

DOMANDA DI INVENZIONE NUMERO	102021000012806
Data Deposito	18/05/2021
Data Pubblicazione	16/08/2021

Classifiche IPC

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K	31	095

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	P	17	02

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	P	17	18

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	P	29	02

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	07	H	5	08

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	07	H	15	203

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K	47	60

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	08	K	5	48

Titolo

GLICOCONIUGATO SINTETICO E MEMBRANA POLIMERICA COMPREDENTE TALE GLICOCONIUGATO
--

la produzione di molecole antiossidanti, enzimatiche e/o non enzimatiche, e di specie ossidanti. La sovrapproduzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), necessarie allo svolgimento
5 dei processi biologici, o la carenza di molecole antiossidanti può provocare una condizione di stress ossidativo. Si noti che nell'ambiente delle ferite, transitorie se provocate da eventi acuti come un intervento chirurgico o croniche se causate
10 da condizioni patologiche come il diabete, la caratteristica risposta adattativa di tipo immunitario/infiammatorio che si verifica altera l'equilibrio redox e conduce a una condizione di stress ossidativo (Pizzino G et al 2017). Ad oggi
15 sono disponibili sul mercato prodotti per la medicazione delle ferite che contribuiscono allo stesso tempo alla loro riparazione, tra cui cerotti intelligenti contenenti sostanze adiuvanti a supporto dei principi attivi.

20 Altresì come noto, parte della ricerca scientifica dell'ultimo decennio si è concentrata sull'individuazione di sostanze antiossidanti che possono contrastare gli effetti causati da un accumulo delle specie reattive dell'ossigeno. Tra
25 le molecole ad attività antiossidante scoperte vi

sono:

- i polifenoli, i quali sono presenti negli alimenti di origine vegetale e sono stati associati alla riduzione di malattie cardiovascolari, tumori e disordini neurodegenerativi;
- composti contenenti l'elemento selenio (Se), la cui carenza è stata associata a diverse patologie.

In letteratura sono già noti preparati con selenio e polifenoli. A titolo di esempio si segnalano coniugati della proteina della soia fortificata con selenio e polifenoli (Zhang X et al 2020). Si identificano inoltre studi sulle interazioni di specie contenenti selenio e polifenoli (Sentkowska A et al 2019) o sulla combinazione di diversi composti di organoselenio e organosolfuri con derivati fenolici (Begines P et al 2020).

Sono altresì noti studi sul resveratrolo, un polifenolo non-flavonoide che si trova nel vino e che è già ampiamente utilizzato in formulazioni cosmetiche e alimentari proprio per l'azione antiossidante che lo caratterizza. Negli studi viene utilizzato solo o in combinazione, anche con lo stesso selenio, nell'ambito di alcune patologie. Si segnala a titolo di esempio un recente studio in merito alla malattia di Alzheimer in cui è stato

analizzato l'effetto di selenio e resveratrolo su una particolare linea cellulare (Cosín-Tomás M et al 2019), oppure uno studio dell'effetto del resveratrolo su una linea di cellule di un cancro (Emília Juan M 2008).

Sono note pubblicazioni relative alla veicolazione di polifenoli tramite la pelle, così come diverse tipologie di preparati, quali: nanoparticelle combinate con galattosio (Siu FYK et al 2018); membrane in acetato di cellulosa per l'osseointegrazione (Pandel AM et al 2018); particolari micelle polimeriche (Li TP et al 2017); resveratrolo in nanoparticelle di selenio (Yang L et al 2018).

Sono noti documenti brevettuali relativi ad:

- un metodo di preparazione e applicazione di una membrana polimerica modificata con polifenoli vegetali per il trattamento di liquidi di fognatura, come descritto in CN107670513A;
- una formulazione a base di polifenoli per il trasporto transdermico rapido della vitamina C o altro e con diversi scopi, come descritto in WO2008035353A2;
- una membrana polimerica per la veicolazione transdermica di un farmaco analgesico e

antinfiammatorio, come descritto in KR100249117B1.

Sono noti altresì prodotti che comprendono sia polifenoli sia selenio:

- un composto polifenolico con un complesso con il selenio, come descritto in CN104119260A,
- un composto con una descrizione simile a quello sopracitato volto ad agire contro il virus dell'epatite B, come descritto in CN104208082A.

Sono note una pluralità di invenzioni che includono il resveratrolo o derivati (come descritto in FR2947179A1, oppure WO2015131423A1 in cui si ha il resveratrolo selenizzato) e documenti che ne indicano un uso specifico, incluso:

- funzione riparatrice per le rughe e/o sbiancamento della pelle, come descritto in CN104644475A e EP2642973A1;
- prevenzione dell'invecchiamento, come descritto in KR101971767B1;
- trattamento di alcune ferite, come descritto in CN108354947A.

Infine sono noti documenti brevettuali relativi a composti con selenio e selenozuccheri, come descritto in AU5248786A, WO2016/054671, US2014/0206658 e US2015/0191446.

E' evidente come non sia noto né un

glicoconiugato con azione antiossidante dotato di due unità funzionalmente attive all'interno di una sola molecola mediante legame covalente, né un materiale polimerico contenente tale composto di
5 formulazione, permettendone la somministrazione transdermica.

Scopo della presente invenzione è risolvere i suddetti problemi della tecnica anteriore, fornendo un glicoconiugato sintetico con attività
10 antiossidante.

Un altro scopo della presente invenzione è fornire un materiale polimerico contenente il glicoconiugato sintetico in grado di permettere una somministrazione controllata per via transdermica
15 del glicoconiugato.

Un ultimo scopo della presente invenzione è quello di fornire un metodo di realizzazione di un materiale polimerico contenente il glicoconiugato sintetico.

20 I suddetti ed altri scopi e vantaggi dell'invenzione, quali risulteranno dal seguito della descrizione, vengono raggiunti con un glicoconiugato sintetico come quello descritto nella rivendicazione 1. Altresì suddetti ed altri
25 scopi e vantaggi dell'invenzione, quali

risulteranno dal seguito della descrizione, vengono raggiunti con un materiale polimerico contenente tale glicoconiugato come quello descritto nella rivendicazione 5 e relativo metodo di realizzazione
5 come quello descritto nelle rivendicazioni 6 e 7.

Forme di realizzazione preferite e varianti non banali della presente invenzione formano l'oggetto delle rivendicazioni dipendenti.

Resta inteso che tutte le rivendicazioni
10 allegate formano parte integrante della presente descrizione.

Risulterà immediatamente ovvio che si potranno apportare a quanto descritto innumerevoli varianti e modifiche (per esempio relative a forma,
15 dimensioni, disposizioni e parti con funzionalità equivalenti) senza discostarsi dal campo di protezione dell'invenzione come appare dalle rivendicazioni allegate.

La presente invenzione verrà meglio descritta
20 da alcune forme preferite di realizzazione, fornite a titolo esemplificativo e non limitativo, con riferimento ai disegni allegati, nei quali:

- la FIG. 1 mostra la struttura del glicoconiugato di formula 1, secondo la presente
25 invenzione;

- la FIG. 2 mostra un processo di sintesi del glicoconiugato di formula 1, secondo la presente invenzione;
- le FIGG. 3 e 4 mostrano un materiale polimerico contenente il glicoconiugato di formula 1, secondo la presente invenzione; e
- le FIGG. 5 e 6 mostrano la cinetica di rilascio per via transdermica da parte del materiale polimerico 10 del glicoconiugato di formula 1, secondo la presente invenzione.

Per meglio comprendere il testo della descrizione di seguito definizioni e abbreviazioni:

PEGDA: monomero diacrilico polietilenglicole diacrilato;

HEMA: monomero monoacrilico 2-idrossietil metacrilato;

AA: Acido Ascorbico;

DPPH: difenilpicrilidrazile;

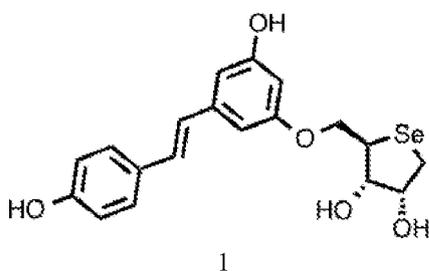
OAc e AcO: gruppo acetossi;

ACONH₄: acetato di ammonio;

ACOET: acetato di etile.

Come noto un'antiossidante è una sostanza chimica che impedisce l'ossidazione di altri prodotti chimici, protegge i componenti della cellula neutralizzando gli effetti dannosi dei

radicali liberi, derivato dell'ossigeno (ROS, specie reattive dell'ossigeno), e/o derivato dell'azoto (RNS, specie reattive dell'azoto), che altera gli equilibri ossidanti-antiossidanti presenti nella cellula, inducendo uno stress ossidativo. Di conseguenza facendo riferimento alla FIG.1, un glicocongiugato di formula 1 con attività antiossidante, secondo la presente invenzione, è utilizzato per ridurre le condizioni di stress ossidativo e per favorire il processo riparativo di ferite acute e croniche per il trattamento di stati infiammatori della pelle.



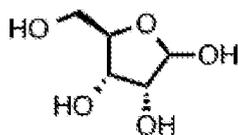
Costituito da una prima unità molecolare comprendente un carboidrato, quale, ad esempio, una molecola di ribosio 2, o altra analoga, in cui un atomo di ossigeno (O) è stato sostituito da un elemento chimico biocompatibile, quale un atomo di selenio (Se), e da una seconda unità molecolare comprendente un polifenolo dotato di attività

antiossidante, analogamente al selenio (Se). La prima unità molecolare e la seconda unità molecolare sono reciprocamente legati da legami covalenti.

5 Vantaggiosamente, il polifenolo della seconda unità molecolare è una molecola di resveratrolo e la prima unità molecolare è un trasportatore di selenio Se, in grado di favorirne il passaggio attraverso le membrane cellulari del glicoconjugato
10 di formula 1.

E' descritto, come mostrato in FIG.2, un processo di sintesi del glicoconjugato di formula 1:

- predisposizione di una molecola di ribosio 2;

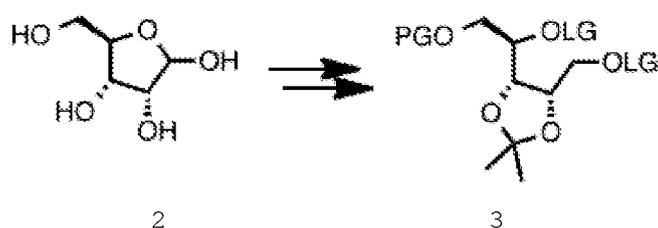


15

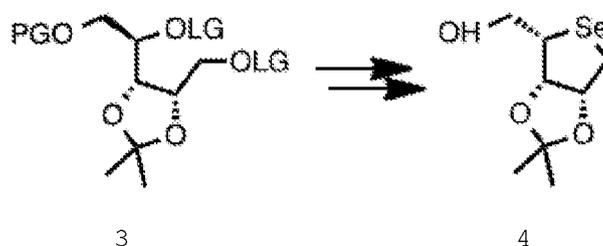
2

- utilizzo di almeno un gruppo protettivo (Protecting Group PG) in grado di reagire con la molecola di ribosio 2 legandosi ad almeno un gruppo
20 funzionale della molecola di ribosio 2, impedendo che tale gruppo funzionale inibisca successive reazioni chimiche, e di almeno un gruppo uscente (Leaving Group LG) in grado di separarsi dalla

molecola di ribosio 2 lasciando un residuo, favorendo una reazione nucleofila di sostituzione, ed ottenimento di un primo prodotto derivato 3 in grado di favorire la sostituzione di un atomo di ossigeno (O) della molecola di ribosio 2 con un atomo di selenio (Se);

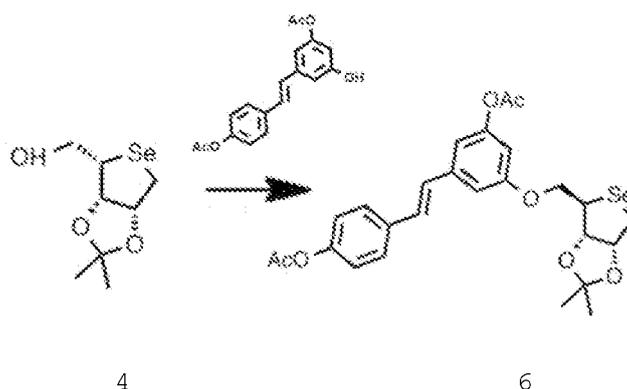


- ottenimento di un secondo prodotto derivato 4, quale il selenodeossi zucchero protetto in posizione C-2 e C-3 con isopropilidene, preferibilmente con un grado di purezza maggiore del 90% e con una resa totale del 75%, fungendo da impalcatura in una reazione di accoppiamento (coupling) tra il secondo prodotto derivato 4 e una molecola di resveratrolo di acetilato 5;

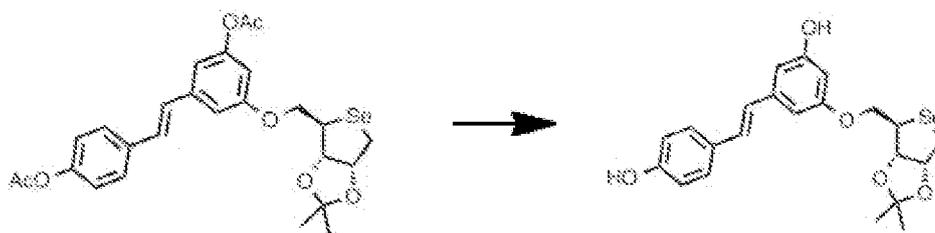


- reazione di accoppiamento tra l'ossidrile fenolico in C5 della molecola di resveratrolo di acetilato 5, con aggiunta di gruppi acetosi (OAc,

AcO), con funzione protettiva, e l'ossidrile
primario del secondo prodotto derivato 4,
preferibilmente mediante un procedimento di chimica
organica, quale ad esempio una reazione di
5 Mitsunobu o altro analogo, che favorisce la
reattività dei gruppi funzionali ossidrilici,
utilizzando preferibilmente la trifenilfosfina a
temperatura ambiente in atmosfera inerte, per
almeno tre giorni, ed ottenimento di un primo
10 composto precursore 6;



- rimozione del gruppo acetossi (OAc e AcO) ed
15 ottenimento di un secondo composto precursore 7,
quale un glicoconiugato protetto in posizione C-2 e
C-3 con isopropilidene;



[3,4-d][1,3]dioxol-4yl)methoxy)styryl)phenyl
acetate):

A una soluzione di trifenilfosfina (0.963 g, 3.22 mmol) in tetraidrofurano (THF) anidro (4.9 mL),
5 viene aggiunto diisopropilazodicarbossilato (0.650 mL, 3.22 mmol) a una temperatura di 0 °C sotto
flusso di azoto (N₂). Dopo 15 minuti viene aggiunta
una soluzione di 4 (0.510 g, 2.15 mmol) e
resveratrolo diacetilato (1.00 g, 3.22 mmol) in THF
10 anidro (6.5 mL). La miscela di reazione viene
portata a temperatura ambiente e lasciata in
agitazione per tre giorni. Il solvente viene,
rimosso e rimpiazzato con acetato di etile (AcOEt).
La fase organica è lavata con una soluzione satura
15 di cloruro di sodio, NaCl (2 x 10 mL), e
anidrificata con solfato di sodio (Na₂SO₄). La
rimozione del solvente e la successiva
purificazione tramite colonna cromatografica su gel
di silice (eluenti: n-esano/etere etilico 50:50)
20 permette di ottenere il primo composto precursore 6
con una resa del 26% (0.350 g, 0.6 mmol).

¹H NMR (400 MHz): δ 1.36 (s, 3H, CH₃), 1.57 (s, 3H,
CH₃), 2.32 (s, 3H, CH₃), 2.33 (s, 3H, CH₃), 3.09
(dd, J_{1b-1a} = 12.0 Hz, J_{1b-2} = 1.9 Hz, 1H, H1b), 3.35
25 (dd, J_{1a-1b} = 12.0 Hz, J_{1a-2} = 5.0 Hz, 1H, H1a), 3.86

(ddt, $J_{4-5b} = 8.0$ Hz, $J_{4-5b} = 5.2$ Hz, $J_{4-3} = 1.8$ Hz, 1H, H4), 4.06 (dd, $J_{5b-5a} = 9.7$ Hz, $J_{5b-4} = 8.0$ Hz, 1H, H5b), 4.24 (dd, $J_{5a-5b} = 9.7$ Hz, $J_{5a-4} = 5.2$ Hz, 1H, H5a), 4.91 (dd, $J_{3-2} = 5.6$ Hz, $J_{3-4} = 1.8$ Hz, 1H, H3),
5 5.06 (ddd, $J_{2-3} = 5.6$ Hz, $J_{2-1a} = 5.0$ Hz, $J_{2-1b} = 1.9$ Hz, 1H, H2), 6.58 (t, $J = 1.6$ Hz, 1H), 6.88 (t, $J = 1.9$ Hz, 1H), 6.91 (t, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.00 (d, $J_{7'-8'} = 10.9$ Hz, 1H, H7'), 7.1 (d, $J_{8'-7'} = 10.9$ Hz, 1H, H8'), 7.12 (d, $J_{orto} = 8.6$ Hz, 2H), 7.51 (d, $J_{orto} = 8.6$ Hz, 2H).
10

^{13}C NMR (100 MHz): δ 169.4, 159.3, 151.8, 150.3, 139.6, 134.6, 129.1, 127.8, 127.6, 121.9, 112.5, 110.6, 110.3, 107.5, 87.6, 85.2, 70.6, 46.9, 30.3, 26.7, 24.7, 21.1.

15 Sintesi del secondo composto precursore 7: (3-(((3aR,4S,6aS)-2,2-dimethyltetrahydro-selenopheno[3,4-d][1,3]dioxol-4-yl)methoxy)-5-((E)-4-hydroxystyryl)phenyl acetate):

A una soluzione del secondo prodotto derivato 6
20 (0.350 g, 0.600 mmol) in THF/MeOH (metanolo) 1:1 (1.9 mL), è aggiunto acetato di ammonio, AcONH_4 (0.342 g; 4.44 mmol). La miscela di reazione viene lasciata in agitazione, a temperatura ambiente, per due giorni. Il solvente è rimosso e rimpiazzato con
25 acetato di etile (AcOEt). La fase organica è lavata

con una soluzione satura di NaCl (2 x 10 mL) e anidrificata con Na₂SO₄. La rimozione del solvente e la successiva purificazione tramite colonna cromatografica su gel di silice (eluenti: n-
5 esano/acetato di etile 60:40) permette di ottenere il secondo composto precursore 7 con una resa del 53% (0.130 g, 0.28 mmol)

¹H NMR (500 MHz): δ 1.37 (s, 3H, CH₃), 1.58 (s, 3H, CH₃), 3.09 (dd, J_{1b-1a} = 11.9 Hz, J_{1b-2} = 1.5 Hz,
10 1H, H_{1b}), 3.36 (dd, J_{1a-1b} = 11.9 Hz, J_{1a-2} = 5.0 Hz, 1H, H_{1a}), 3.86 (ddt, J_{4-5b} = 8.1 Hz, J_{4-5a} = 5.2 Hz, J₄₋₃ = 1.9 Hz, 1H, H₄), 4.05 (dd, J_{5b-5a} = 9.3 Hz, J_{5b-4} = 8.0 Hz, 1H, H_{5b}), 4.24 (dd, J_{5a-5b} = 9.3 Hz, J_{5a-4} = 5.2 Hz, 1H, H_{5a}), 4.92 (dd, J₃₋₂ = 5.5
15 Hz, J₃₋₄ = 1.3 Hz, 1H, H₃), 5.07 (m, 1H, H₂), 6.32 (bs, 1H), 6.60 (bs, 1H), 6.61 (bs, 1H), 6.89-6.82 (m, 3H, H_{7'}, H_{orto}), 7.00 (d, J_{8'-7'} = 16.2 Hz, 1H, H_{8'}), 7.40 (d, J_{orto} = 8.5 Hz, 2H).

¹³C NMR (125 MHz): δ 159.8, 154.0, 141.6, 132.1,
20 129.9, 128.1, 128.0, 126.0, 115.7, 109.8, 106.3, 105.2, 101.3, 87.7, 85.2, 70.5, 47.1, 30.9, 26.7, 24.7.

Sintesi composto di formula 1((2S,3R,4S)-2-((3-hydroxy-5-((E)-4hydroxystyryl)phenoxy)methyl)

25 Tetrahydroselenophene 3,4-diol):

Al secondo composto precursore 7 (0.130 g, 0.280 mmol) è aggiunta una soluzione (1.0 mL) di acido acetico/acqua, CH₃COOH/H₂O (8:2). La miscela di reazione è tenuta in agitazione a una temperatura di 80°C per 2 ore. La fase organica è lavata con acqua e anidrificata con Na₂SO₄. La rimozione del solvente e la successiva purificazione tramite colonna cromatografica su gel di silice (eluenti: n-esano/acetato di etile 40:60) permette di ottenere il composto di formula 1 (0.057 g, 0.135 mmol, 48%).

¹H NMR (500 MHz, acetoneD₆): δ 2.86 (dd, J_{1b-1a} = 10.0 Hz, J_{1b-2} = 5.2 Hz, 1H, H_{1b}), 3.07 (dd, J_{1a-1b} = 10.0 Hz, J_{1a-2} = 5.0 Hz, 1H, H_{1a}), 3.84 (m, 1H, H₄), 4.10 (dd, J_{5b-5a} = 9.6 Hz, J_{5b-4} = 8.3 Hz, 1H, H_{5b}), 4.15 (m, 1H, H₃), 4.50-4.40 (m, 2H, H_{5b}, H₂), 6.35 (bs, 1H), 6.35 (t, J_{meta} = 2.1 Hz, 1H), 6.66 (bs, 1H), 6.69 (bs, 1H), 6.86 (d, J_{orto} = 8.5 Hz, 2H), 6.96 (d, J_{7'-8'} = 16.3 Hz, 1H, H_{7'}), 7.13 (d, J_{8'-7'} = 16.3 Hz, 1H, H_{8'}), 7.46 (d, J_{orto} = 8.5 Hz, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, acetoneD₆): δ 160.2, 158.8, 157.4, 140.1, 129.0, 128.7, 127.9, 125.7, 115.5, 106.3, 103.7, 101.1, 78.4, 76.0, 71.5, 42.4, 24.1.

Sperimentalmente è stato eseguito un test

colorimetrico, per determinare il potere antiossidante del glicoconjugato di formula 1, valutando il decadimento del radicale difenilpicrilidrazile (DPPH), tale radicale (DPPH) è utilizzato per valutare la capacità del glicoconjugato di formula 1 di agire come inibitore (scavenger) del radicale libero, secondo le seguenti fasi:

a) predisposizione di una soluzione di DPPH [2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, PM 394.33, C18H72N5O6] (2,2-difenil-1-picrilidrazile), caratterizzato da un colore viola intenso, monitorata spettrofotometricamente alla lunghezza di assorbimento localizzata intorno a 517 nm;

b) inserimento del glicoconjugato di formula 1 a concentrazioni crescenti da 3 a 400 μ M per 30 minuti a temperatura ambiente;

c) inibizione del radicale e valutazione mediante ultravioletti UV del graduale cambiamento del colore della soluzione di DPPH, in funzione delle concentrazioni crescenti del glicoconjugato di formula 1;

d) ripetizione della fasi da b) a c) per il secondo composto precursore 7;

e) ripetizione della fasi da b) a c) per il

secondo prodotto derivato 4;

f) ripetizione della fasi da b) a c) per la molecola di resveratrolo;

g) ripetizione delle fasi da b) a c) per una
5 molecola di selenodeossi zucchero non protetto;

h) ripetizione della fasi da b) a c) per l'acido ascorbico (AA) usato come campione di riferimento;

i) evidenza del cambiamento del colore della soluzione di DPPH da un colore viola intenso ad un
10 giallo arancione e valutazione del valore di concentrazione IC_{50} del glicoconjugato di formula 1, che inibisce il 50% dei radicali presenti nella soluzione di DPPH pari a 36.35 μM , evidenziando che il glicoconjugato di formula 1 è attivo ed è dotato
15 di azione antiossidante, come riportato in tabella 1;

j) evidenza del cambiamento del colore della soluzione di DPPH da un colore viola intenso ad un
20 giallo arancione e valutazione del valore di concentrazione IC_{50} , del secondo composto precursore 7 che inibisce il 50% dei radicali presenti nella soluzione di DPPH, pari a 39,05 μM , evidenziando che è attivo ed è dotato di azione antiossidante, come riportato nella tabella 1;

25 k) evidenza del cambiamento del colore della

soluzione di DPPH da un colore viola intenso ad un
giallo arancione e valutazione del valore di
concentrazione IC₅₀, della molecola di
resveratrolo, che inibisce il 50% dei radicali
5 presenti nella soluzione di DPPH pari a 17,82 µM,
evidenziando che è attivo ed è dotato di azione
antiossidante, come riportato nella tabella 1;

l) evidenza del non cambiamento di colore della
soluzione di DPPH da un colore viola intenso ad un
10 giallo arancione, e valutazione del valore di
concentrazione IC₅₀ pari a zero del secondo
prodotto derivato 4, che non inibisce il 50% dei
radicali presenti nella soluzione di DPPH,
evidenziando che è non attivo e non è dotato di
15 azione antiossidante, come riportato nella tabella
1;

m) evidenza del non cambiamento di colore della
soluzione di DPPH da un colore viola intenso ad un
giallo arancione, e valutazione del valore di
20 concentrazione IC₅₀ pari a zero del selenodeossi
zucchero non protetto, che non inibisce il 50% dei
radicali presenti nella soluzione di DPPH,
evidenziando che è non attivo e non è dotato di
azione antiossidante, come riportato nella tabella
25 1;

n) evidenza del cambiamento del colore della soluzione di DPPH da un colore viola intenso ad un giallo arancione e valutazione del valore di concentrazione IC₅₀ dell'acido ascorbico (AA), che inibisce il 50% dei radicali presenti nella soluzione di DPPH pari a 25,59µM, evidenziando che è attivo ed è dotato di azione antiossidante, come riportato nella tabella 1.

10

Tabella 1

Composto o molecola	IC ₅₀ (µM)
7	39.05
1	36.35
resveratrolo	17.82
4	Non attivo
Selenodeossi zucchero non protetto	Non attivo
Acido Ascorbico (AA)	25.59

Inoltre, sperimentalmente, è stato eseguito un test spettrofotometrico FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), per valutare il potere antiossidante del glicoconiugato di formula 1, valutando la capacità del glicoconiugato di formula 1 di ridurre il complesso di Fe(III) 2,4,6-

tripiridil-s-triazina, indicato come $[\text{Fe(III)}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ a Fe(II) , indicato come $[\text{Fe(II)}-(\text{TPTZ})_2]^{2+}$ a pH 3.6 alla temperatura di 37°C , secondo le seguenti fasi:

- 5 a) predisposizione del complesso $[\text{Fe(III)}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ caratterizzato da un colore giallo pallido, monitorato spettrofotometricamente alla lunghezza di assorbimento localizzata intorno a 593nm;
- 10 b) inserimento del glicconiugato di formula 1 a concentrazioni crescenti da 0.9 a 119 μM per 7 minuti a 37°C , e ottenimento di una soluzione;
- c) valutazione dell'avvenuta reazione di riduzione del complesso $[\text{Fe(III)}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$, come
15 $[\text{Fe(II)}-(\text{TPTZ})_2]^{2+}$, mediante l'osservazione del cambiamento di colore del complesso $[\text{Fe(III)}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$;
- d) ripetizione della fasi da b) a c) per il secondo composto precursore 7;
- 20 e) ripetizione della fasi da b) a c) per il secondo prodotto derivato 4;
- f) ripetizione della fasi da b) a c) per la molecola di resveratrolo;
- g) ripetizione delle fasi da b) a c) per la
25 molecola di selenodeossi zucchero non protetto;

- h) ripetizione della fasi da b) a c) per l'acido ascorbico (AA) usato come campione di riferimento;
- i) evidenza del cambiamento del colore della soluzione dal colore giallo pallido ad un blu intenso e valutazione del valore di concentrazione EC_{50} del glicoconjugato di formula 1, necessario a garantire un decadimento del 50% del valore iniziale di assorbanza, pari a 26.48 μM , evidenziando che il glicoconjugato di formula 1 è attivo e agisce da agente riducente, come riportato in tabella 2;
- j) evidenza del cambiamento del colore della soluzione dal colore giallo pallido ad un blu intenso e valutazione del valore di concentrazione EC_{50} del secondo composto precursore 7, necessario a garantire un decadimento del 50% del valore iniziale di assorbanza, pari a 21.15 μM , evidenziando che il secondo composto precursore 7 è attivo e agisce da agente riducente, come riportato in tabella 2;
- k) evidenza del cambiamento del colore della soluzione dal colore giallo pallido ad un blu intenso e valutazione del valore di concentrazione EC_{50} della molecola di resveratrolo, necessario a garantire un decadimento del 50% del valore

iniziale di assorbanza, pari a 28.32 μM ,
evidenziando che la molecola di resveratrolo è
attiva e agisce da agente riducente, come riportato
in tabella 2;

5 l) evidenza del non cambiamento di colore della
soluzione dal colore giallo pallido ad un blu
intenso e valutazione del valore di concentrazione
 EC_{50} pari a zero del secondo prodotto derivato 4,
evidenziando che non è attivo e non agisce da
10 agente riducente, come riportato in tabella 2;

m) evidenza del non cambiamento di colore della
soluzione dal colore giallo pallido ad un blu
intenso e valutazione del valore di concentrazione
 EC_{50} pari a zero del selenodeossi zucchero non
15 protetto, evidenziando che non è attivo e non
agisce da agente riducente, come riportato in
tabella 2;

n) evidenza del cambiamento del colore della
soluzione dal colore giallo pallido ad un blu
20 intenso e valutazione del valore di concentrazione
 EC_{50} dell'acido ascorbico (AA), necessario a
garantire un decadimento del 50% del valore
iniziale di assorbanza, pari a 24.55 μM ,
evidenziando che l'acido ascorbico (AA) è attivo e
25 agisce da agente riducente, come riportato in

tabella 2.

Tabella 2

Composto	EC ₅₀ (µM)
7	21.15
1	26.48
resveratrolo	28.32
4	Non attivo
Selenodeossi zucchero non protetto	Non attivo
Acido Ascorbico (AA)	24.55

5 E' mostrato nelle FIGG.3 e 4, un materiale
polimerico 10 costituito dal glicoconiugato di
formula 1, progettato per permettere un rilascio
controllato per via transdermica del glicoconiugato
di formula (1), coadiuvando il processo riparativo
10 di ferite acute e croniche, riducendo lo stress
ossidativo e per il trattamento di stati
infiammatori della pelle.

Un primo metodo di realizzazione di tale
materiale polimerico 10 comprende le fasi di:

15 - ottenimento di una miscela prepolimerica,
mescolando un monomero diacrilico polietilenglicole
diacrilato (PEGDA 250, MW 250 Da), un monomero

monoacrilico 2-idrossietil metacrilato (HEMA) in rapporto 7/3 in volume, un fotoiniziatore (Darocur 1173) 1% V/V;

- aggiunta alla miscela prepolimerica il glicoconiugato di formula 1;
- fotoreticolazione mediante esposizione a luce UV; ed
- ottenimento della membrana polimerica 10 omogenea, trasparente e flessibile.

Di seguito un esempio sperimentale della realizzazione di una membrana polimerica di dimensioni 15 mm x 15 mm x 250µm, mediante tale primo metodo:

- preparazione di 50µL di miscela prepolimerica composta da 35µL di monomero diacrilico polietilenglicole diacrilato (PEGDA 250), 15 µL di monomero monoacrilico 2-idrossietil metacrilato (HEMA), 0,5 µL di fotoiniziatore e 10 µL di una soluzione acquosa del glicoconiugato di formula 1;
- posizionamento della miscela prepolimerica tra due vetrini coprioggetto (15 mm x 15 mm);
- esposizione della miscela prepolimerica alla luce UVA (350-420 nm) per due minuti.

Sperimentalmente sono state verificate miscele prepolimeriche costituite dal monomero diacrilico

polietilenglicole diacrilato (PEGDA) e il monomero monoacrilico 2-idrossietil metacrilato (HEMA) con le seguenti proporzioni:

PEGDA250/HEMA da 70/30 a 10/90;

5 PEGDA250/PEGDA575 (MW 575 Da) da 70/30 a 10/90;

PEGDA250/PEGDA700 (MW 700 MW) da 70/30 a 10/90.

Essendo la soluzione acquosa del glicoconiugato di formula 1 parzialmente immiscibile al monomero diacrilico polietilenglicole diacrilato (PEGDA250), è descritto un secondo metodo di realizzazione del materiale polimerico 10 secondo la presente invenzione, comprendente le fasi di:

- ottenimento di una miscela prepolimerica, mescolando il monomero diacrilico polietilenglicole diacrilato (PEGDA250, MW 250 Da), il monomero monoacrilico 2-idrossietil metacrilato (HEMA) in rapporto 8/2 in volume, il fotoiniziatore (Darocur 1173) 1% V/V;
- 15 - fotoreticolazione mediante esposizione a luce UV,;
- introduzione del glicoconiugato di formula 1 mediante suzione da una soluzione acquosa del glicoconiugato di formula 1;
- 25 - ottenimento della membrana polimerica 10,

omogenea, trasparente e flessibile.

Di seguito un esempio sperimentale della realizzazione di una membrana polimerica di dimensioni 15 mm x 15 mm x 250 μ m, mediante tale
5 secondo metodo:

- preparazione di 60 μ L di miscela prepolimerica composta da 48 μ L di monomero diacrilico polietilenglicole diacrilato (PEGDA250), 12 μ L di monomero monoacrilico 2-idrossietil metacrilato
10 (HEMA), e 0,5 μ L di fotoiniziatore;
- posizionamento della miscela prepolimerica tra due vetrini coprioggetto (15 mm x 15 mm), ed esposizione alla luce UVA (350-420 nm) per due minuti;
- 15 - immersione della membrana polimerica in una soluzione acquosa (5 mL) contenente il glicoconiugato (1.12 - 2.24 mg) di formula 1.

Sperimentalmente sono state verificate miscele prepolimeriche costituiti dal monomero diacrilico polietilenglicole diacrilato (PEGDA) e il monomero
20 monoacrilico 2-idrossietil metacrilato (HEMA) con le seguenti proporzioni:

- PEGDA250/HEMA da 100/0 a 80/20;
- PEGDA250/PEGDA575 (MW 575 Da) da 100/0 a 80/20;
- 25 PEGDA250/PEGDA700 (MW 700 MW) da 100/0 a 80/20.

Infine, sperimentalmente, è valutata la cinetica di rilascio controllato per via transdermica del glicoconiugato di formula 1, contenuto nella membrana polimerica 10. La membrana polimerica 10 contenente il glicoconiugato di formula 1 è immersa in acqua ultrapura milli-Q, e soluzione salina a pH fisiologico tramite cromatografia HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) vengono determinate le percentuali di rilascio del glicoconiugato di formula 1 da parte della membrana polimerica 10, in particolare:

- la membrana polimerica PEGDA250 -HEMA in rapporto 70/30, permette un rilascio del glicoconiugato di formula 1 pari al 79% del glicoconiugato di formula 1 inglobato nella membrana polimerica dopo 48 ore dall'immersione in acqua della membrana con una velocità decrescente come mostrato in FIG.5 dove sull'asse delle ascisse è riportato il tempo in ore, e sull'asse delle ordinate la percentuale di rilascio del glicoconiugato di formula 1;

la membrana polimerica PEGDA250 -PEGDA575 in rapporto 50/50 permette un rilascio del glicoconiugato di formula 1 pari al 76% del glicoconiugato di formula 1 inglobato nella

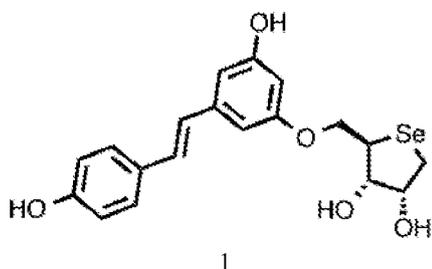
membrana polimerica dopo 6 ore dall'immersione in
acqua della membrana con una velocità decrescente
come mostrato in FIG.6 dove sull'asse delle ascisse
è riportato il tempo in ore, e sull'asse delle
5 ordinate la percentuale di rilascio del
glicoconiugato di formula 1.

In conclusione la cinetica di rilascio
controllato per via transdermica del glicoconiugato
di formula 1 da parte della membrana polimerica 10
10 dipende fortemente dalla composizione della matrice
polimerica.

Si sono descritte alcune forme preferite di
attuazione dell'invenzione, ma naturalmente esse
sono suscettibili di ulteriori modifiche e varianti
15 nell'ambito della medesima idea inventiva. In
particolare, agli esperti nel ramo risulteranno
immediatamente evidenti numerose varianti e
modifiche, funzionalmente equivalenti alle
precedenti, che ricadono nel campo di protezione
20 dell'invenzione come evidenziato nelle
rivendicazioni allegate.

RIVENDICAZIONI

1. Glicoconiugato sintetico di formula (1)



è costituito da una prima unità molecolare
5 comprendente un carboidrato in cui un atomo di
ossigeno (O) è stato sostituito da un atomo di
selenio (Se), e da una seconda unità molecolare
comprendente un polifenolo.

2. Glicoconiugato di formula (1) secondo la
10 rivendicazione precedente, caratterizzato dal fatto
che detto polifenolo di detta seconda unità
molecolare è una molecola di resveratrolo.

3. Uso come antiossidante di un glicoconiugato di
formula (1) per favorire un processo riparativo di
15 ferite acute e croniche per un trattamento di stati
infiammatori della pelle.

4. Uso come cosmetico di un glicoconiugato di
formula (1).

5. Membrana polimerica (10) secondo una qualsiasi
20 delle rivendicazioni precedenti, costituito da
detto glicoconiugato di formula 1, progettato per

permettere un rilascio controllato per via transdermica di detto glicoconiugato di formula (1), coadiuvando il processo riparativo di ferite acute e croniche, riducendo lo stress ossidativo e per il trattamento di stati infiammatori della pelle.

6. Metodo di realizzazione di detta membrana polimerica (10) secondo la rivendicazione precedente, comprendente le fasi di:

10 - ottenimento di una miscela prepolimerica, mescolando un monomero diacrilico polietilenglicole diacrilato (PEGDA250, MW 250 Da), un monomero monoacrilico 2-idrossietil metacrilato (HEMA) in rapporto 7/3 in volume, un fotoiniziatore (Darocur 15 1173) 1% V/V;

- aggiunta a detta miscela prepolimerica detto glicoconiugato di formula (1);

- esposizione a luce UV e ottenimento di detta membrana polimerica (10) omogenea, trasparente e flessibile.

7. Metodo di realizzazione di detta membrana polimerica (10) secondo la rivendicazione 5, comprendente le fasi di:

25 - ottenimento di una miscela prepolimerica, mescolando il monomero diacrilico polietilenglicole

diacrilato (PEGDA250, MW 250 Da), il monomero monoacrilico 2-idrossietil metacrilato (HEMA) in rapporto 8/2 in volume, detto fotoiniziatore (Darocur 1173) 1% V/V;

- 5 - esposizione a luce UV;
- introduzione di detto glicconiugato di formula (1) mediante suzione da una soluzione acquosa di detto composto di formula (1);
- ottenimento di detta membrana polimerica (10).

10 8. Composizioni farmaceutiche contenenti almeno un glicconiugato di formula 1.

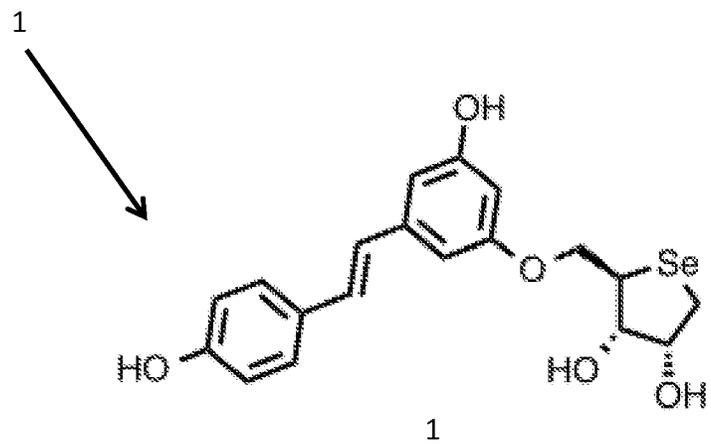


FIG.1

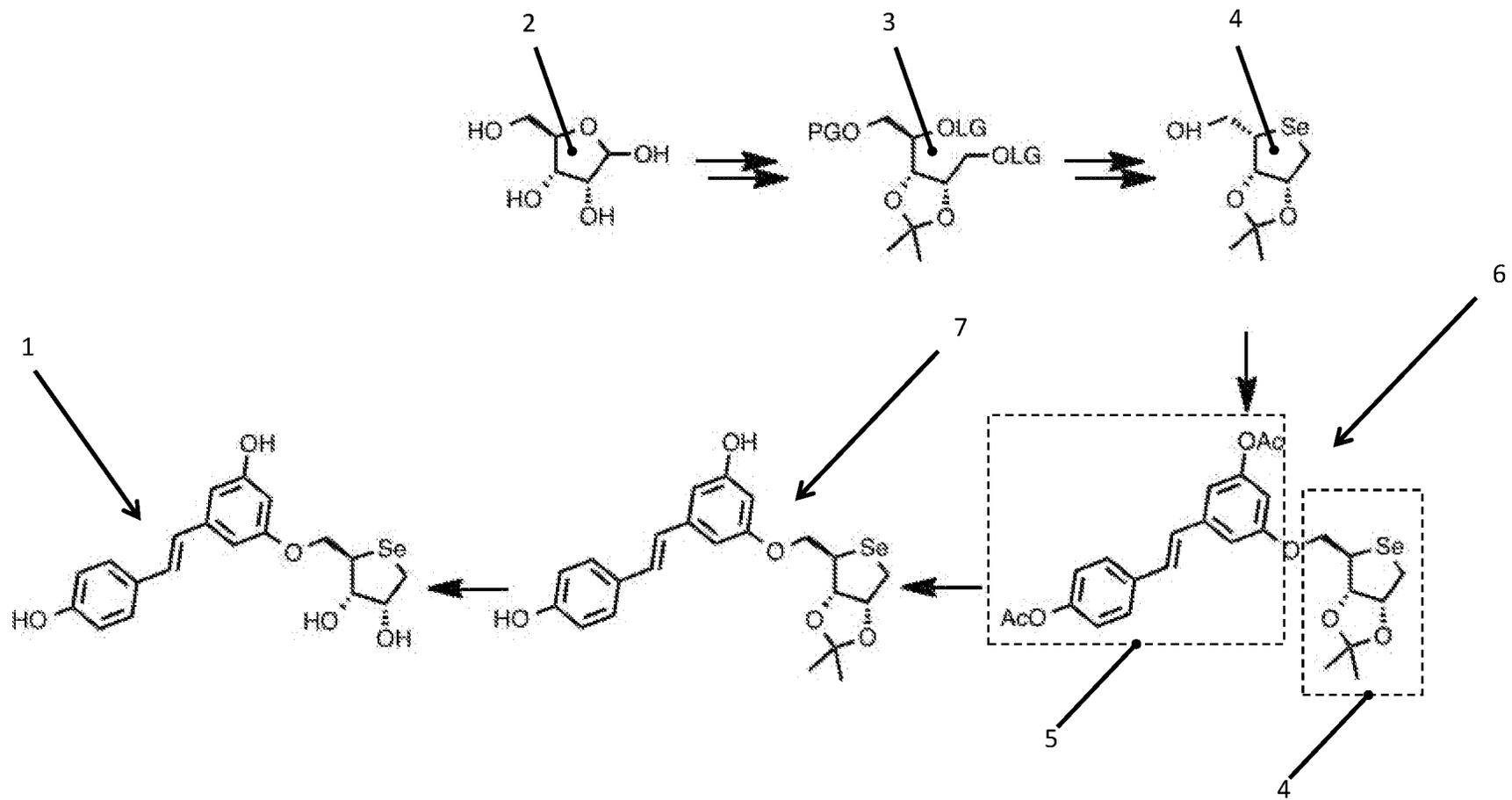
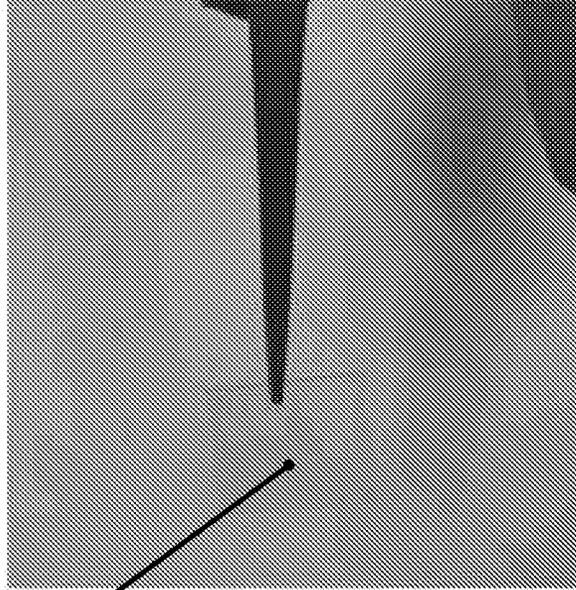
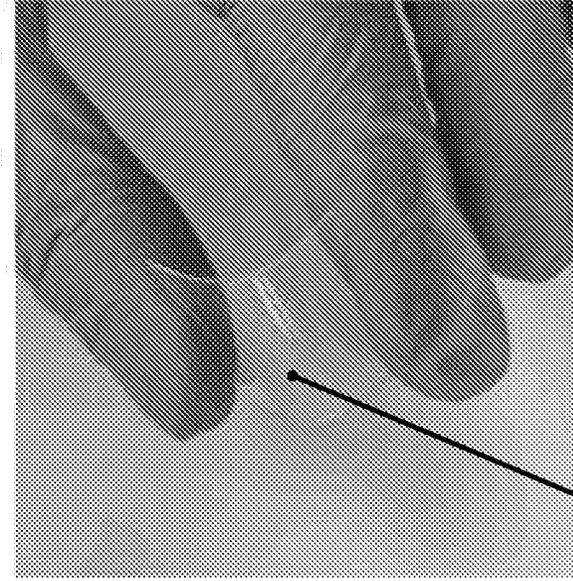


FIG.2



10

FIG. 3



10

FIG. 4

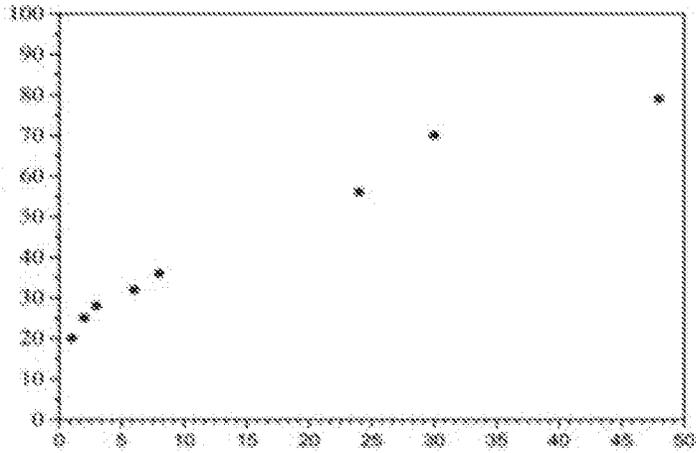


FIG. 5

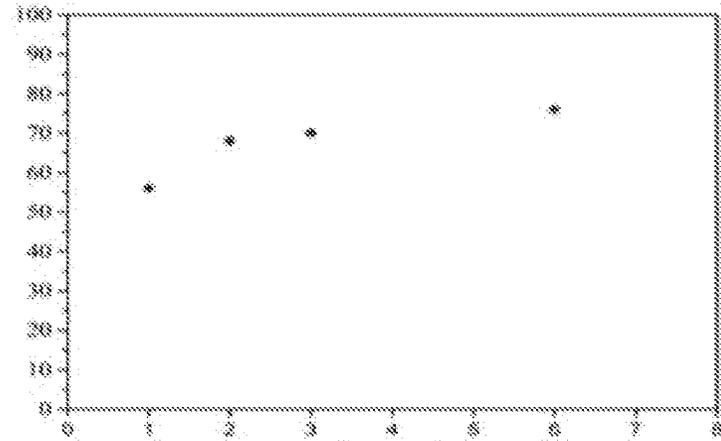


FIG. 6