



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2011 00141

(22) Data de depozit: 17.02.2011

(41) Data publicării cererii:
30.06.2011 BOPI nr. 6/2011

(71) Solicitant:
• LECA MINODORA, ALEEA HRISOVULUI
NR.6, BL.2, SC. A, ET. 1, AP.3, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;
• ȘULEA DORIN,
STR. ARHITECT IONESCU GRIGORE
NR. 1, BL. T59, ET. 5, AP. 22, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• LECA MINODORA, ALEEA HRISOVULUI
NR.6, BL.2, SC.A, ET.1, AP.3, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;
• ȘULEA DORIN,
STR. ARHITECT IONESCU GRIGORE
NR. 1, BL. T59, ET. 5, AP. 22, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, RO

(54) **BIOMATERIALE ANTIMICROBIENE AUTORETICULATE ȘI
AUTOSTERILIZATE PE BAZĂ DE COLAGEN ȘI TINCTURĂ
DE TUIA FĂRĂ SAU CU ANTISEPTIC BIGUANIDIC**

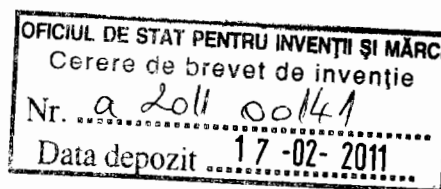
(57) Rezumat:

Invenția se referă la un material biodegradabil, utilizat pentru tratarea unor răni, și la un procedeu pentru obținerea acestuia. Materialul conform invenției este constituit din 0,1, ...1,5% collagen fibrilar, sub formă de hidrogel, 4% tinctură de tuia și, eventual, 0,67...2,5% bisguanidă. Procedeu conform invenției constă din amestecarea, sub agitare, a collagenului natural fibrilar, sub formă de hidrogel, cu apă distilată, soluție de hidroxid de sodiu 1M și tinctură de tuia, până la obți-

nerea unui raport hidrogel/ tinctură de 1/50, amestecul se maturează la o temperatură de 4°C, timp de 4...24 h, rezultând un hidrogel maturat, în care, eventual, se introduce bisguanidă până la un raport de 2/500, hidrogelul este supus eventual liofilizării, rezultând o matrice poroasă.

Revendicări: 8





BIOMATERIALE ANTIMICROBIENE AUTORETICULATE ȘI AUTOSTERILIZATE PE BAZĂ DE COLAGEN ȘI TINCTURA DE TUIA FĂRĂ SAU CU ANTISEPTIC BIGUANIDIC

Sunt cunoscute proprietățile collagenului nedenaturat de a controla funcții celulare ca forma și diferențierea celulelor, migrarea și sinteza unor proteine, precum și rolul în vindecarea rănilor, intervenind în toate etapele procesului de vindecare – hemostază, inflamație, proliferare și remodelare. Fiind proteină, este substrat și pentru dezvoltarea bacteriilor, deci nu poate asigura singur vindecarea. Asociat cu substanțe antibacteriene și aplicat topic devine sistem de eliberare a medicamentelor și poate controla infectarea rănilor prin eliberare locală.

Tincturile de *Tuia occidentalis*, datorită conținutului mare de terpene și terpenoide, au efecte antiinflamatoare și antibacteriene pentru bacterii gram-negative și gram-pozitive și se folosesc pentru tratarea infecțiilor fungice ale pielii, vindecarea exemplor, rănilor infectate, arsurilor, erupțiilor, ulcerelor sau cangrenelor senile ori de altă natură. Usucă suprafețele cangrenoase, eliminând astfel emoragia sau supurarea, distrug mirosurile neplăcute și influențează granulația. Datorită proprietăților antimicrobiene pronunțate, se utilizează topic ca atare sau în pansamente pentru vindecarea multor categorii de răni, inclusiv infectate și cu mirosuri fetide.

Prin combinarea proprietăților antiinflamatoare, antibacteriene și de uscare a suprafețelor lezate pe care le are tinctura de tuia cu capacitatea de vindecare a collagenului, suport ideal pentru imobilizarea principiilor active din plante, se obțin materiale bioabsorbabile eficiente pentru tratarea rănilor.

Terpenele au și alte proprietăți benefice pentru vindecarea rănilor: măresc permeația și îmbunătățesc reținerea medicamentelor în piele; combinate cu antiseptice pot avea efecte sinergetice, unele amestecuri putând elimina atât microorganisme cu rezistență naturală la antibiotice, cât și pe cele devenite rezistente datorită utilizării fără discernământ a substanțelor antimicrobiene, transformându-se *in vivo* din bacteriostatice în bactericide.

Hexameten bisguanidele cationice, substanțele antimicrobiene cele mai utilizate în practica clinică pentru antisepsia pielii, recomandate în mod curent în ghidurile Evidence-Based Practice in Infection Control (EPIC) și Health-care Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC), aplicate topic distrug bacteriile gram-pozitive, gram-negative și intermediarii acestora și au efect rezidual prelungit, prevenind astfel redezvoltarea acestora în locul în care s-a făcut aplicarea.

Invenția se referă la obținerea de materiale bioabsorbabile autoreticate și autosterilizate pe bază de collagen nederaturat și tinctură de tuia occidentalis, care nu conțin sau au un antiseptic biguanidic, în special hexameten bisguanide cationice, utilizabile pentru tratarea rănilor deschise neinfectate și infectate, uscate sau supurante.

Pentru prepararea acestora se utilizează hidrogeluri de collagen fibrilar tip I obținute în special din piele sau tendoane de vițel prin tehnologiile consacrate.

Biomateriale pe bază de collagen care conțin tincturi de plante pentru a produce autoreticare și autosterilizare și a imprima proprietăți antibacteriene nu au fost găsite în literatura de specialitate. S-a găsit o singură lucrare care discută proprietățile de vindecare ale matricilor poroase de collagen care conțin triphala, o formulare tradițională ayurvedică cu proprietăți antifungice, antivirale și antialergice constituită din trei plante, dar acestea au fost obținute prin altă metodă, iar introducerea principiilor active în matricile de collagen s-a făcut prin imersia acestora în extract metanolic și nu utilizând tinctură.

Tinctura de tuia este compatibilă cu hidrogelul de collagen. Aceasta se introduce prin picurare în hidrogelul cu pH prestabilit (acid sau slab bazic) sub agitare continuă, într-o asemenea cantitate încât concentrația collagenului în hidrogelul final și raportul hidrogel/tinctură să aibă valorile dorite. Hidrogelurile obținute se maturează la 4°C, 24 h cele acide și mai puțin timp cele bazice și se păstrează la aceeași temperatură. Tinctura de tuia mărește viscozitatea hidrogelurilor, mai puțin în mediu acid și mai mult în mediu slab bazic. Spectrele FT-IR și UV-DC, precum și măsurătorile de viscozitate și de moduli de stocare și de pierderi arată că fibrilele de collagen sunt reticate de componente din tinctură.

În vederea tratării rănilor, este de dorit ca absorbția collagenului să nu se producă în timp foarte scurt, ci să aibă loc în minimum 3 zile, pentru a evita redeschiderea rănilor prin schimbarea frecventă a pansamentului, respectiv mărirea pericolului de infecție. Viteza de absorbție a collagenului poate fi micșorată prin creșterea densității sale de reticare.

Cel mai utilizat agent de reticare pentru collagen este aldehida glutarică, dar creșterea concentrației sale pentru a mări gradul de reticare intensifică citotoxicitatea collagenului. De aceea este de dorit ca reticarea să se realizeze cu produse naturale.

Brevetul german EP 1593399 și cel corespunzător canadian/Stațele Unite ale Americii CA/US 7604816 afirmă că introducerea bisguanidelor liniare are ca efect încetinirea vizibilă a absorbției collagenului în organism, efect atribuit, după părerea autorilor, acțiunii bactericide a bisguanidei, care ar preveni răspândirea microorganismelor ce produc collagenaza, enzima care denaturează collagenul. Spectrele FT-IR și UV-CD, precum și măsurătorile de viscozitate și de moduli de stocare și pierderi efectuate pentru hidrogelurile ce conțin bisguanide cationice au arătat însă că acestea produc reticarea collagenului, care crește cu mărirea concentrației

bisguanidei în hidrogel, în special în mediu bazic. În consecință, combinarea tincturii de tuia cu bisguanide cationice poate conduce pe de o parte la reticularea mai pronunțată a collagenului iar pe de alta la biomateriale cu acțiune antibacteriană mai puternică decât a fiecărui produs în parte, deci se poate mări timpul de bioabsorbție.

Hidrogelurile utilizate pentru asemenea pansamente, conform invenției, au concentrația în collagen cuprinsă între 0,8 și 1,5% în procente de masă și de tinctură de tuia între 0,1 și 2,0 mL/100 g hidrogel. Bisguanida cationică se poate introduce în procente de masă cuprinse între 0,01 și 0,20% față de hidrogel. Hidrogelurile se pot utiliza ca atare pentru tratarea rănilor uscate.

Hidrogelurile maturate se pot liofiliza pentru a fi transformate în biomateriale poroase cu diferite grosimi și dimensiuni, în funcție de utilizare, și cu diferite porozități, determinate de cantitatea de tinctură, respectiv de tinctură și bisguanidă introdusă și de pH și sunt utilizate ca pansamente bioabsorbabile pentru răni supurante, sau se pot turna pe folie de polietilenă, rezultând filme pentru acoperirea rănilor. Imaginile SEM ale materialelor poroase confirmă reticularea mai puternică a fibrelor de collagen în mediu slab bazic și atunci când se introduc ambele produse.

Prepararea țesutului cu care umrează a veni în contact biomaterialele obținute conform invenției se face în mod convențional: se debridează rana și se spală cu soluție de bisguanidă, de preferat aceeași care este introdusă în pansament. Pansamentul poros poate rămâne pe rană până la absorbție completă – timp de 3 zile sau mai mult.

Încercările efectuate pe șobolani sușa Wistar arată că, în timp de patru zile, vindecarea este mai avansată când se utilizează matrice ce conține tinctură de tuia decât atunci când matricea este doar de collagen, iar când aceasta conține și bisguanidă vindecarea este completă.

Invenția este explicată mai detaliat în exemplele care urmează.

Exemplul 1. Hidrogelul de collagen obținut în urma extracției, cu concentrații de 1,5-2,5% collagen și pH 1,5-2,5, se diluează sub agitare cu cantități adecvate de apă distilată, soluție de hidroxid de sodiu 1 M și tinctură de tuia, toate componentele având temperatura de 4°C, pentru a obține hidrogeluri cu concentrația 0,8-1,5% collagen, 0,1-2,0 mL tinctură de tuia/100 g hidrogel și pH 3,2-4,0. Hidrogelurile rezultate se maturează și se păstrează la temperatura de 4°C.

Exemplul 2. Hidrogelul acid concentrat din exemplul 1 se diluează cu aceleași componente în asemenea cantități încât concentrația collagenului și raportul hidrogel tinctură de tuia să rămână aceleași, dar pH-ul se aduce în mediu slab bazic, cuprins între 7 și 8. Hidrogelurile se păstrează la temperatura de 4°C.

Exemplul 3. Hidrogelurile din exemplul 1 se liofilizează după 24 ore de maturare sau mai mult pentru a se obțin pansamente poroase.

Exemplul 4. Hidrogelurile din exemplul 2 se liofilizează după maximum 5 ore de maturare, pentru a evita fenomenul de sinereză.

Exemplul 5. Se procedează ca în exemplul 1, dar se adaugă și soluție 2-6% bisguanidă, tot sub agitare, astfel încât aceasta să fie în concentrație de 0,01-0,20% în hidrogel. Hidrogelurile acide se păstrează la aceeași temperatură.

Exemplul 6. Se procedează ca în exemplul 2, se adaugă aceleași cantități de biguanidă ca în exemplul 5, iar hidrogelurile rezultate se depozitează la 4°C.

Exemplul 7. Hidrogelurile din exemplul 5 se liofilizează după același timp de maturare ca cele din exemplul 3.

Exemplul 8. Hidrogelurile din exemplul 6 se liofilizează după același timp de maturare ca cele din exemplul 4.

Revendicări.

1. Obținerea de hidrogeluri de collagen autoreticate și autosterilizate utilizabile pentru tratarea rănilor uscate, **caracterizate prin aceea că** au concentrația în collagen cuprinsă între 0,8 și 1,5% collagen, cantitatea de tinctură de tuia între 0,1 și 2,0 mL tinctură/100 g hidrogel ($3,7 \cdot 10^{-3}$ și $7,41 \cdot 10^{-2}$ g substanță uscată din tinctură/100 g hidrogel) și pH 3,2-4,0.

2. Hidrogeluri de collagen autoreticate și autosterilizate utilizabile pentru tratarea rănilor uscate, **caracterizate prin aceea că** au aceleași concentrații de collagen și tinctură de tuia, dar pH-ul cuprins între 7 și 8.

3. Pansamente poroase autoreticate și autosterilizate utilizabile pentru tratarea rănilor supurante obținute din hidrogeluri acide, **caracterizate prin aceea că** conțin 0,25-9,26% substanță uscată din tinctura de tuia.

4. Pansamente poroase autoreticate și autosterilizate utilizabile pentru tratarea rănilor supurante obținute din hidrogeluri slab bazice, **caracterizate prin aceea că** conțin aceleași cantități de substanță uscată din tinctura de tuia.

5. Hidrogeluri de collagen autoreticate și autosterilizate utilizabile pentru tratarea rănilor uscate, **caracterizate prin aceea că** au concentrația în collagen cuprinsă între 0,8 și 1,5% collagen, cantitatea de tinctură de tuia între 0,1 și 2,0 mL tinctură/100 g hidrogel ($3,7 \cdot 10^{-3}$ și $7,41 \cdot 10^{-2}$ g substanță uscată din tinctură/100 g hidrogel) și 0,01-0,20% bisguanidă. (0,67-25% față de collagenul din gel) și pH 3,2-4,0.

6. Hidrogeluri de collagen autoreticate și autosterilizate utilizabile pentru tratarea rănilor uscate, **caracterizate prin aceea că** au aceleași concentrații de collagen, tinctură de tuia și bisguanidă, dar pH-ul cuprins între 7 și 8.

7. Pansamente poroase autoreticate și autosterilizate utilizabile pentru tratarea rănilor supurante obținute din hidrogeluri acide, **caracterizate prin aceea că** conțin 0,25-9,26% substanță uscată din tinctura de tuia și 0,67-25% bisguanidă.

8. Pansamente poroase autoreticate și autosterilizate utilizabile pentru tratarea rănilor supurante obținute din hidrogeluri slab bazice, **caracterizate prin aceea că** conțin aceleași cantități de substanță uscată din tinctura de tuia și bisguanidă.