



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2011 00141**

(22) Data de depozit: **17.02.2011**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30.10.2012** BOPI nr. **10/2012**

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

(73) Titular:

• **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

(56) Documente din stadiul tehnicii:

RO 122181 B1;
HELARY C., BATAILLE I., ABED A.,
ILLOUL C., ANGLO A., LOUEDEC L.,
LETOURNEUR D., MEDDAHI-PELLE A.,
GIRAUD- GUILLE M.M,
"CONCENTRATED COLLAGEN
HYDROGELS AS DERMAL
SUBSTITUTES", 18 SEPT. 2009;
DE 102007013281 A1

(54) **BIOMATERIALE AUTORETICULATE ȘI AUTOSTERILIZATE
ȘI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTORA**



RO 126372 B1

1 Invenția se referă la biomateriale autoreticate și autosterilizate, cu proprietăți de
vindecare a rănilor și la un procedeu de obținere a acestora.

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

11 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 exemelor, rănilor
13 infectate, arsurilor, erupțiilor, ulcerelor sau cangrenelor senile ori de altă natură. Usucă
suprafețele cangrenoase, eliminând astfel hemoragia sau supurarea, distrug mirosurile
15 neplăcute și influențează granulația. Datorită proprietăților antimicrobiene pronunțate, se
utilizează topic, ca atare sau în pansamente, pentru vindecarea multor categorii de răni,
17 inclusiv, infectate și cu mirosuri fetide.

19 Prin combinarea proprietăților antiinflamatoare, antibacteriene și de uscare ale
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
21 bioabsorbabile, eficiente pentru tratarea rănilor.

23 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
25 la antibiotice, cât și pe cele devenite rezistente, datorită utilizării fără discernământ a
substanțelor antimicrobiene, transformându-le *in vivo*, din bacteriostatice în bactericide.

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

33 **RO 122181 B1 (D1)** se referă la un bioprodus sub formă de hidrogel, constituit din
1...5% carbocromer, 10...20% collagen tip I și III, sub formă nativă, cu greutatea moleculară
35 medie de 300...250 kDa, 1...5% elastină alfa sau k, sub formă de peptide solubile, cu
greutatea moleculară medie de 50...150 kDa, 1...6% glicozaminoglicani selectați dintre:
37 condroitin sulfat, dermatan sulfat sau acid hialuronic, 5...10% extract alcoolic cu concentrație
50...70% de *Equisetum arvense*, 5...10% extract alcoolic cu concentrație 50...70% de
39 *Alchillea millefolium*, 0,1...0,5% nipagin și nipasol, și până la 100 apă distilată, părțile fiind
exprimate în procente în greutate, și la procedeu de obținere a acestuia, ce constă în aceea
41 că se amestecă 40 părți compoziție I, constituită dintr-un gel de carbocromer cu concentrație
1...5%, preparat în apă distilată, se adaugă 0,1...0,3% amestec de nipagin-nipasol, se lasă
43 în repaus 24 h, se corectează la pH 6...7, cu soluție de 0,2% trietanolamină, se adaugă
10...30 părți compoziție II, soluție vâscoasă cu pH 6...7, constituită din 60...90% soluție de
45 collagen tip I și III, cu concentrație 0,5...1% și greutate moleculară medie de 300...350 kDa,
5...10% soluție de elastină alfa sau k, cu concentrație 0,1...0,5% și greutate moleculară
47 medie de 50...150 kDa, și 5...10% soluție de glicozaminoglicani cu concentrație 0,1...0,5%,
apoi se amestecă cu 10...30 părți de compoziție III, constituită din 50% extract alcoolic

50...70% de <i>Equisetum arvense</i> , cu concentrație 1...5%, și 50% extract alcoolic 50...70% de <i>Alchillea millefolium</i> , cu concentrație 1...5%, la temperatura de 37°C, după care se răcește la temperatura camerei, iar hidrogelul obținut se condiționează în cutii din plastic, de 30...100 ml.	1
<i>Concentrated collagen hydrogels as dermal substitutes</i> , Helary C, Bataille I, Abed A, Illoul C, Anglo A, Louedec L, Letourneur D, Meddahi-Pellé A, Giraud-Guille MM, ianuarie 2010, 31(3):481-90. Epub, 6 Oct. 2009 (D2), prezintă un studiu prin care s-a investigat o modalitate pentru a corecta dezavantajele, prin creșterea concentrației de collagen în condiții controlate.	3
DE 10200701 (A1) (D3) se referă la tratamentul rănilor pielii, cauzate de papilomavirus, clavus și/sau micoză, prin tratamentul local al zonei afectate, care cuprinde tinctură de <i>Euphorbia</i> , tinctură de <i>Chelidonium</i> , tinctură de <i>Thuja</i> , tinctură de <i>Malva</i> sau ulei de arbore de ceai.	5
Invenția se referă la materiale autoreticulate și autosterilizate, destinate tratamentului rănilor supurante sau uscate, și la un procedeu de obținere a acestora.	7
Biomaterialele autoreticulate și autosterilizate, conform invenției, înlătură dezavantajele de mai sus, prin aceea că sunt constituite din hidrogel ce conține 0,1...1,5% collagen fibrilar tip I, 0,1...2% tinctură de tuia și, opțional, 0,01...0,2% bisguanidă, părțile fiind exprimate în greutate.	9
Procedeu de obținere a materialului bioabsorbabil, autoreticulat și autosterilizat, conform invenției, înlătură dezavantajele de mai sus, prin aceea că se amestecă, sub agitare, collagen natural, fibrilar, sub formă de hidrogel, cu apă distilată, soluție de hidroxid de sodiu 1 M și tinctură de tuia, până la obținerea unui raport hidrogel/tinctură de tuia de 1/50, opțional, se introduce bisguanidă până la un raport de 1/500, amestecul rezultat se maturează la o temperatură de 4°C, timp de 4...24 h, rezultând un hidrogel maturat, care este supus, opțional, liofilizării, rezultând o matrice poroasă.	11
Prin aplicarea invenției, se obțin următoarele avantaje:	13
- vindecare mai avansată, în prezența tincturii de tuia, decât atunci când pentru tratarea rănilor se utilizează doar collagen, indiferent dacă este sub formă de hidrogel sau de pansament poros;	15
- vindecare completă când este prezentă și bisguanida;	17
- se evită utilizarea agenților de reticulare la prepararea pansamentelor poroase, care măresc citotoxicitatea;	19
- prin utilizarea compușilor cu acțiune antimicrobiană, se elimină etapa de sterilizare care, în cazul hidrogelurilor, produce reticularea sau chiar denaturarea parțială a collagenului;	21
- terpenele din tinctura de tuia măresc permeația și îmbunătățesc reținerea medicamentelor în piele.	23
Invenția se referă la obținerea de biomateriale autoreticulate și autosterilizate, pe bază de collagen nedegradat și tinctură de <i>Tuia occidentalis</i> , care nu conțin sau au un antiseptic biguanidic, în special, hexameten bisguanide cationice, utilizabile pentru tratarea rănilor deschise, neinfectate și infectate, uscate sau supurante.	25
Pentru prepararea acestora, se utilizează hidrogeluri de collagen fibrilar tip I, obținute, în special, din piele sau tendoane de vițel, prin tehnologiile consacrate.	27
Biomateriale pe bază de collagen, care conțin tincturi de plante, pentru a produce autoreticularea și autosterilizarea, 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 matricelor poroase de collagen, care conțin triphala, o formulă 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 matricele de collagen s-a făcut prin imersia acestora în extract metanolic și nu utilizând tinctură.	29

1 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
3 asemenea cantitate, încât concentrația collagenului în hidrogelul final și raportul
hidrogel/tinctură să aibă valorile dorite. Hidrogelurile obținute se maturează la 4°C, timp de
5 24 h, cele acide și mai puțin timp decât cele slab bazice și se păstrează la aceeași
temperatură. Tinctura de tuia mărește viscozitatea hidrogelurilor, mai puțin în mediu acid și
7 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 reticulate
9 de componente din tinctură.

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

Cel mai utilizat agent de reticulare pentru collagen este aldehida glutarică, dar
15 creșterea concentrației sale, pentru a mări gradul de reticulare, intensifică citotoxicitatea
collagenului. De aceea, este de dorit ca reticularea să se realizeze cu produse naturale.
17 Brevetul german **EP 1593399** și cel corespunzător canadian/Statele Unite ale Americii
CA/US 7604816 afirmă că introducerea bisguanidelor liniare are ca efect încetinirea vizibilă
19 a absorbției collagenului în organism, efect atribuit, după părerea autorilor, acțiunii bactericide
a bisguanidei, care ar preveni răspândirea microorganismelor ce produc collagenaza, enzima
21 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
23 bisguanide cationice, au arătat însă că acestea produc reticularea collagenului, care crește
cu mărirea concentrației bisguanidei în hidrogel, în special, în mediu bazic. În consecință,
25 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 anti-
27 bacteriană mai puternică decât a fiecărui produs în parte, reducând timpul de vindecare.

Hidrogelurile utilizate pentru asemenea pansamente, conform invenției, au
29 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
31 masă cuprinse între 0,01 și 0,20% față de hidrogel. Hidrogelurile se pot utiliza ca atare,
pentru tratarea rănilor uscate.

33 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,
35 determinate de cantitatea de tinctură, respectiv, de tinctura și bisguanida introduse, și de pH,
și sunt utilizate ca pansamente bioabsorbabile, pentru răni supurante, sau se pot turna pe
37 folie de polietilenă, rezultând filme pentru acoperirea rănilor. Imaginile SEM ale materialelor
poroase confirmă reticularea mai puternică a fibrilelor de collagen în mediu slab bazic și
39 atunci când se introduc ambele produse.

Prepararea țesutului cu care urmează a veni în contact biomaterialele obținute
41 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
43 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
45 mai avansată când se utilizează matrice ce conține tinctură de tuia, decât atunci când
matricea este doar de collagen, iar când aceasta conține și bisguanida, vindecarea este
47 completă.

În continuare, se prezintă 8 exemple de realizare a invenției.	1
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.	3 5 7
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.	9 11
Exemplul 3. Hidrogelurile din exemplul 1 se liofilizează după 24 h de maturare sau mai mult, pentru a se obține pansamente poroase.	13
Exemplul 4. Hidrogelurile din exemplul 2 se liofilizează după maximum 5 h de maturare, pentru a evita fenomenul de sinereză.	15
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.	17
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.	19
Exemplul 7. Hidrogelurile din exemplul 5 se liofilizează după același timp de maturare ca cele din exemplul 3.	21
Exemplul 8. Hidrogelurile din exemplul 6 se liofilizează după același timp de maturare ca cele din exemplul 4.	23

3 1. Biomateriale autoreticulate și autosterilizate, **caracterizate prin aceea că** sunt
5 constituite din hidrogel, ce conține 0,1...1,5% collagen fibrilar tip I; 0,1...2% tinctură de tuia
și, opțional, 0,01...0,2% bisguanidă, părțile fiind exprimate în greutate.

7 2. Biomateriale conform revendicării 1, **caracterizate prin aceea că** sunt
administrare, pentru tratamentul rănilor uscate, sub formă de hidrogel, având un pH de
3,2...4,0.

9 3. Biomateriale conform revendicării 1, **caracterizate prin aceea că** sunt
administrare, pentru tratamentul rănilor uscate, sub formă de hidrogel, având un pH de
11 7,0...8,0.

13 4. Biomateriale conform revendicării 1, **caracterizate prin aceea că** sunt constituite
din 0,8...1,5% collagen fibrilar, 0,1...2% tinctură de tuia și 0,01...0,2% bisguanidă, părțile fiind
exprimate în greutate, la un pH de 3,2...4,0.

15 5. Biomateriale conform revendicărilor 1 și 4, **caracterizate prin aceea că** pH-ul este
de 7,0...8,0.

17 6. Biomateriale conform revendicărilor de la 2 la 5, **caracterizate prin aceea că** sunt
administrare pentru tratamentul rănilor supurante, sub formă de pansamente poroase.

19 7. Biomateriale conform revendicărilor 1 și 6, **caracterizate prin aceea că** acestea
21 conțin 0,25...2% tinctură de tuia și 0,01...0,20% bisguanidă, părțile fiind exprimate în
greutate.

23 8. Procedeu de obținere a materialului bioabsorbabil, autoreticulat și autosterilizat,
definit în revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că** se amestecă, sub agitare, collagenul
natural, fibrilar, sub formă de hidrogel, cu apă distilată, soluție de hidroxid de sodiu 1 M și
25 tinctură de tuia, până la obținerea unui raport hidrogel/tinctură de tuia de 1/50, opțional, se
introduce bisguanidă până la un raport de 1/500, amestecul rezultat se maturează la o
27 temperatură de 4°C, timp de 4...24 h, rezultând un hidrogel maturat, care este supus,
opțional, liofilizării, rezultând o matrice poroasă.

