能(热)重新发射该光能来发挥其遮光活性。普通的化学遮光剂包括 PABA(对氨基苯甲酸)及其衍生物、肉桂酸酯、水杨酸酯、邻氨基苯甲酸酯、樟脑衍生物、苯并咪唑、三嗪酮、氰双苯丙烯酸辛酯(octocrylene)、尿刊酸、双咪唑化物(bisimidazylate)和苯甲醚三嗪(anisotriazine)。

[0009] 对于遮光化合物,主要关注的是消费者的安全。所得的调查结果表明某些遮光化合物是潜在地光过敏的,例如 PABA,已知其在 1~2% 的人群中引起光过敏反应(Kimbrough, 1997, J. Chem. Ed., 74(1), 第 51-53 页)。虽然物理遮光剂通常认为是良好的光防护剂,但是也讨论了其安全性,这是因为通过人类成纤维细胞的体外研究表明基于太阳暴晒和二氧化钛的结合会形成羟基自由基,其导致 DNA 中的链断裂(Dunforda 等, 1997, FEBS Lett., 418, 第 87-90 页)。此外,所有这些化学物质被光分解为未知化合物且尚未研究长期的安全性影响。

[0010] 尤其需要用于评价 UVA 保护的好方法,这是因为现在还没有这种标准存在。尽管逐渐地意识到广谱保护的重要性,但是研究表明宣称具有良好 UVA 防护的市售遮光剂不足以发挥抗 UVA 射线保护作用(Haywood 等, 2003, J. Invest. Derm., 121(4), 第 862 页)。特别地,在较长波长(370~400nm)UVA 辐射中,可获得的滤光剂的保护性不足,尤其是对 400nm 以上波长的保护不足或没有保护。

[0011] 大多数市售护肤霜中的 UV 和太阳光防护化合物是合成的,并且因为消费者更愿意使用天然产品,所以对具有相同或更高功效的天然化合物的研究变得更重要。

[0012] 在高等植物、珊瑚、蓝藻和浮游植物中研究了各种有机体和天然提取物的 UV 吸收性能,但是天然遮光化合物的商业化仍然是有限的。仍需要作为在太阳光谱的 UV 和可见光范围中有效滤光的源于天然的吸光剂或遮光剂。

[0013] 令人惊奇地,证实了叶黄素组中的不连续的类胡萝卜素族为有效的 UV 和可见光过滤剂(尤其是用在动物皮肤上,特别是人类),为抗氧化剂,为金黄色和为油可溶的和稳定的。该族包含类胡萝卜素硅甲藻黄素、硅藻黄素、墨角藻黄素和它们的衍生物。

[0014] 硅甲藻黄素、硅藻黄素和墨角藻黄素为叶黄素组中的类胡萝卜素,在 10 个世界范围的重要的形成水华的浮游生物类的 50% 中发现:硅藻类(Diatoms)、沟鞭藻类(Dinoflagellates)、定鞭金藻类(Prymnesiophytes)、裸藻类(Euglenophytes)、金藻类(Chrysophytes)。墨角藻黄素也大量地存在于其它有机体中,例如海藻、raphidocyte 和褐藻类(大藻类)如墨角藻(*Fucus vesiculosus*)。

[0015] 硅藻类、沟鞭藻类和定鞭金藻类的特征在于具有在春季和夏季的高光照条件下合成大量硅甲藻黄素和硅藻黄素的能力,同时保留在峡湾、海岸区中和沿着冰边缘的浅的含盐上层中。

[0016] 这些有机体已经发展了有效的光防护机理,以最小化可能由它们暴露于过量光强度而产生的光抑制。在被光强度的突然增加激活的短期防护中,过量吸收的光能量的光防护辐射耗散被认为是重要机理。在该机理中,在称为非光化学猝灭(NPQ)的方法中,涉及叶黄素硅甲藻黄素和硅藻黄素。硅甲藻黄素位于主要的捕光(light harvesting)色素蛋白复合物(LHC)中,在此其通常接收光能并将能量送到光系统 II(PS II)中的反应中心。在

NPQ 中, 硅甲藻黄素被解环氧化 (de-epoxydized) 为硅藻黄素, 所述硅藻黄素在耗散过量光能而不是将其送到反应中心中起到活性作用。

### 发明内容

[0017] 本发明人发现硅甲藻黄素、硅藻黄素、墨角藻黄素和相关化合物作为遮光剂具有特别有用的性能, 尤其是当用于活生物体时。

[0018] 这些化合物之前没有被证实具有吸光化合物的任何功用。硅甲藻黄素和硅藻黄素尤其是罕见的类胡萝卜素, 被认为难于分离且稳定性差。特别地, 当硅甲藻黄素和墨角藻黄素同时出现在生物系统中时, 认为同时分离两种化合物是相当困难的。现在本发明人分离出了稳定形式的化合物并研究了它们的性能。惊奇地发现这些类胡萝卜素适用于吸收辐射, 尤其是用于之前忽略的蓝光, 因此在依赖于阳光吸收性质的应用中具有功效, 例如作为遮光剂。

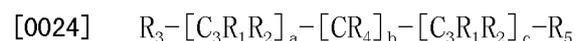
[0019] 在第一方面, 本发明提供包含类胡萝卜素或者其药物上可接受的衍生物或盐的组合物, 所述类胡萝卜素优选为叶黄素、羟基类胡萝卜素 (尤其是二羟基类胡萝卜素) 或环氧类胡萝卜素, 其中所述类胡萝卜素含有任选取代的线性不饱和的含有共轭双键的烷基链, 其中在所述链的各端被环烷基取代, 并且其中所述烷基链含有至少一个  $-C_3R_1R_2-$  基团, 其中  $R_1$  和  $R_2$  可以相同或不同且分别为氢原子、羟基或烷基, 或同与其连接的碳原子形成所述环烷基基团之一的部分或全部。

[0020] 优选地, 所述  $-C_3R_1R_2-$  基团选自下列基团之一:

[0021]  $-CR_1=C=CR_2-$ 、 $-C\equiv C-CR_1R_2-$  和  $-CR_1R_2-C\equiv C-$ , 其中, 优选地,  $R_1$  或  $R_2$  为氢, 并且其它 R 基团 (或者  $R_1$  和  $R_2$  两者) 和与其连接的碳原子为末端环烷基基团的部分或全部。

[0022] 作为替代方案, 所述的类胡萝卜素包含  $-CR_1\equiv C\equiv CR_2-$  或  $-CR_1\equiv C\equiv CR_2-$ , 其中, 仅存在任选的键之一, 根据存在的键  $R_1$  或  $R_2$  可以不存在或一起存在于末端碳原子上。

[0023] 在特别优选的方面中, 所述类胡萝卜素为下式:



[0025] 其中

[0026] a 和 c 分别为 0 ~ 2 的整数, 其中  $a+c \geq 1$ , 优选等于 1;

[0027] b 为 6 ~ 25 的整数, 尤其优选 11、13、14、16、17 或 19;

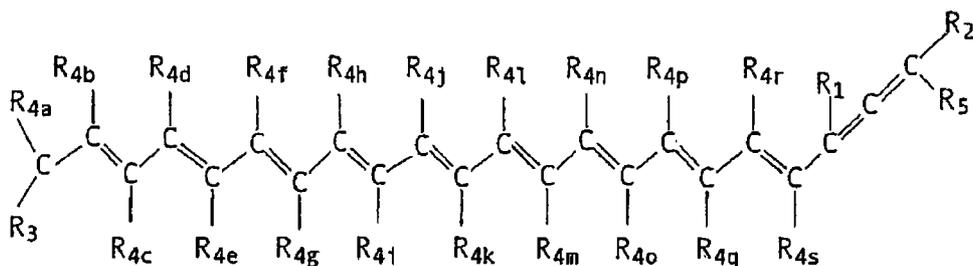
[0028]  $R_1$  和  $R_2$  如上定义;

[0029]  $R_3$  和  $R_5$  可以相同或不同, 分别为环烷基或环烷基的一部分, 并且所述环烷基的剩余部分由  $R_1$ 、 $R_2$  或  $R_4$  (或  $R_1$  和  $R_2$ ) 和与其连接的碳原子提供; 和

[0030]  $R_4$  为任选取代的烷基、氢原子、氧原子或羟基基团, 或者同与其连接的碳原子一起可以形成所述环烷基基团之一的部分或全部, 其中如果  $R_4$  为氧原子并由此提供羰基, 则邻接的碳原子具有两个  $R_4$  基团, 优选为氢原子。

[0031] 因此, 该化合物可以为下式:

[0032]



[0033] 其中,相对上式,R<sub>4</sub>由R<sub>4a</sub>~R<sub>4s</sub>表示,(其中任选地可以不存在=CR<sub>4r</sub>-CR<sub>4s</sub>-),a为0,b为17或19,c为1,R<sub>3</sub>和R<sub>4a</sub>一起与和它们相连的碳原子形成环状基团,R<sub>5</sub>和R<sub>2</sub>一起与和它们相连的碳原子形成环状基团。(在可替代的实施方案中,在上式中的基团-CR<sub>1</sub>CCR<sub>2</sub>R<sub>5</sub>可以被基团-C≡C-CR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>R<sub>5</sub>替代。)

[0034] 任选地,-CR<sub>4</sub>CR<sub>4</sub>-基团可以用上文所述的-CR<sub>4</sub>R<sub>4</sub>CO-基团代替。在优选的方面中,所述-CR<sub>4</sub>CR<sub>4</sub>-基团为-CR<sub>4b</sub>CR<sub>4c</sub>-。R<sub>4a</sub>~R<sub>4s</sub>的一个或多个优选为烷基,尤其优选R<sub>4d</sub>、R<sub>4h</sub>、R<sub>4m</sub>和R<sub>4q</sub>为烷基,优选甲基。

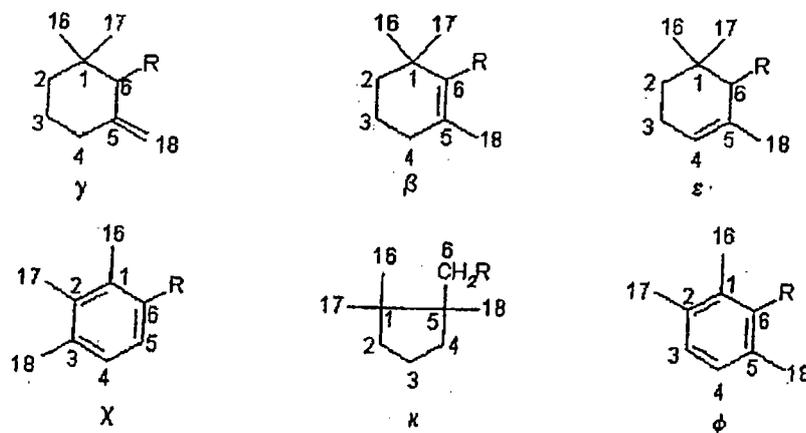
[0035] 优选的环状基团(在烃链的任一端可以相同或不同)为任选取代的芳烃或非芳烃,优选为己基基团。所述环状基团优选为取代的环己基、环己烯基基团(例如1-环戊烯-1-基)或环己烷二价基亚环己基,其中这些基团优选在碳环的一处或多处被烷基、环氧基团、羟基或羰基取代,其中这些基团本身也可以被取代。

[0036] 在特别优选的方面中,环状基团为环己基,并且该己基的C2被羟基或烷基(优选甲基)取代(和/或C1和C2具有环氧基团),C4被烷基(优选甲基)、和/或羟基(其本身可以被羰基取代,即得到乙酰氧基)取代,C6被烷基优选甲基双取代。

[0037] 在此提及的烷基可以为单或多不饱和的并包括烯基和炔基。所述基团可以含有至多40个碳原子。烷基链优选为C15~C25,例如C19~C23。取代的烷基优选更短,例如优选烷基含有至多10个碳原子,例如1~5个碳原子。尤其优选例如具有1,2或3个碳原子的直链饱和烃。取代的烷基可以是单或多取代的,例如它们可以为烷氧基烷基、羟基烷氧基烷基、多羟基烷基、羟基多亚烷氧基烷基、氧杂烷基、多氧杂烷基等。

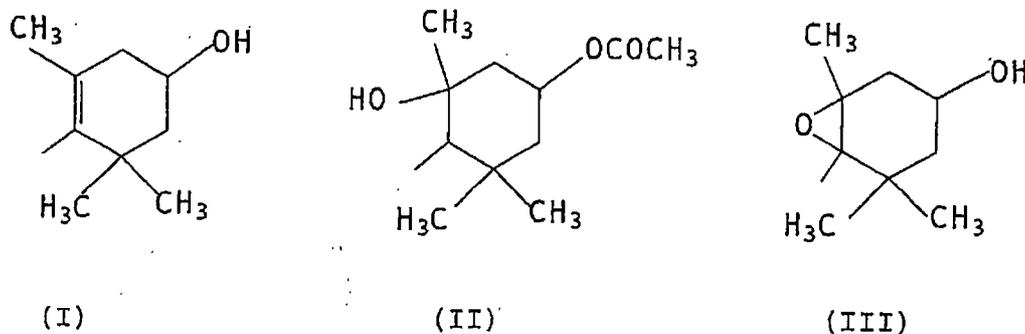
[0038] 因此,环状基团可以选自:

[0039]



[0040] 其反映通常在类胡萝卜素中发现的环状基团,其中所示的 R 基团对应于分子的其余部分,并且 C16、C17 和 / 或 C18 可以被如上所述的烷基或含氧基团替代,并且如果合适的话,转化为环己基环的环己烯基环和 / 或 C3 可以被如上所述的烷基或含氧基团取代。根据本发明,优选的环状基团为:

[0041]



[0042] 因此,优选的化合物为如此的在烃链上含有一个或多个亚二烯基(alkadienylene)或亚炔基(优选一个或多个亚二丙烯基或亚乙炔基)的类胡萝卜素,其中所述亚二烯基或亚炔基可以包含作为末端环状基团一部分的碳。

[0043] 本发明的类胡萝卜素基于具有任选取代的  $\beta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 、 $\kappa$ 、 $\phi$  或  $x$  环状基团的胡萝卜素结构,如上文所述。这样的类胡萝卜素优选在与在胡萝卜素结构上的选自 a) 6、7; b) 6'、7'; c) 7、8; 和 d) 7'、8' 位相对应的一个或多个位置处具有至少一个二脱氢基团。特别优选二脱氢基团存在于 6'、7' 和 / 或 7'、8' 位处。

[0044] 优选地,上述组不包含天然存在的类胡萝卜素,除了根据本发明在此描述的特别提到的类胡萝卜素例如墨角藻黄素、硅藻黄素和硅甲藻黄素以及优选的它们天然存在的衍生物例如它们的断、脱或降类胡萝卜素衍生物或降解产物之外。在优选方面中,上述组没有扩展到异黄素(alloxanthin)、新黄素、隐藻黄素(crocoxanthin)或无隔藻黄素,尤其优选新黄素。

[0045] 特别优选地,类胡萝卜素为 5,6-环氧-3,3',5'-三羟基-6',7'-二脱氢-5,6,7,8,5',6'-六氢- $\beta$ , $\beta$ -胡萝卜素-8-酮 3'-乙酸酯(优选 3S,5R,6S,3' S,5' R,6' R)、5,6-环氧-7',8'-二脱氢-5,6二氢- $\beta$ , $\beta$ -胡萝卜素-3,3'-二醇(优选 3S,5R,6S)或 7',8'-二脱氢- $\beta$ , $\beta$ -胡萝卜素-3,3'-二醇(优选 3R,3' R)。

[0046] 特别优选地,所述化合物为具有如图 1 所示的结构硅甲藻黄素、硅藻黄素或墨角藻黄素。

[0047] 在特别优选的方面中,类胡萝卜素为下式:

[0048]  $R_3-CR_{4a}-CR_{4b}-CR_{4c}-CR_{4d}-CR_{4e}-CR_{4f}-CR_{4g}-CR_{4h}-CR_{4i}-CR_{4j}-CR_{4k}-CR_{4l}-CR_{4m}-$

[0049]  $CR_{4n}-CR_{4o}-CR_{4p}-C_3R_1R_2-R_5$

[0050] 其中

[0051] 当  $-C_3R_1R_2-$  为  $-CR_1=C=CR_2-$  时  $R_1$  为氢原子,或者当  $-C_3R_1R_2-$  为  $-C\equiv C-CR_1R_2-$  时  $R_1$  与  $R_2$  和  $R_5$  一起形成环状基团的一部分;

[0052]  $R_3$  为选自环状基团 I、II 和 III(如上所定义)的环状基团;

[0053] 每个  $R_{4a} \sim R_{4p}$  为任选地取代的烷基、氢原子、氧原子或羟基, 其中如果  $R_4$  为氧原子, 则相邻的碳原子具有两个  $R_4$  基团, 优选  $R_{4a}$ 、 $R_{4b}$ 、 $R_{4d}$ 、 $R_{4e}$ 、 $R_{4f}$ 、 $R_{4h}$ 、 $R_{4i}$ 、 $R_{4j}$ 、 $R_{4k}$ 、 $R_{4m}$ 、 $R_{4n}$ 、 $R_{4o}$  为氢原子且  $R_{4c}$ 、 $R_{4g}$ 、 $R_{4l}$ 、 $R_{4p}$  为甲基, 或者  $-\text{CR}_{4a}-\text{CR}_{4b}-$  为  $-\text{CH}_2-\text{CO}-$  基团;

[0054]  $R_5$  为环状基团的一部分, 其中所述环状基团可以与  $R_3$  相同或不同, 并且当  $-\text{C}_3\text{R}_1\text{R}_2-$  为  $-\text{CR}_1 = \text{C} = \text{CR}_2-$  时所述环状基团的其余部分由  $R_2$  和其所连接的碳提供、或者当  $-\text{C}_3\text{R}_1\text{R}_2-$  为  $-\text{C} \equiv \text{C}-\text{CR}_1\text{R}_2-$  时由  $R_1$  和  $R_2$  及其所连接的碳原子提供, 或者其药物上可接受的衍生物或盐。

[0055] 特别优选地,  $R_3$  为环状基团 I 或 III 且  $R_5$  (与  $R_2$  或者  $R_1$  和  $R_2$  一起) 为环状基团 I 或 II, 优选 I 且优选  $-\text{C}_3\text{R}_1\text{R}_2-$  为  $-\text{C} \equiv \text{C}-\text{CR}_1\text{R}_2-$ 。

[0056] 在特别优选的方面中, 类胡萝卜素为下式:

[0057]  $R_3-\text{CR}_{4a}-\text{CR}_{4b}-\text{CR}_{4c}-\text{CR}_{4d}-\text{CR}_{4e}-\text{CR}_{4f}-\text{CR}_{4g}-\text{CR}_{4h}-\text{CR}_{4i}-\text{CR}_{4j}-\text{CR}_{4k}-\text{CR}_{4l}-\text{CR}_{4m}-$

[0058]  $\text{CR}_{4n}-\text{CR}_{4o}-\text{CR}_{4p}-\text{C} \equiv \text{C}-\text{R}_6$ ;

[0059] 其中

[0060] 可以相同或不同的  $R_3$  和  $R_6$  分别为选自环状基团 I 和 III (如上所定义) 的环状基团;

[0061] 每个  $R_{4a} \sim R_{4p}$  为任选地取代的烷基、氢原子、氧原子或羟基, 其中如果  $R_4$  为氧原子, 则相邻的碳原子具有两个  $R_4$  基团, 优选  $R_{4a}$ 、 $R_{4b}$ 、 $R_{4d}$ 、 $R_{4e}$ 、 $R_{4f}$ 、 $R_{4h}$ 、 $R_{4i}$ 、 $R_{4j}$ 、 $R_{4k}$ 、 $R_{4m}$ 、 $R_{4n}$ 、 $R_{4o}$  为氢原子且  $R_{4c}$ 、 $R_{4g}$ 、 $R_{4l}$ 、 $R_{4p}$  为甲基基团, 或者其药物上可接受的衍生物或盐。

[0062] 优选  $R_6$  为环状基团 I。(当  $R_3$  和  $R_6$  为环状基团 I 时, 所述化合物为硅藻黄素, 当  $R_3$  为环状基团 III 且  $R_6$  为环状基团 I 时, 所述化合物为硅甲藻黄素。)

[0063] 将在下文中详细描述的药物上可接受的衍生物包括降解产物例如硅甲藻色素 (diadinochrome), 其中相对于上式,  $R_3-\text{CR}_{4a}-\text{CR}_{4b}-$  为稠合杂环基团, 其中环状基团 III 的环氧基团的氧与包含共轭双键的烷基链形成键, 以形成含有氧原子、来自烷基链的  $\text{CR}_{4a}-\text{CR}_{4b}$  和来自环状基团 III 的两个碳原子的 5 元杂环基团。

[0064] 在可替代的优选方面中, 类胡萝卜素为下式:

[0065]  $R_3-\text{CR}_{4a}-\text{CR}_{4b}-\text{CR}_{4c}-\text{CR}_{4d}-\text{CR}_{4e}-\text{CR}_{4f}-\text{CR}_{4g}-\text{CR}_{4h}-\text{CR}_{4i}-\text{CR}_{4j}-\text{CR}_{4k}-\text{CR}_{4l}-\text{CR}_{4m}-$

[0066]  $\text{CR}_{4n}-\text{CR}_{4o}-\text{CR}_{4p}-\text{CH} = \text{C} = \text{R}_7$ ;

[0067] 其中

[0068] 可以相同或不同的  $R_3$  和  $R_7$  分别为选自环状基团 II 和 III (如上所定义) 的环状基团;

[0069]  $-\text{CR}_{4a}-\text{CR}_{4b}-$  为  $-\text{CH}_2-\text{CO}-$  基团;

[0070] 每个  $R_{4c} \sim R_{4p}$  为任选地取代的烷基、氢原子、氧原子或羟基, 其中如果  $R_4$  为氧原子, 则相邻的碳原子具有两个  $R_4$  基团, 优选  $R_{4d}$ 、 $R_{4e}$ 、 $R_{4f}$ 、 $R_{4h}$ 、 $R_{4i}$ 、 $R_{4j}$ 、 $R_{4k}$ 、 $R_{4m}$ 、 $R_{4n}$ 、 $R_{4o}$  为氢原子且  $R_{4c}$ 、 $R_{4g}$ 、 $R_{4l}$ 、 $R_{4p}$  为甲基基团, 或者其药物上可接受的衍生物或盐。

[0071] 优选  $R_3$  为环状基团 III, 优选  $R_7$  为环状基团 II。

[0072] “药物上可接受的”或“生理可接受的”意思是该组分必须与在组合物中的其它组分相容且对于接受者是生理可接受的。

[0073] 药物上可接受的衍生物 (其具有与上述化合物相同或相似的功能特性) 包括全反式到顺式-反式混合物到全顺式的异构体并包括光学异构体 (例如, 对于硅甲藻黄素为 3S,

5S, 6R, 3' R 和 3S, 5R, 6S, 3' R)。衍生物还包括通过例如烃主链的修饰, 例如通过用一个或多个烷基取代, 任一个或者两个环状基团(例如如上所述)的修饰而被修饰的分子, 前提是这些修饰不改变在此所述的化合物的功能特性。例如, 衍生物扩展到酯, 例如可以用脂肪酸酯化类胡萝卜素。

[0074] 衍生物还扩展到可以天然存在的衍生物, 例如开环、脱和降类胡萝卜素衍生物。开环类胡萝卜素(seco-carotenoid)是指经历了氧化分裂而没损失任何碳原子的类胡萝卜素衍生物。脱类胡萝卜素(apo-carotenoid)为在氧化分裂过程中碳骨架变短的衍生物, 降类胡萝卜素(nor-carotenoid)为通过除了碳碳键断裂之外的方法除去碳原子的衍生物。因此, 衍生物扩展到缩短了的类胡萝卜素, 例如其中从异戊二烯聚合物链除去一个或多个异戊二烯单元。

[0075] 衍生物还包括环氧衍生物和它们的 5,8 环氧异构体。还包括降解产物, 例如其中墨角藻黄素的羰基与例如硼氢化钠在乙醇中反应。如上所述, 化合物产品硅甲藻色素为硅甲藻黄素的典型的降解产物。还包括例如在之前所述的在氯仿中用氯化氢处理上述化合物之后产生的脱水衍生物。

[0076] 为了它们在化妆品和药物的应用, 还可产生衍生物以改变本发明的化合物, 例如通过加入靶向基团或官能团, 例如以改善亲油性、帮助细胞转运、溶解度和/或稳定性。因此, 可以将低聚糖、脂肪酸、脂肪醇、氨基酸、肽或蛋白质缀合到上述化合物上。衍生物可以为“前药”的形式, 使得施用时可以通过分裂来除去附加的组分, 例如可以通过由酯化作用附加的取代基的分裂, 所述由酯化作用附加的取代基通过酯酶的作用除去。

[0077] 可以测试保持功能活性的衍生物, 以通过在此描述的测试确定它们是否保持所希望的特性, 例如测定光防护特性。

[0078] 用于施用的活性组分可以被适当地改进, 以用于药物组合物中。例如, 根据本发明所用的化合物可以通过使用上述衍生物稳定, 而免于降解。

[0079] 也可以例如通过使用适当的添加剂如盐或非电解质、乙酸盐、SDS、EDTA、柠檬酸盐或乙酸盐缓冲液、甘露醇、甘氨酸、HSA 或聚山梨醇酯, 在组合物中稳定活性组分。

[0080] 药物上可接受的盐优选为生理可接受的有机或无机酸的酸加成盐。合适的酸包括例如盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、乙酸、乳酸、柠檬酸、酒石酸、丁二酸、马来酸、富马酸和抗坏血酸。也可以通过例如沉淀方便地得到憎水盐。合适的盐包括例如乙酸盐、溴化物的盐、氯化物的盐、柠檬酸盐、盐酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、硝酸盐、磷酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、油酸盐、硬脂酸盐、甲苯磺酸盐、钙盐、镁盐、钾盐和钠盐。盐形成的方法在本领域是常规的。

[0081] 优选地, 用于组合物的和用于本发明用途的化合物得自或源于天然存在的源。但是, 它们可以全部或部分合成地生成(例如由市售的类胡萝卜素如  $\beta$ -胡萝卜素、叶黄素、黄体素或 zeaxanthin), 或者提纯后衍生。优选地, 该化合物由天然源分离得到, 优选大藻类或微观藻类, 特别是属于浮游植物类硅藻类、沟鞭藻类、定鞭金藻类、裸藻类和金藻类的微观藻类, 尤其优选来自硅藻类 *Phaeodactylum tricornutum* 或 *Procentrum minimum* 或者微观藻类小三毛金藻。

[0082] 墨角藻黄素也可以从各种其它源中分离, 例如任何海藻(界:原生生物, 门:褐藻门)如包括上述的墨角藻(*Fucus vesiculosus*)、*Fucus serratus* 和极北海带(*Laminaria Hyperborea*)。其它源包括:*Undaria pinnatifida*、马尾藻(*Sargassum muticum*)、巨藻

(*Macrocystis pyrifera*)、*Macrocystis angustifolia*、*Padina boryana*、*Ecklonia maxima*、*Laminaria pallida*、*Ecklonia biruncinata*、*Pelagophycus porra*、*Turbinaria ornata*、*Bifurcaria brassicaeformis* 和 *Splachnidium rugosum*。

[0083] 本发明的化合物可从天然源中分离出来或者从已被改性的天然源中分离出来，以制造用于本发明的类胡萝卜素，例如通过转化微生物有机体以制造所需的合成酶，并从这些有机体中分离出化合物。

[0084] 这些化合物通过现有技术方便地分离，例如通过拆分和色谱法（见 Haugan&Liaaen-Jensen, 1989, *Phytochemistry*, 28(10), 第 2797-2798 页）或者 HPLC (Zapata 等., 2000, *MEPS*, 195, 第 29-45 页)。Britten 法也可以用于分离例如墨角藻黄素（分别见 Britton 等和 Schiedt&Liaaen-Jensen, 1995, 在“*Carotenoids, Volume 1A: Isolation and Analysis*”中, Eds. Britton 等, Birkhauser Verlag, Basel, 第 13-16 页和第 81-108 页）。所述化合物还可以通过已用于类胡萝卜素分离的超临界 CO<sub>2</sub> 萃取来分离 (Mendes 等, 2003, *Inorganica Chimica Acta*, Vol. 356, 第 328-334 页; Valderrama 等, 2003, *J. Chem. Eng. Data*, 48, 第 827-830 页)。

[0085] 用于本发明组合物的化合物还可以根据实施例所述的方案分离。这些方法和这些方法的产品形成本发明的另外的方面。因此，在另一个方面中，本发明提供从藻类中提纯类胡萝卜素的方法，包括如下步骤：

[0086] (i) 使藻类与水混合，将 pH 值调到 8 ~ 12 (优选 pH 值为 8 ~ 10, 例如 pH 值为 8.3)；

[0087] (ii) 加入醇，优选乙醇（或可替代的甲醇），使最终水与醇的比为 0.2 ~ 1.5 : 1.0 (优选 0.3 ~ 1.0 : 1, 例如 0.3 : 1)；

[0088] (iii) 以 0.75 ~ 1.5 : 1.0 (优选 1 ~ 1.4 : 1, 例如 1.3 : 1) 的水 - 醇与有机溶剂比，用液体有机溶剂（有机相）萃取所述醇 - 水混合物（水相），所述液体有机溶剂优选为庚烷（或可替代的己烷）；

[0089] (iv) 例如在低于 10°C 如 ≤ 5°C、0°C、-5°C、-10°C 或 -20°C（如 5 ~ 10°C）下任选地冷却所述有机相超过 5 分钟，例如 15 ~ 60 分钟，或更长，例如 12 ~ 26 小时，例如 24 小时；和

[0090] (v) 收集水相和 / 或有机相，并由此纯化类胡萝卜素。

[0091] 在上述方法中，加入水、醇和有机溶剂的顺序不重要。因此，醇和水可以先后加入，然后可以加入有机溶剂，或者可以混合醇和有机溶剂，随后加入水。

[0092] 优选地，所述方法用于分离硅甲藻黄素、硅藻黄素和 / 或墨角藻黄素，其中硅甲藻黄素和硅藻黄素从有机相中分离，墨角藻黄素从水相中分离。步骤 (iii) 优选通过在环境温度例如 15 ~ 25°C 如约 20°C 下混合 30 ~ 90 分钟如 1 小时来实现。一般方法的具体变化在实施例中描述。

[0093] 用于本方法的醇在室温下为液体并可溶于水但不溶于庚烷，且优选为乙醇或甲醇，尽管可以使用其它醇例如丙醇。有机溶剂基本上不可与水互溶并优选在 -20°C 下为液体，例如庚烷、己烷或戊烷。

[0094] 如此分离的化合物优选基本上不含源于原料或源于在分离步骤中使用的物质的任何污染成分。特别优选地，所述化合物被提纯到纯度高于 50% 或 60% 例如大于 70%、

80%或90%，优选高于95%或99%，纯度以w/w(干重)计。这样的纯度级别对应于所需的具体化合物，但是包括其异构体和任选的其降解产物。如果合适的话，可以使用具有较低纯度的浓缩制品，例如含有高于1%、2%、5%或10%的所需化合物，如高于20%或30%。

[0095] 可以通过分析方便地评估纯度的级别，例如使用UV/可见分光光度法、HPLC分析法或质谱法。合成生成的或改性的化合物应该类似地不含污染成分。

[0096] 根据本发明所用的类胡萝卜素可以基于例如合成的碳骨架合成地生成。该骨架可以使用在本领域已知的技术生成，例如Witting型反应、Grignard和Nef反应、烯醇-醚缩合、Reformatsky反应、Robinson's Mannic碱合成、还原或氧化二聚反应和Wurtz反应(见例如Haugan, Dr. Ing. thesis, University of Trondheim, NTH, 1994, 自155页和Mayer&Isler, 1971, 在“Carotenoids”中, Ed. Isler, **Birkhäuser**, Basel, 第325页)。

[0097] 然后可以使用在本领域中已知的技术来修饰碳骨架，由此生成所需的类胡萝卜素。例如，可以如(Ito等, 1994, Pure & Appl. Chem., 66(5), 第939-946页)所述的合成墨角藻黄素，其中C10碳骨架部分与提供环状端基的分子缩合。在Haugan等, 1994, supra, 第165-205页中描述了硅藻黄素的合成。可以由硅藻黄素通过在硅藻黄素的5'-6'或5-6双键处引入环氧基团来制备硅甲藻黄素。可以使用在本领域中已知的技术如上所述地制造这些合成制备的类胡萝卜素的衍生物。

[0098] 所述类胡萝卜素化合物可以作为唯一的活性成分存在于所述组合物中，或者可以与其它成分尤其是其它活性成分组合，例如以增加可以提供的光保护范围和/或改变产品的物理或化学特性或使其吸引消费者。因此，例如一种或多种另外的遮光化合物可以包含在组合物中或者与所述组合物共施用。可以使用化学或物理遮光剂，例如如上文所述的能够吸收/猝灭辐射尤其是太阳辐射、特别是光谱中的UVB和较短UVA范围或近红外范围的遮光剂。可以使用的化合物包括UVB/UVA2滤光剂(其在290~340nm范围内滤光)例如甲氧基肉桂酸辛酯、氧苯酮、水杨酸辛酯、胡莫柳酯、氰双苯丙烯酸辛酯、帕地马酯0、邻氨基苯甲酸薄荷酯和2-苯基苯并咪唑-5-磺酸。UVA1滤光剂(在340~400nm范围内滤光)包括阿伏苯宗、氧化锌和二氧化钛。但是，优选使用在自然界中发现的化合物，例如其它类胡萝卜素、(如在此所描述的)、霉胞菌素样氨基酸或scytonemin。

[0099] 在此所描述的类胡萝卜素可以组合使用。因此，例如根据本发明优选的组合物可以包含两种或更多种如本文所描述的类胡萝卜素，例如选自硅甲藻黄素、硅藻黄素、硅甲藻色素和墨角藻黄素的两种或更多种化合物，尤其优选硅甲藻黄素和墨角藻黄素。

[0100] 本发明的组合物可以用于各种生物和非生物应用。因此，组合物可用于任意非生物物质，其中需要光防护(或着色)特性，例如在塑料、涂料、蜡、(建筑物或车辆)的窗户、太阳能电池板、风挡、着色剂或清漆、玻璃、隐形眼镜、合成透镜中，以避免对使用它们的产品或者被提供太阳光保护的生物实体的光损害或太阳光损害(例如褪色)。本发明的化合物可以应用到这些物质或浸到这些物质中。

[0101] 因此，本发明还延伸到一种制备光防护或光保护产品的方法，包括将本发明的化合物或组合物应用到所述产品，或者用所述化合物或组合物浸渍所述产品。本发明的化合物或组合物制备所述产品的用途也被认为是本发明的一个目的。由此形成的光防护或光保护产品构成本发明的另一个方面。

[0102] 优选地，本发明的组合物为包含如上文所述的化合物的药物组合物和一种或多种

如下文所述的药物上可接受的赋形剂和 / 或稀释剂。

[0103] 在此描述的化合物具有光防护、着色和抗氧化特性。

[0104] 因此在此描述的组合物可用于化妆品或医药应用。因此,在此描述的组合物可以为化妆品组合物、抗氧化组合物或光保护滤光剂或遮光剂。本发明还提供用作药物的该组合物。

[0105] 在此描述的化合物为引人注目的金黄色并因此可以用于利用该色彩的化妆品或将附加特性加到本发明的遮光剂。因此,在此描述的遮光剂和 / 或化妆品制剂具有选自着色、遮光和抗氧化特性的两种或更多种特性。作为对该作为着色剂的特性的替代或补充,所述化合物可以利用它们的抗氧化或光防护特性。

[0106] 因此,在另一个方面中,本发明提供作为化妆品、遮光剂(光保护滤光剂)或抗氧化剂的在此描述的组合物。

[0107] 在此提及的“化妆品”是指以非医学目的用在人或非人动物上的组合物。

[0108] 在此使用的“遮光剂”或“光保护滤光剂”或“光防护组合物”是指适于施用到个体的组合物,其对光辐射提供保护(即,作为吸收光或阳光的化合物),特别是紫外线和可见光,优选波长为 280 ~ 700nm,尤其优选至少 350 ~ 500nm,例如 370 ~ 500nm 或 400 ~ 500nm。优选地,在所述组合物中的至少一种化合物能够在这些波长范围中实现保护。可以用各种技术评价保护,包括发展光诱发响应所用的时间或该响应的严重程度,例如红斑或灼伤,例如使用通常可用的测试来确定 SPF 的级别。当进行这样的测试时,优选该组合物实现的 SPF 至少为 2,优选至少 10、20、30 或 50。

[0109] 但是,为了方便地测试功效例如过滤不明显导致该响应的波长(例如, UVA, 尤其是长波长 UVA, 即 340 ~ 400nm) 的光,可以进行生物体外测试,例如通过包含所需化合物的滤光剂(用来模拟皮肤)过滤光,或确定消光系数,以测定这些化合物吸收辐射的能力。在使用包含测试化合物的滤光剂的方法中,可以通过评价经过所述滤光剂的辐射(例如特定波长的)的级别、或通过例如在对辐射敏感并对该辐射表现出响应的细胞上评价经过含有或不含所述测试化合物的滤光剂的所述辐射的影响,来直接或间接地测定吸收功效。

[0110] 优选地,在这些测试中,(例如,如实施例中所描述的),所述化合物在给定波长处阻止超过 40%、优选超过 50% ~ 60% 的透射。用于本发明组合物的优选的化合物优选在 400 ~ 500nm 范围内表现出最大吸收,例如在 400 ~ 500nm 范围内的给定波长处的吸收为在 350nm 处的吸收的 1.5 ~ 2 倍以上。

[0111] 用于生物体外分析的合适的技术包括:将测试化合物施加给优选模拟皮肤的基质(例如,具有模拟的皮肤纹理的胶原基质或石英片),然后所述基质被反映全太阳辐射的辐射或优选较窄波长的辐射照射,例如使用氙弧来模拟太阳 UV 光谱,例如 290 ~ 400nm。

[0112] 例如使用 Labsphere UV-1000S UV 透射分析仪(Labsphere Inc., North Sutton, NH) 可以测定测试化合物的 UV 吸光度。通过例如临界波长测定法(由 Diffey 等, 2000, J. Am. Acad. Dermatol., 43(6), 第 1024-1035 页所述)评价的测试化合物吸收 UVA 的能力表明所述测试化合物在光谱的 UV 范围内的吸收功效。优选地,所述临界波长大于 360nm, 尤其优选大于 370nm 或 380nm, 尤其是与上述的 SPF 值结合。

[0113] 因此,本发明提供处理或预防对人或非人动物的辐射影响的方法,其中将如上文所述的药物化合物或组合物施用到所述动物上。另外,本发明提供在此所述的药物化合物

或组合物在制备用于处理或预防对人或非人动物体的辐射影响的药物中的用途。

[0114] 在优选方面中,本发明提供处理或预防对人的太阳辐射影响的方法,其中将如上文所述的药物化合物或组合物局部地施用到所述人的皮肤或头发上。该方法用来保护皮肤或头发免于所述太阳辐射的有害作用。

[0115] 在此所用的“辐射”是指来自一种或多种自然或合成光源的直接或间接的辐射,特别是来自太阳的,即太阳辐射。优选地,所述辐射为 280 ~ 700nm 的光,尤其优选至少 350 ~ 500nm,例如 400 ~ 480nm 或 400 ~ 500nm。所述辐射的“作用”可以为损害作用,包括皮肤的灼伤、红斑、过早老化和皱纹(光老化)、前恶性损害(阳光角化病)的发展和各种恶性肿瘤或其它例如化妆品原因的不希望的作用,如黑色素沉积。

[0116] 在此使用的“处理”是指相对于存在于所述个体的身体的未受辐射的不同部位的症状或作用或者未受辐射的相应个体,将所述辐射的一种或多种症状或作用例如灼伤或色素沉积的出现或程度降低、减轻或消除,优选降低、减轻或消除到正常的非辐射水平。“预防”是指完全地防止或降低或减轻所述症状或作用开始的程度或时间(例如延迟)。

[0117] 根据本发明的处理或预防方法可以有利地与在处理或预防辐射影响中有效的一种或多种活性成分的施用结合。优选地,所述附加活性成分包括遮光剂(如在此描述的和本领域已知的)、抗氧化剂、维生素和通常在本领域的遮光剂和化妆品配方中使用的其它成分。

[0118] 因此,本发明的药物组合物还可以含有一种或多种所述活性成分。

[0119] 根据本发明的又一方面,我们提供含有在此定义的一种或多种化合物和一种或多种附加的活性成分的作为组合制剂的产品,以同时、单独或连续地用于人或动物的治疗。

[0120] 本发明的组合物可以根据本领域众所周知的技术使用易得的成分,用一种或多种生理可接受的载体、赋形剂和/或稀释剂以常规方式配制。如果合适的话,根据本发明的组合物是已灭菌的,例如如果存在载体或赋形剂的话,在载体或赋形剂加入之前或之后通过  $\gamma$ -射线辐照、高压灭菌或热灭菌,以提供无菌的制剂。

[0121] 因此,所述活性成分可以任选地与其它活性物质一起作为组合制剂与一种或多种常规载体、稀释剂和/或赋形剂结合,以生成常规药物制剂例如片剂、丸剂、粉剂、锭剂、囊袋(sachet)、胶囊、酏剂、混悬剂(作为注射液或输注液)、乳剂、溶液、糖浆、气雾剂(作为固体或在液体介质中)、膏剂、软和硬凝胶胶囊、栓剂、无菌注射液、无菌封装粉末等。可生物降解的聚合物(例如聚酯、聚酸酐、聚乳酸或聚乙醇酸)可以用于固体植入物。所述组合物可以通过使用冷冻干燥、过冷或帕尔玛酶(Permazyme)来稳定。

[0122] 合适的赋形剂、载体或稀释剂为乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、淀粉、阿拉伯树胶、磷酸钙、碳酸钙、乳糖钙(calcium lactose)、玉米淀粉、藻酸盐、黄蓍胶、明胶、硅酸钙、微晶纤维素、聚乙烯基吡咯烷酮、纤维素、水糖浆、水、水/乙醇、水/乙二醇、水/聚乙二醇、丙二醇、甲基纤维素、羟基苯甲酸甲酯、羟基苯甲酸丙酯、滑石、硬脂酸镁、矿物油或脂肪物质如硬脂或其合适的混合物。还可以使用用于获得持续释放的制剂的试剂,例如羧酸聚亚甲基、羧甲基纤维素、醋酸邻苯二甲酸纤维素或聚乙酸乙烯酯。

[0123] 组合物可以另外包括润滑剂、润湿剂、乳化剂、增粘剂、造粒剂、崩解剂、粘合剂、渗透活性剂(osmotic active agent)、悬浮剂、防腐剂、甜味剂、调味剂、吸收增强剂(例如表面渗透剂,或者用于鼻递送的,例如胆汁盐、卵磷脂、表面活性剂、脂肪酸、螯合剂)、褐色上

色剂、有机溶剂、抗氧化剂、稳定剂、润肤剂、硅树脂、 $\alpha$ -羟基酸、缓和剂、防沫剂、保湿剂、维生素、香料、离子或非离子增稠剂、表面活性剂、填料、离子或非离子增稠剂、螯合剂、聚合物、推进剂、碱化剂或酸化剂、乳浊剂、着色剂和脂肪族化合物等。

[0124] 可以配制本发明的组合物,以便在通过使用本领域众所周知的技术施用给人体之后,提供活性成分的快速、持续或延迟释放。

[0125] 所述组合物可以为任何合适的剂型以递送或靶向特定细胞或组织,例如作为乳剂或在脂质体、囊泡(niosome)、微球、纳米粒子等中,通过它们可以吸收、吸附、引入或结合活性成分。这可以有效地将产品转化为不溶形式。这些粒子形式可以同时克服稳定性(例如降解)和递送问题。

[0126] 这些粒子可以携带用来改善循环时间的合适的表面分子(例如,浆液成分、表面活性剂、polyoxamine908、PEG等)、或用于位点特异性靶向部分如特定结合细胞受体(cell borne receptor)的配体。用于药物递送和靶向的合适技术在本领域是众所周知的并在W099/62315中描述。

[0127] 优选使用溶液、混悬剂、凝胶剂和乳剂,例如可以在水、气、水基液体、油、凝胶、乳液、水包油或油包水乳液、分散体或其混合物中载带活性成分。

[0128] 组合物可以用于局部(例如皮肤或头发)、口服或肠胃外施用,例如通过注射。但是,优选局部组合物和施用,并包括凝胶剂、霜剂、膏剂、喷雾剂、洗剂、油膏、棒、皂、粉末剂、膜、气溶胶、滴、泡沫、溶液、乳剂、混悬剂、分散体如非离子泡分散体(non-ionic vesicle dispersion)、乳状液和本领域的任意其它常规药物形式。

[0129] 膏剂、凝胶剂和霜剂可以例如用水基或油基外加合适的增稠剂和/或胶凝化剂配制。洗剂可以用水基或油基配制并通常还包含一种或多种乳化剂、分散剂、悬浮剂、增稠剂或着色剂。粉末可以借助任何合适的粉末基形成。滴和溶液可以用水基或非水基配制,还包含一种或多种分散剂、增溶剂或悬浮剂。气溶胶喷雾通过使用合适的推进剂方便地由加压包装递送。

[0130] 作为替代方案,所述组合物可以以适于口服或肠胃外施用的形式提供。因此,可替代的药物形式包括含有所述活性成分和任选的一种或多种惰性常规载体和/或稀释剂的素片(plain tablet)或包衣片、胶囊、混悬剂和溶液,所述惰性常规载体和/或稀释剂如玉米淀粉、乳糖、蔗糖、微晶纤维素、硬脂酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、柠檬酸、酒石酸、水、水/乙醇、水/乙二醇、水/山梨醇、水/聚乙二醇、丙二醇、硬脂醇、羧甲基纤维素或脂肪物质如硬脂或其合适的混合物。

[0131] 活性成分在本发明组合物中的浓度取决于所用的化合物的性质、施用的方式、治疗过程、患者的年龄和体重、化妆品或药物指示、待处理的身体或身体部位,并可根据选择变化或调整。但是,对于在此描述的化合物的浓度范围通常为0.0005、0.001或0.01~25%,例如0.01~10%,如0.1~5%,如1~5%(对于施用的最终制剂的w/w,尤其是局部施用的)。所述浓度通过参照化合物自身的量测定,因此应适当考虑到组合物的纯度。根据所处理的、施用单次剂量的动物,有效的单次剂量可以处于1~100mg/天的范围,优选2~10mg/天。

[0132] 可以通过在医药领域已知的任何合适的方法进行施用,包括例如口服、肠胃外(例如肌肉内、皮下、腹膜内或静脉内)、经皮、经颊、直肠或局部施用或通过吸入施用。优选

的施用形式为口服施用或最优选局部施用。应该理解,如果活性成分是可消化的,那么口服施用有其局限性。为了克服这些问题,可以如上所述地稳定所述成分。

[0133] 可以在辐射之前、期间或之后进行施用,以对辐射影响提供预防或处理。因此,例如所述组合物可以在辐射前至多例如 1 天,但是优选少于 1 小时,可以在辐射期间和辐射后的任何时间,例如在辐射后的 12 个小时内,口服施用或局部使用。

[0134] 遮光制剂可以作为如上文所述的局部制剂提供,尤其是作为身体、脸或唇乳、泡沫、喷雾、洗液、凝胶或香脂提供。根据它们的配方和在组合物中所用的化合物,本发明的遮光制剂还可以具有化妆品特性,例如引入附加的组分或者选择本发明的着色化合物。类似地,在此描述的化妆品制剂可以具有遮光特性。

[0135] 本发明还扩展到包含上文所描述的组合物特殊的化妆品组合物或制剂(个人护理产品)。这样的制剂可以采取化妆品(例如眼部或脸部产品,包括眼影、底粉、唇膏、粉底、睫毛油、腮红、眼线膏、指甲抛光剂、遮瑕霜和遮瑕粉底、防晒化妆品)、霜剂、洗液或着色剂的形式。所述制剂优选为无水或含水的固体或糊的形式。本发明的类胡萝卜素可以用来为所述制剂赋予颜色、遮光和/或抗氧化特性。对于遮光产品,组合物可以如上文所述的特别地局部施用到皮肤上。对于头发的处理或保护,组合物可以为护发素、喷雾、凝胶、摩丝、香波、护理剂、洗液、乳液或染色产品。

[0136] 因此,本发明还扩展到制备上述遮光制剂或化妆品制剂的方法,包括将如上文所述的化合物或组合物加到药物上可接受的稀释剂、载体和/或赋形剂或基础遮光剂或化妆品中,其中所述遮光剂或化妆品可以包含赋予光防护和/或化妆(例如,着色)特性的成分。本发明的化合物或组合物制备这种化妆品/遮光剂的用途也认为是本发明的目的。

[0137] 可以应用或施加所述组合物的动物包括遭受光辐射有害作用的哺乳动物、爬行动物、鸟类、昆虫和鱼类。本发明组合物所应用的动物优选为哺乳动物,尤其是灵长类、家畜、牲畜和实验室动物。因此,优选的动物包括小鼠、大鼠、兔、豚鼠、猫、狗、猴、猪、牛、山羊、绵羊和马。特别优选将所述组合物应用或施用给人。

[0138] 所述组合物可以应用的“身体外层”或“身体表面”包括身体外层如皮肤、身体的生长物如毛发和甲和表面如粘膜,但是也包括其它动物体上的等价物如鳞或羽毛。

## 附图说明

[0139] 仅作为说明给出下列实施例,其中参考的附图如下:

[0140] 图 1 表示硅甲藻黄素(I)、硅藻黄素(II)、墨角藻黄素(III)和硅甲藻色素(IV)的化学结构;

[0141] 图 2 表示硅甲藻黄素(I)、硅藻黄素(II)、墨角藻黄素(III)和硅甲藻色素(IV)在丙酮溶液中的吸收光谱;

[0142] 图 3 表示使用不同浓度的墨角藻黄素和硅甲藻黄素的积分球分析的透射光谱。使用市售遮光剂 SPF60 作为对比。体外皮肤+饱和的植物脂肪酸三甘油酯用作对照物。曲线 1: 体外皮肤+饱和的植物脂肪酸三甘油酯, 2:SPF60, 3:2.76mg/ml 的墨角藻黄素, 4:0.55mg/ml 的墨角藻黄素, 5:0.25mg/ml 的墨角藻黄素, 6:0.64mg/ml 的硅甲藻黄素 7:0.13mg/ml 的硅甲藻黄素;和

[0143] 图 4 表示作为硅甲藻黄素和墨角藻黄素浓度的函数在 454nm 处透射率的降低(数

据来自积分球分析)。浓度为给定化合物和它们降解产物(顺式-墨角藻黄素和硅甲藻色素)的总和。带有方块的实线为硅甲藻黄素。带有菱形的实线为墨角藻黄素。虚线表示预计的线性关系。

### 具体实施方式

[0144] 实施例 1 :制剂

[0145] 根据本发明的示例性制剂如下：

[0146] 遮光剂

[0147] 爽身水

[0148] 制剂 1 % w/w

[0149] 羊毛脂 4.5

[0150] 可可脂 2.0

[0151] 硬脂酸甘油酯 3.0

[0152] 硬脂酸 2.0

[0153] 二甲基对氨基苯甲酸辛酯 (UVB 滤光剂,任选的) 7.0

[0154] 2-羟基-4-甲氧基二苯甲酮 (UVB 滤光剂,任选的) 3.0

[0155] 对羟基苯甲酸丙酯 0.1

[0156] 对羟基苯甲酸甲酯 0.3

[0157] 三乙醇胺 1.0

[0158] 山梨醇 5.0

[0159] 本发明的类胡萝卜素 1.0 ~ 5.0

[0160] 水 平衡至 100

[0161] 制剂 2

[0162] 阶段 A % w/w

[0163] 豆蔻酸异丙酯 4.0

[0164] 矿物油 6.5

[0165] 葡萄子油 2.5

[0166] 硬脂醇 2.0

[0167] 矿脂 2.0

[0168] 甲氧基肉桂酸辛酯 (UVB 滤光剂,任选的) 5.0

[0169] 本发明的类胡萝卜素 1.0 ~ 5.0

[0170] 阶段 B

[0171] 硬脂酸脱水山梨醇酯 6.0

[0172] 蓖麻油酰胺 MEA-磺基琥珀酸二钠 0.2

[0173] 丙三醇 4.0

[0174] 尿囊素 0.2

[0175] d-泛醇 0.8

[0176] 二氧化钛和水 (任选的) 15.0

[0177] 水 平衡至 100

- [0178] (阶段 A 和 B)
- [0179] 阶段 C
- [0180] 防腐剂 适量
- [0181] 通过单独地将阶段 A 和 B 加热到 80°C、然后将阶段 A 加到阶段 B 中并剧烈搅拌来制备。均匀后,在缓慢搅动下将混合物冷却到 25°C,随后加入阶段 C。
- [0182] 护发产品
- [0183] 香波 % w/w
- [0184] 阴离子表面活性剂 2.5 ~ 1.5 活性的
- [0185] 两性表面活性剂 0 ~ 4 活性的
- [0186] 烷醇酰胺 0 ~ 5
- [0187] 聚合 / 缔合增稠剂 0 ~ 5
- [0188] 本发明的类胡萝卜素 1 ~ 5
- [0189] UVA/B 滤光剂 (例如,甲氧基肉桂酸辛酯、阿伏苯宗 1 ~ 10
- [0190] 或氧苯酮) - 任选的
- [0191] 防腐剂 适量
- [0192] 香料 适量
- [0193] pH 调节剂 适量
- [0194] 电解质 适量
- [0195] 水 平衡至 100
- [0196] 美发喷剂 % w/w
- [0197] 树脂增塑剂 0 ~ 2
- [0198] 成膜性树脂 2 ~ 8
- [0199] 乙醇 0 ~ 70
- [0200] 烷醇胺或可替代的中和剂 0 ~ 4
- [0201] 本发明的类胡萝卜素 1 ~ 5
- [0202] UVA/B 滤光剂 (例如,甲氧基肉桂酸辛酯、阿伏苯宗 1 ~ 10
- [0203] 或氧苯酮) - 任选的
- [0204] 防腐剂 适量
- [0205] 香料 适量
- [0206] 烃或可替代的推进剂 10 ~ 40
- [0207] 水 平衡至 100
- [0208] 实施例 2 : 萃取方案
- [0209] 硅甲藻黄素的萃取 (从微观藻类中)
- [0210] 在覆有铝箔的设备中在氮气氛中进行萃取。
- [0211] 1. 将微观藻类三角褐指藻 (*P. tricornutum*) 的水悬浮液 (每升水 14g 干重) 的 pH 值调节到 8.3, 并加入乙醇, 使水 : 乙醇的最终比为 0.3 : 1.0。
- [0212] 2. 在 20°C 下通过混合庚烷 (水 - 乙醇溶液 : 庚烷 = 1.3 : 1.0) 萃取乙醇 - 水溶液 1 小时。
- [0213] 3. 通过离心法 (在 3222×g 下 10 分钟) 将溶液分成三相 : 富集硅甲藻黄素和墨

角藻黄素的上层庚烷相,富集叶绿素和叶绿素降解产物的下层乙醇-水相,和含有沉淀物质的第三中间相。在乙醇-水相中硅甲藻黄素和墨角藻黄素的浓度比约为 1:6。

[0214] 4. 将水加到乙醇-水相中,直到达到水:乙醇为 0.7:1.0。由近似量的庚烷萃取该溶液并通过离心法(同步骤 3)分离相。硅甲藻黄素富集在庚烷相中(硅甲藻黄素:墨角藻黄素=1:1),墨角藻黄素和墨角藻黄素衍生物在乙醇-水相中。

[0215] 5. 在 -20°C 下保存庚烷相过夜,以分离通过上述离心法分离的墨角藻黄素。(作为替代方案,可以用吸液管除去沉淀物质。)

[0216] 6. 由上文所述的用庚烷相进行 HPLC 进一步提纯硅甲藻黄素,以得到 60-70% 的在初始原料中发现的纯硅甲藻黄素。

[0217] 优化

[0218] 改变上述基本方法中的各种参数,以确定水浓度、pH 和温度对分离法的影响。结果如下表所示。

[0219] 1. 改变水的浓度

[0220] 下表表示使用不同水浓度的类胡萝卜素的相分布(%)。该方法在室温、无 pH 调节下进行。

[0221]

用以下萃取						
水	乙醇	庚烷	相	硅甲藻黄素	墨角藻黄素	叶绿素 a
0	1	1	水-乙醇	88	93	55
0.1	1	1	水-乙醇	7	51	0
0.2	1	1	水-乙醇	94	98	7
0.4	1	1	水-乙醇	78	97	0
0	1	1	庚烷	12	7	45
0.1	1	1	庚烷	93	49	100
0.2	1	1	庚烷	6	2	93
0.4	1	1	庚烷	22	3	100

[0222] 2. 温度 /pH 效应

[0223] 下表表示在用庚烷萃取叶绿素 a 后,温度和 pH 对通过用庚烷萃取水:乙醇相(1:1)分离硅甲藻黄素和墨角藻黄素的影响。所示的值为各个化合物在所示相中的量。括弧中的值表示两相之间的%分布。

[0224]

缓冲液	水-乙醇相		庚烷相	
	硅甲藻黄素	墨角藻黄素	硅甲藻黄素	墨角藻黄素
磷酸盐, pH 11, 20°C	0 (0%)	260 (5%)	1500 (100%)	4860 (95%)
磷酸盐, pH 11, 50°C	0 (0%)	135 (5%)	1470 (100%)	2745 (95%)
NaOH-缓冲液, pH12.2, 50°C	0 (0%)	0 (0%)	1440 (100%)	0 (0%)

[0225] 回收:

[0226]

缓冲液	存在于两相中的总数		初始量的回收%	
	硅甲藻黄素	墨角藻黄素	硅甲藻黄素	墨角藻黄素
磷酸盐, pH 11, 20°C	1500	5120	106%	81%
磷酸盐, pH 11, 50°C	1470	2880	104%	46%
NaOH-缓冲液, pH12.2, 50°C	1440	0	102%	0%

[0227] 这表明硅甲藻黄素在所用的条件下是稳定的,而墨角藻黄素对极端温度和 pH 更敏感。

[0228] 3. 温度效应

[0229] 下表表示在 pH 为 11 时水:乙醇:庚烷为 1:1:1 时温度对 200 分钟萃取的影响。

[0230]

温度 (°C)	水-乙醇相			庚烷相		
	硅甲藻黄素	墨角藻黄素	叶绿素a	硅甲藻黄素	墨角藻黄素	叶绿素a
20	170	380	0	1155	1065	3290
35	180	210	0	1260	610	3505
50	190	0	0	1310	95	4010

[0231] 因此,硅甲藻黄素在各种温度下是稳定的,而墨角藻黄素对较高温度更敏感。

[0232] 墨角藻黄素的萃取(从大藻中)

[0233] 该方法为硅甲藻黄素方法(上述)的修改。

[0234] 1. 将叶和柄(来自藻极北海带(algae Laminaria hyperborea))切成段。

[0235] 2. 将乙醇(5ml)和庚烷(5ml)加到藻原料(1g,湿重)中,在Whirl混合器中混合(3×15s),并在4°C下放置4小时。(在某些方案中,在这个阶段,离心混合物,并从乙醇或庚烷部分萃取类胡萝卜素。在其它方案中,用甲烷代替乙醇。)

[0236] 3. 加入1.5ml水,在Whirl混合器中混合(3×15s),并在4°C下放置1小时。离心(在3222×g下10分钟)溶液,乙醇-水相用于进一步提纯墨角藻黄素。(如上文所述的通过HPLC进行提纯。)

[0237] 4. 得到800 μg/g(干重)的产量。

[0238] 该方法提供一种用于大规模萃取墨角藻黄素而同时除去其它细胞组分的萃取方法,其它细胞组分被认为难以从样品中从类胡萝卜素(例如叶绿素a)中分离。

[0239] 实施例3:使用体外皮肤模型的吸收辐射功效

[0240] 方法

[0241] 使用Springsteen体外方法(Springsteen等,1999, AnalyticaChimica Acta, 380,第155-164页)。体外皮肤用作皮肤模拟物,饱和的植物脂肪酸三甘油酯(Miglyol)(Miglyol812F Neutraloel CHG.040906)用作溶剂。用Varian Cary300Cone紫外可见分光光度计(带有积分球)进行测试。在所图3所示的浓度下测试墨角藻黄素和硅甲藻黄素(如实施例2中所述的分离)。

[0242] 结果

[0243] 硅甲藻黄素和墨角藻黄素的结果(在不同浓度)如图3所示。结果与常规SPF60防晒乳液比较,证明化合物吸收辐射的能力,尤其是在光谱的蓝光范围,但是也在上UVA范围。图4表示相对于光的波长作图的%透射率。虚线表示浓度和吸收之间的大致关系,表明为在454nm(蓝光)处提供足够保护,在最终溶液中小于5mg/ml是足够的。

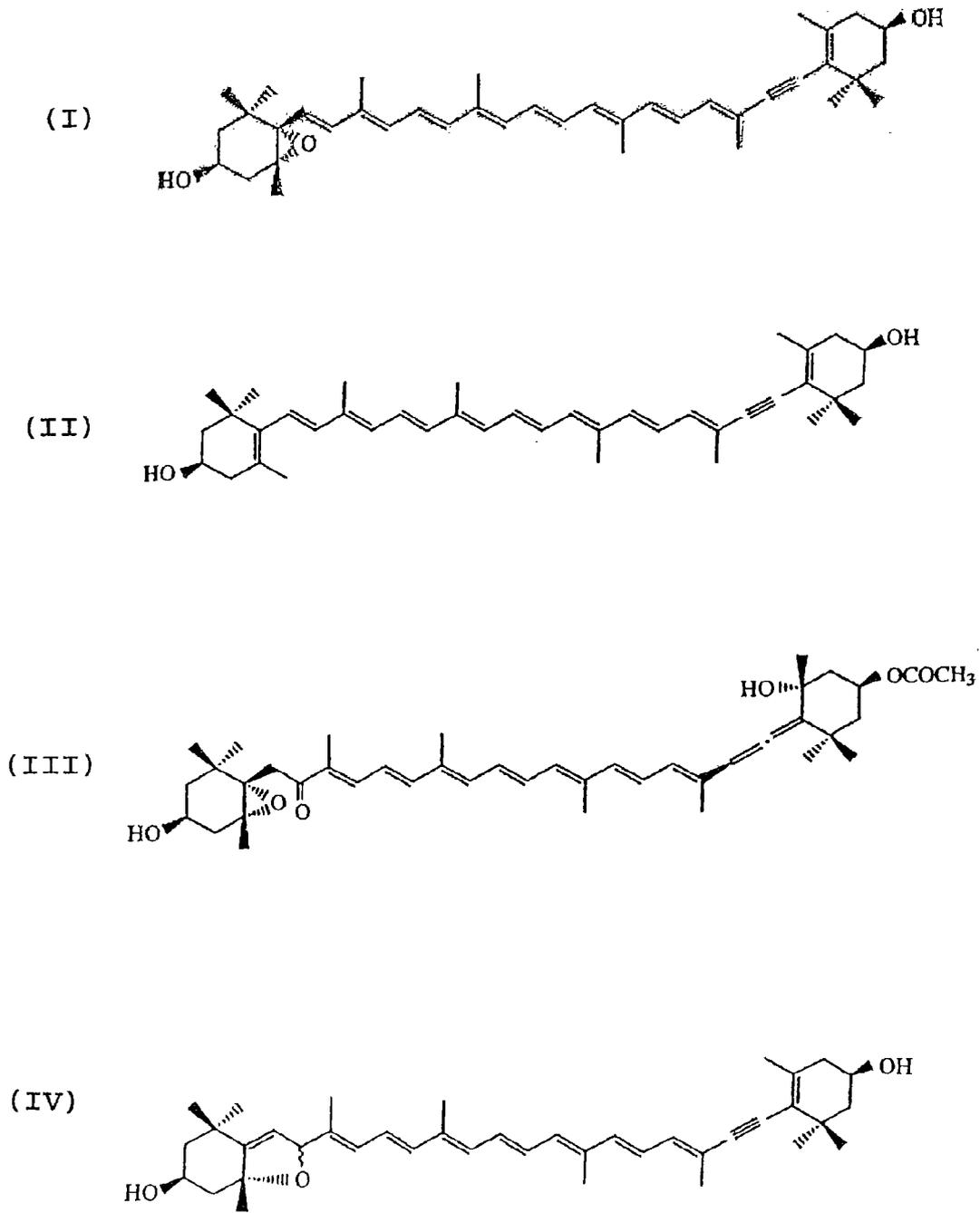


图 1

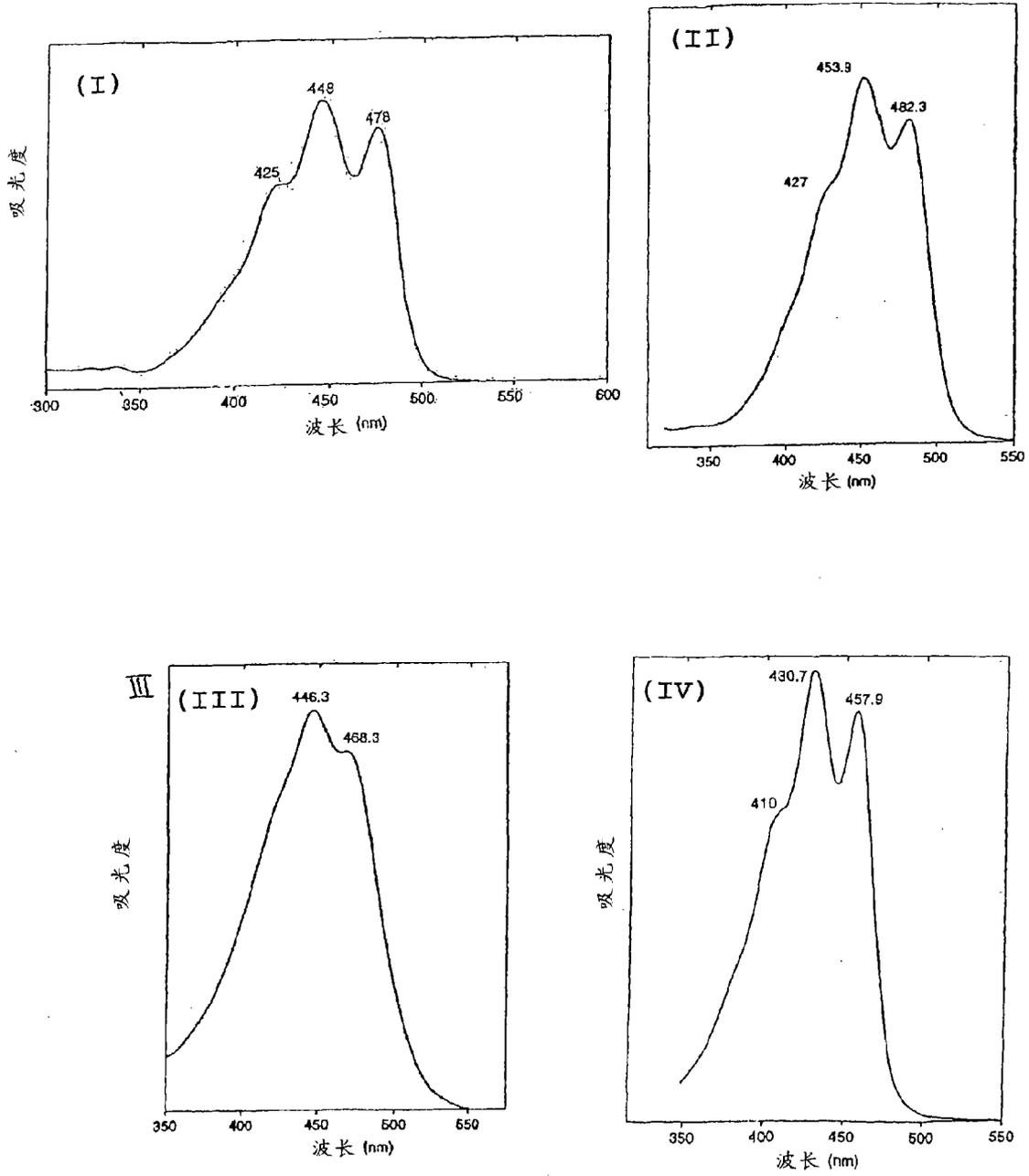


图 2

使用不同浓度的墨角藻黄素和硅甲藻黄素和饱和脂肪酸甘油酯的积分球分析的透射光谱。  
 所示的市售遮光剂SPF60作为对比。体外皮肤+饱和的植物脂肪酸甘油酯为对照物。

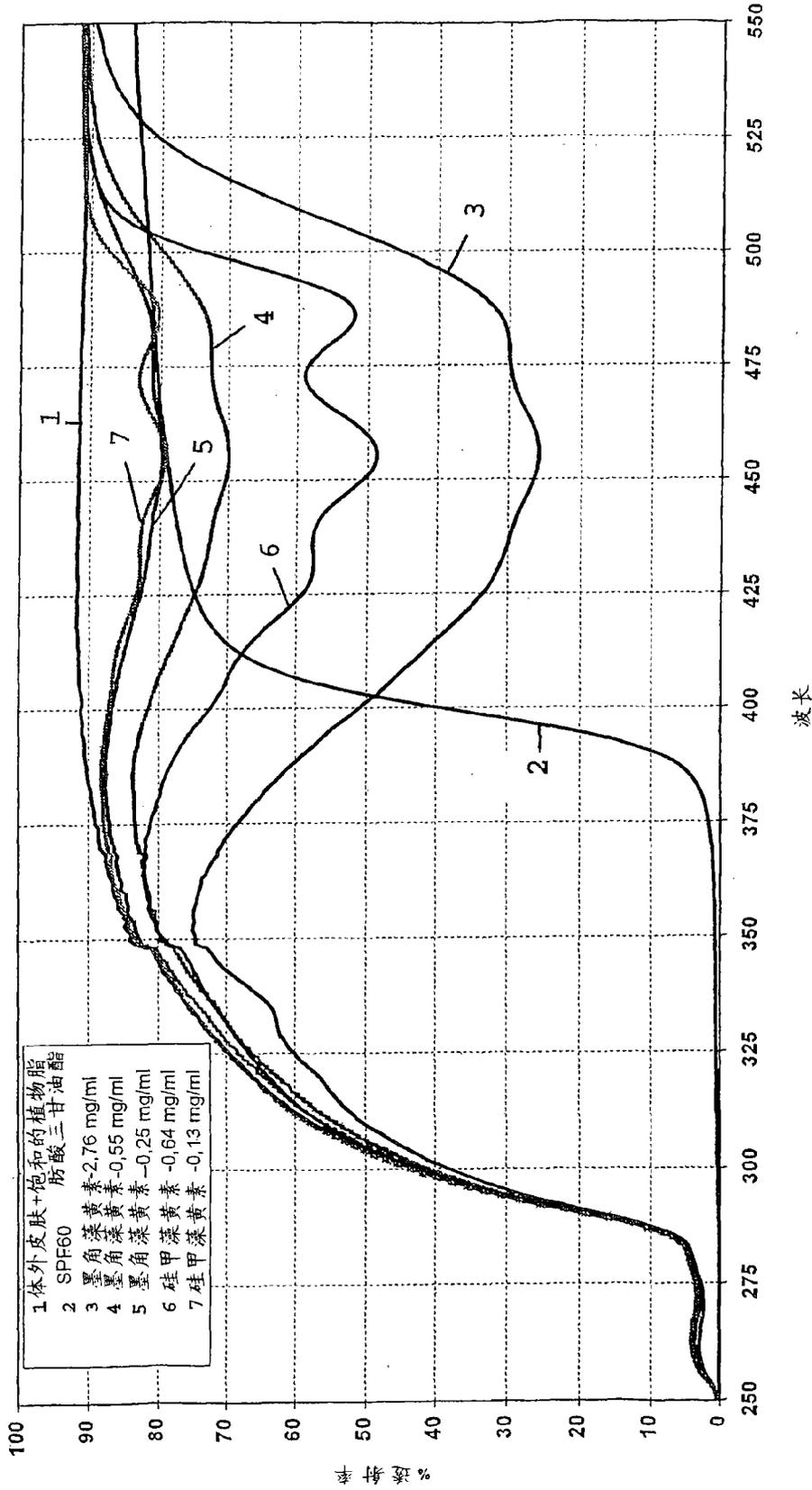


图3

作为硅甲藻黄素和墨角藻黄素的函数在454nm处透射率的降低(数据来自积分球分析).  
 浓度为给定化合物和它们降解产物的总和(见文本框).

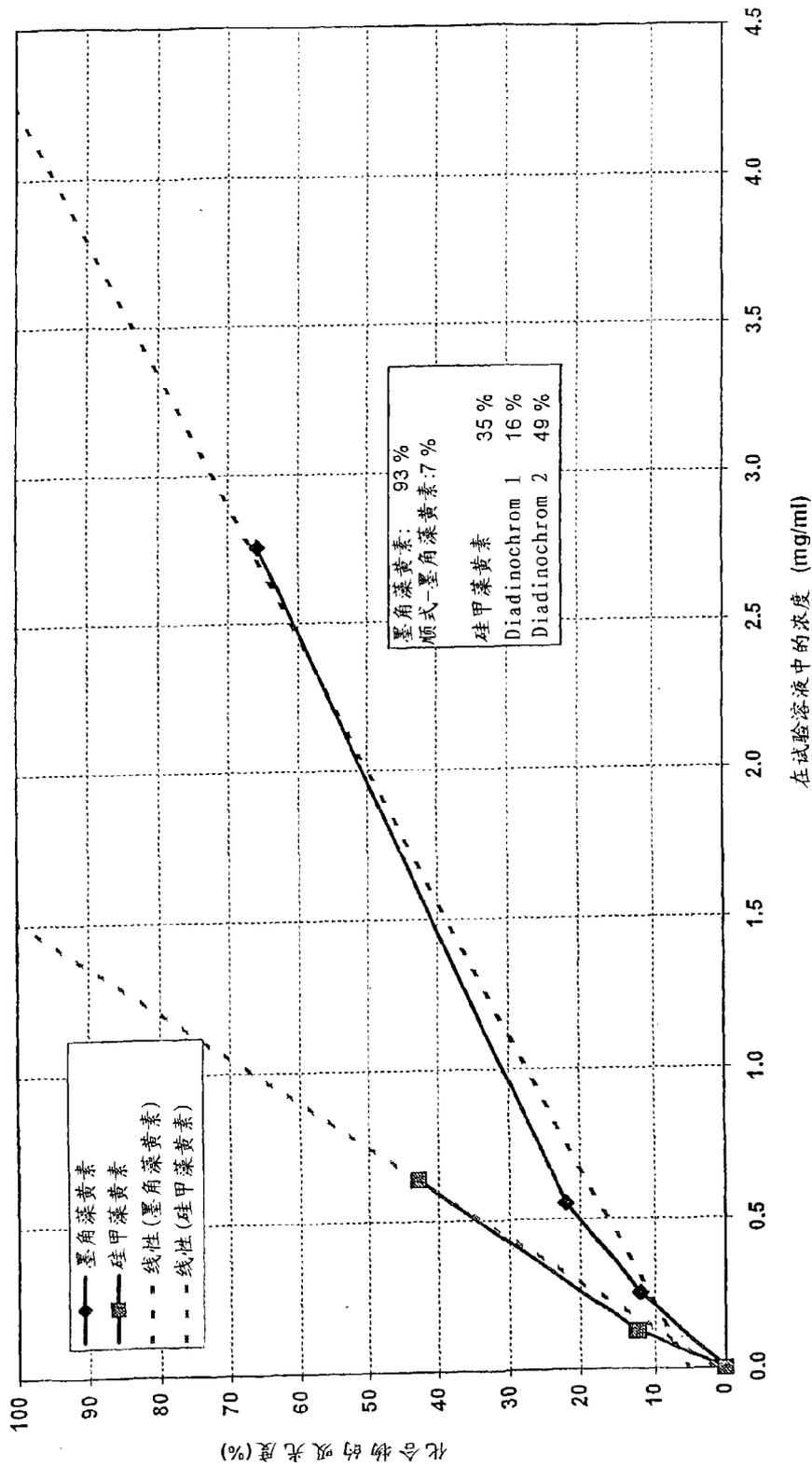


图 4