



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2018 00482**

(22) Data de depozit: **29/06/2018**

(41) Data publicării cererii:
30/12/2019 BOPI nr. **12/2019**

(71) Solicitant:
• **UNIVERSITATEA "BABEȘ BOLYAI" -
INSTITUTUL DE CERCETĂRI ÎN CHIMIE
"RALUCA RIPAN" CLUJ-NAPOCA,**
*STR. MIHAIL KOGĂLNICEANU NR. 1,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;*
• **UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI
FARMACIE "IULIU HAȚIEGANU" DIN
CLUJ-NAPOCA, STR.EMIL ISAC NR.13,**
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(72) Inventatori:
• **MOLDOVAN MARIOARA,**
*STR. VIILE NADAȘEL NR. 52,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;*
• **BADEA MÎNDRA EUGENIA,**
*STR.BRĂDUȚULUI NR.20, CLUJ-NAPOCA,
CJ, RO;*

• **PREJMEREAN CRISTINA ALEXANDRA,**
*BD. 1 DECEMBRIE 1918 NR. 24,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;*
• **PRODAN DOINA,**
*STR.PROF.TUDOR CIORTEA NR.5, SC.2,
AP.44, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;*
• **SILAGHI DUMITRESCU LAURA,**
*STR.FLORILOR, NR.101, FLOREȘTI, CJ,
RO;*
• **SAROȘI LIANA CODRUȚA,**
*STR. GURGHIU NR. 4, AP. 25,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;*
• **RUSU LAURA MONICA,**
*STR.FÂNTÂNELE, NR.59, BL.B8, SC.1,
ET.3, AP.16, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;*
• **BADEA IULIA CLARA,** *STR.BRĂDUȚULUI,*
NR.20, CLUJ NAPOCA, CJ, RO;
• **CHIFOR RADU,** *STR.BRATEȘ NR.5,*
BL.I 3, ET.7, AP.66, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(54) **FOTOSENSIBILIZATORI NATURALI UTILIZAȚI
ÎN CONTROLUL BIOFILMULUI ORAL, CU PROPRIETĂȚI
SPECIFICE UTILIZĂRII ACESTORA ÎN TERAPIA
FOTODINAMICĂ**

(57) **Rezumat:**

Invenția se referă la o compoziție antimicrobiană cu rol de revelator în terapia fotodinamică cu laser de putere joasă din medicina dentară. Compoziția, conform invenției, este constituită în procente masice din 2...3% gelatină 99,5%, 1...3% glicerină, 0,2...0,5% acid salicilic 99%, 93,5...96,1% apă distilată sau apă

îmbogățită în oxigen, până la 10% nanoparticule conținând ulei de oregano, respectiv 12...15% nanoparticule conținând curcumină, precum și până la 0,5% albastru de metilen.

Revendicări: 2



DESCRIEREA INVENȚIEI

Obiectivul actualului brevet îl constituie elaborarea unei compoziții antimicrobiene, adjuvant, prin laser terapie fotodinamică, destinată reducerii până la dispariție a inflamației gingivale și a sângerării gingivale, cu proprietăți corespunzătoare utilizării lor în stomatologie. Terapia fotodinamică antimicrobiană (PDT) reprezintă o abordare alternativă, adjuvantă terapiei conservative nonchirurgicale în medicina dentară pentru tratamentul infecțiilor bacteriene, micotice, virale. În stomatologie, terapia fotodinamică antimicrobiană se poate utiliza în parodontologie, endodonție, implantologie, cariologie, etc. În tratamentul alternativ al pungilor parodontale se evită administrarea sistemică a antibioticelor și prin urmare și efectele secundare ale acestora, minimalizând și riscul de creare a rezistenței bacteriene.

PDT utilizează oxigenul singlet și radicalii liberi produși de un fotosensibilizator activat de lumină pentru a ucide microbii. Procesul fotochimic este inițiat de un laser / lumină cu putere redusă la o lungime de undă adecvată pentru a excita fotosensibilizatorul. Fotosensibilizatorul absoarbe lumina, rezultând o stare singlet care poate pierde energie prin fluorescență sau trece la o stare triplet. Starea ulterioară conduce la o reacție fotochimică care induce oxigenul singlet, radicalii liberi și superoxidul, care sunt citotoxici, provocând astfel uciderea microbiană.

Câteva dintre avantajele terapiei fotodinamice sunt: laser de putere joasă (low level), fără efect termic, fără risc de supraîncălzire a zonelor osoase sau parodontale. Este igienic, prezintă consumabile de unică utilizare, nu dă rezistență, nu acționează la o profunzime peste 2 mm, reduce necesitatea utilizării antibioticelor și antisepticelor pe termen lung. Poate fi repetată ori de câte ori se impune și acționează doar pe perioada iradierii cu lungimea de undă specifică, corespunzătoare. Terapia antimicrobiană fotodinamică reprezintă o alternativă de luat în considerare în terapia antimicrobiană a afecțiunilor stomatologice, fiind propice pentru aplicațiile locale fără a avea efecte dăunătoare la distanță. Studiile actuale arată că în urma laser terapiei fotodinamice se obțin efecte de biomodulare, dezinfecție bacteriană și efecte analgezice la nivelul țesuturilor (1, 2). Aceste date sunt obținute mai ales pe baza urmăririi parametrilor clinici

și mai puțin a investigațiilor paraclinice. Aplicarea unei singure ședințe de tratament antimicrobian, adjuvant, prin laser terapie fotodinamică a dus la o reducere semnificativă a indicilor de sângerare gingivală, mai importantă decât dacă ar fi fost aplicat doar tratamentul clasic singur. Multiple ședințe de laser terapie fotodinamică antimicrobiană au condus la o reducere importantă a inflamației gingivale și a sângerării gingivale până aproape de dispariție.

Formarea plăcii dentare reprezintă prima fază în apariția afecțiunilor dentare. *Streptococul mutans* este una din principalele bacterii prezente în placa dentară. Eliminarea microorganismelor patogene de pe suprafața dentară este fundamentală în prevenția și controlul afecțiunilor dentare, astfel utilizarea luminii de diferite lungimi de undă în prezența coloranților fotosensibili poate juca un rol important în îndepărtarea plăcii dentare.

Studii *in vitro* și *in vivo* au demonstrat efectele antibacteriene ale terapiei fotodinamice în asociere cu anumiți revelatori care conțin fotosensibilizatorul, albastrul de metilen (3, 4), albastru de toluidină (5, 6), verde de indocianină, porfirină (7), curcumină (8).

Problema tematică, pe care o rezolvă invenția, se referă la obținerea unor formule de revelatori cu proprietăți superioare, pe de o parte prin folosirea unor fotosensibilizatori naturali (*uleiul esențial de oregano și extract de rădăcina de curcumină*), iar pe de altă parte prin elaborarea unei compoziții optime de revelator în care fotosensibilizatorul este cuprins în nanocapsule pentru asigurarea eliberării controlate a acestuia.

Uleiurile esențiale neînglobate într-o matrice polimerică prezintă o activitate antibacteriană scăzută care se datorează volatilității crescute și degradării la temperatura camerei a acestora, încapsularea sau dispersia uleiurilor esențiale într-o matrice polimerică naturală sau sintetică fiind crucială pentru aplicabilitatea în scopuri antibacteriene. Aceste dezavantaje au fost înlăturate prin înglobarea fotosensibilizatorilor naturali în nanocapsule, obținute la rândul lor prin metoda de depunere interfacială în care s-a folosit un polimer ca și precursor. În cadrul acestei tehnici s-au preparat cele două faze: *o faza organică și o faza apoasă*.

Procedeul pentru obținerea nanocapsulelor constă în aceea că inițial se obțin două faze nemiscibile (faza organică și faza apoasă), apoi acestea se amestecă obținându-se o

suspensie coloidală, iar în final după eliminarea solventului și a apei prin liofilizare, se obține produsul final sub forma nanocapsulelor cu fotosensibilizator.

Faza organică s-a obținut amestecând la temperatura de 50°C și 500-700 rpm, acetat de etil 2% și apă. După 20 minute s-a adăugat în vasul de amestecare, un amestec format în prealabil, din *uleiul esențial, extract de curcumină*, policaprolactonă-diol (PLC) și hidroxiapatită cu fluor (HAF). S-a menținut agitatea încă 20 minute.

Faza apoasă s-a obținut prin agitatea mecanică la 700 rpm, adăugând acetat de etil 2% în apă timp de 20 minute, după care s-a adăugat soluție de 5% acool polivinilic. Etapa următoare este cea în care faza organică este adăugată foarte încet și sub agitare fazei apoase, obținându-se o suspensie coloidală care se diluează cu un volum triplu de apă distilată. Suspensia obținută se agită timp de 10 minute la 10000 rpm, după care se trece la eliminarea solventului cu ajutorul rotavaporului. Soluția obținută se îngheață, după care se elimină apa prin liofilizare.

Policaprolactona are rolul de a forma o membrană polimerică, care să înconjoare miezul de lichid cu principiul activ și care la rândul ei să permită eliberarea controlată a substanței active prin fenomenul de difuzie. Alcoolul polivinilic are rolul de surfactant.

Uleiul esențial de Oregano – are efect antibacterian, în protecția dinților și a gingiilor, poate fi aplicat ca un substitut pentru pasta de dinți.

Turmericul – rădăcina de *Curcuma longa* – este o plantă cunoscută în întreaga lume pentru proprietățile sale medicinale reprezentând o opțiune acceptabilă și viabilă pentru oricine. În urma numeroaselor studii care au fost întreprinse în jurul turmericului, i s-au dovedit proprietățile antiinflamatorii, antioxidante, antimicrobiene, hepatoprotectoare, imunostimulatoare, antiseptice, antitumorale. Datorită acestor proprietăți, turmericul poate fi utilizat în stomatologie, având un rol important în tratamentul bolilor parodontale și al cancerului bucal.

S-a demonstrat că dimensiunea nanocapsulelor este legată de viteza de amestecare utilizată în procesul de emulsificare, substanța chimică, compoziția fazei organice, concentrația polimerului, raportul ulei-polimer și dimensiunea picăturii emulsiei primare (Guinebretière, 2001; Moinard-Chécot et al., 2008). Mecanismul de formare a nanocapsulei propus de Quintanar et al. (1998a) se bazează pe teoria că fiecare picătură

de emulsie produce mai multe nanocapsule și că acestea sunt formate din combinația de precipitare a polimerului și fenomenul interfacial în timpul difuziei cu solvent.

Pentru obținerea revelatorilor, se prepară un amestec de: 2-4 % Gelatină 99,5%; 1-3% Glicerină; 0,2-0,5 % Acid salicilic 99%; 0- 1% Albastru de metilen, 1% soluție alcoolică și una dintre următoarele ape: apă distilată (Dis) apă îmbogățită în oxigen, sau apă kaqun (K), în proporție de 92,5- 96,8%. În acest amestec se înglobează 8-10% nanocapsulele conținând ulei esențial și 10-15% nanocapsule conținând curcumină. **Se prezintă în continuare 5 exemple nelimitative de realizare a revelatorilor conform prezentei invenții.**

Exemplul 1

În 93,5g apă îmbogățită în oxigen se dizolvă 3g gelatină 99,5% și se amestecă până la obținerea unui gel omogen. În acest gel se dizolvă 3g glicerină și 0,5 g acid salicilic 99%. După omogenizare, se introduc 10 g nanocapsule conținând ulei de oregano și 13g nanocapsule conținând suc de curcumină. Se amestecă până la omogenizare.

Exemplul 2

În 96,1g apă distilată se dizolvă 2,5g gelatină 99,5% și se amestecă până la obținerea unui gel omogen. În acest gel se dizolvă 1g glicerină și 0,4g acid salicilic 99%. După omogenizare, se introduc 9g nanocapsule conținând ulei de oregano și 15g nanocapsule conținând suc de curcumină. Se amestecă până la omogenizare.

Exemplul 3

În 96g apă kaqun se dizolvă 2g gelatină 99,5% și se amestecă până la obținerea unui gel omogen. În acest gel se dizolvă 1,5g glicerină și 0,5g acid salicilic 99%. După omogenizare, se introduc 8g nanocapsule conținând ulei de oregano și 12g nanocapsule conținând suc de curcumină. Se amestecă până la omogenizare.

Exemplul 4

În 96g apă distilată se dizolvă 2g gelatină 99,5% și se amestecă până la obținerea unui gel omogen. În acest gel se dizolvă 1,5g glicerină și 0,5g acid salicilic 99%. După

omogenizare, se introduc 8g nanocapsule conținând ulei de oregano și 0,25g albastru de metilen 1%. Se amestecă până la omogenizare.

Exemplul 5

În 95g apă îmbogățită în oxigen se dizolvă 3g gelatină 99,5% și se amestecă până la obținerea unui gel omogen. În acest gel se dizolvă 1,5g glicerină și 0,5g acid salicilic 99%. După omogenizare, se introduc 8g nanocapsule conținând ulei de oregano și 0,5g albastru de metilen 1%. Se amestecă până la omogenizare.

REVENDICĂRI

1. Compoziție destinată în controlul biofilmului oral, cu proprietăți specifice utilizării acestora în terapia fotodinamică, sub forma de gel, se aplică *fotosensibilizator* (1 minut), irigare cu apă îmbogățită cu oxigen Kaqun (1 minut) și terapie fotodinamică (40 secunde), la lungimea de unda specifică absorbției curcuminei 440 -460 nm și uleiului de oregano cuprinsă între 330-420 nm. Această compoziție este pe bază de nanocapsulele conținând ulei esențial de oregano și nanocapsule cu extract de curcumină, reprezintă o sursă de compuși fenolici care prezintă un spectru larg de activitate antimicrobiană adjuvant sub acțiune lumini.

2. Compoziția materialului destinat controlul biofilmului oral, cu proprietăți specifice utilizării acestora în terapia fotodinamică, conform actualului brevet, este formată din amestec de extracte naturale, lumina laser cuprinsă între 400-600nm. Pentru obținerea revelatorilor, se prepară un amestec de: 2-4 % Gelatină 99,5%; 1-3% Glicerină; 0,2-0,5 % Acid salicilic 99%; 0- 1% Albastru de metilen, 1% soluție alcoolică și una dintre următoarele ape: apă distilată (Dis) apă îmbogățită în oxigen, sau apă kaqun (K), în proporție de 92,5- 96,8%. În acest amestec se înglobează 8-10% nanocapsulele conținând ulei de oregano și 10-15% nanocapsule conținând curcumină