



(12)

## BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2010 00397**

(22) Data de depozit: **07/05/2010**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/01/2018** BOPI nr. 1/2018

(41) Data publicării cererii:  
**30/11/2011** BOPI nr. 11/2011

(73) Titular:  
• **INSTITUTUL DE CHIMIE  
MACROMOLECULARĂ "PETRU PONI" DIN  
IAȘI, ALEEA GRIGORE GHICA VODĂ  
NR.41 A, IAȘI, IS, RO**

(72) Inventatori:  
• **CIOLACU DIANA,  
ALEEA TRANDAFIRILOR NR.11, IAȘI, IS,  
RO;**

• **OPREA ANA MARIA,  
STR. ȘTEFAN CEL MARE NR.94, BL.B2,  
SC.D, ET.2, AP.8, VASLUI, VASLUI, RO;**  
• **VASILE CORNELIA, STR.PANTELIMON  
NR.29, BL.308, SC.A, ET.3, AP.12, IAȘI, IS,  
RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:  
**RO 126183 A2; RO 123143 B1**

(54) **COMPOZIȚIE PENTRU OBTINEREA UNOR HIDROGELURI  
BICOMPONENTE**

Examinator: **biochimist EREMIA LAURA**



Orice persoană are dreptul să formuleze în scris și motivat, la OSIM, o cerere de revocare a brevetului de invenție, în termen de 6 luni de la publicarea mențiunii hotărârii de acordare a acesteia

**RO 126831 B1**

1 Inventția de față se referă la o compoziție pentru obținerea unor hidrogeluri pe bază  
de amestecuri de materiale polimerice de tip polizaharide naturale, cum ar fi celuloza și  
3 condroitin sulfatul.

Hidrogelurile pe bază de polizaharide au o largă utilizare în domeniul biomedical,  
5 datorită biocompatibilității cu organismul uman. Mai mult, acestea prezintă caracteristici  
asemănătoare țesuturilor vii, în comparație cu alte biomateriale de origine sintetică, datorită  
7 conținutului lor crescut de apă (vezi **B. D. Ratner, A. S. Hoffman, "Hydrogels for Medical  
and Related Applications", ACS Symposium Series, American Chemical Society,  
9 Washington DC, pp. 1-36 (1976); și A. M. Oprea, R. P. Dumitriu, I. E. Râschip, C. Vasile:  
Applications of the degradable interpenetrating polymeric networks and hydrogels in  
11 controlled drug delivery, in "Environmentally Degradable Materials Based on  
Multicomponent Polymeric Systems", C. Vasile and G. E. Zaikov (Eds.), Brill Academic,  
13 pp. 336-382 (2009)).**

Scopul invenției de față este obținerea de noi hidrogeluri ce conțin celuloză și  
15 condroitin sulfat, în ideea de a combina caracteristicile unice ale celor doi polimeri naturali,  
și de a obține materiale cu proprietăți biomedicale.

17 Celuloza este polimerul natural cel mai răspândit, având capacitate de regenerare  
și biodegradabilitate. Este un polizaharid cu o structură liniară, alcătuit din unități de  
19 D-glucoză asamblate prin legături de tip  $\beta(1-4)$  glicozidice, în care resturile de glucoză se  
pot roti cu aproximativ  $180^\circ\text{C}$  (vezi **I. M. Saxena, R. M. Brown, "Ann. Bot.", 96, 9 (2005);  
21 4. R. M. Brown, I. M. Saxena, K. Kudlicka, "Trends Plant Sci.", 1, 149 (1996)**); celobioza  
reprezintă unitatea structurală a lanțurilor de glucan în structura celulozei (**R. M. Brown, I.  
23 M. Saxena, K. Kudlicka, "Trends Plant Sci.", 1, 149 (1996)**). Lanțurile de glucan sunt  
paralele unele față de altele, formându-se microfibrile care stabilizează structura și îi reduc  
25 flexibilitatea (vezi **C. Somerville, "Annu. Rev. Cell Dev. Biol.", 22, 53 (2006)**).

Celuloza poate fi ușor de manipulat, fiind utilizată în diferite forme și mărimi, de tipul  
27 membranelor, microsferelor, hidrogelurilor, sau ca textile. Utilizare sa în domeniul biomedical  
se face sub formă de membrane pentru dializă, biosenzori (vezi **S. Laurence, R. Bareille,  
29 C. Baquey, J. C. Fricain, "J. Biomed. Mater. Res. A", 15, 422 (2005)**), geluri celulozice  
bioadezive în dispozitivele vaso chirurgicale (vezi **G. P. Andrews, S. P. Gorman, D. S.  
31 Jones, "Biomaterials", 26, 571 (2005)**), în tehnicile de investigare a țesutului osos (vezi **J.  
C. Fricain, P. L. Granja, M. A. Barbosa, D. de Jeso, N. Barthe, C. Baquey,  
33 "Biomaterials", 23, 971 (2002)**, și **M. Martson, J. Viljanto, T. Hurme, P. Saukko, "Eur.  
Surg. Res.", 30, 426 (1998)**), ingineria și protezarea țesutului cartilajinos (vezi **A.  
35 Svensson, E. Nicklasson, T. Harrah, B. Panilaitis, D. L. Kaplan, M. Brittberg,  
"Biomaterials", 26, 419 (2005)**, și **W. K. Czaja, D. J. Young, M. Kawecki, R. M. Brown,  
37 "Biomacromolecules", 8(1), 1-12 (2007)**), inginerie tisulară cerebrală post-operatorie (vezi  
**M. C Tate, D. A. Shear, S. W. Hoffman, D. G. Stein, M. C. LaPlaca, "Biomaterials", 22,  
39 1113 (2001)**), în sistemele de eliberare controlată a medicamentelor (vezi **G. Fundueanu,  
M. Constantin, E. Esposito, R. Cortesi, C. Nastruzzi E. Menegatti, "Biomaterials", 26,  
41 4337 (2005)**).

Condroitin sulfatul (CS) este un glicozaminoglican secretat de celulele cartilajinoase  
43 numite condrocite, fiind esențial în mecanismele de creștere, nutriție și refacere a cartilajelor.  
Este alcătuit din unități dizaharidice, una dintre monozaharide fiind întotdeauna N-acetil-  
45 glucozamina sau N-acetilgalactozamina, iar cealaltă este, în cele mai multe cazuri, acidul  
uronic. Una dintre grupările hidroxil ale segmentului amino este esterificată cu sulfat, ceea  
47 ce determină apariția unei densități crescute de sarcini negative, acest comportament  
favorizând o atracție electrostatică cu apa, ce conferă cartilajelor elasticitate și fluiditate.

# RO 126831 B1

Condroitin sulfatul poate fi extras din trahei și omoplați de origine bovină, cartilaje de rechini etc. Tipul de țesut cartilaginos folosit, vârsta animalului și condițiile de prelucrare pot afecta cantitatea de condroitin sulfat obținută (vezi [www.biocatalysts.com](http://www.biocatalysts.com)). Acestea joacă un rol important în procesul de vindecare a rănilor. Hidrogelurile pe bază de condroitin sulfat accelerează vindecarea mucoasei sinonazale până la sfârșitul celei de a patra zile a experimentului (vezi M. E. Gilbert, K. R. Kirker, S. D. Gray, P. D. Ward, J. G. Szakacs, G. D. Prestwich, "Laryngoscope", 114(8), 1406-9 (2004)). Studii recente utilizează CS ca biomaterial pentru refacerea cartilajelor (vezi D. A. Wang, S. Varghese, B. Sharma, I. Strehin, S. Fermanian, J. Gorham, "Nat Mater", 6(5), 385-92 (2007)), inginerie tisulară (vezi W. F. Daamen, H. T. van Moerkerk, T. Hafmans, L. Buttafoco, A. A. Poot, J. H. Veerkamp, "Biomaterials", 24(22), 4001-9 (2003)) și eliberarea factorilor de creștere (vezi S. Cai, Y. Liu, X. Zheng Shu, G. D. Prestwich, "Biomaterials", 26(30), 6054-67 (2005)).

Condroitin sulfatul poate fi utilizat în diferite forme, de tipul matrice tridimensionale (R. N. Chen, G. M. Wang, C. H. Chen, HO. Ho, M. T. Sheu, "Biomacromolecules", 7(4), 1058-64 (2006)) și geluri (vezi S. Dawlee, A. Sugandhi, B. Balakrishnan, D. Labarre, A. Jayakrishnan, "Biomacromolecules", 6(4), 2040-8 (2005), și Xiao Hui Zou, Yang Zi Jiang, Guo Rong Zhang, Hang Mei Jin, Nguyen Thi Minh Hieu, Hong Wei Ouyang, "Acta Biomaterialia", 5(5), 1588-1595 (2009)). Poate fi degradat de bacterii anaerobe, de tip *Bacterioides thetaiotaomicron* și *B. ovatus*, localizate în intestinul gros (vezi A. A. Sayers, "Am. J. Clin. Nutr." 32, 158-163 (1979)). Această caracteristică sugerează posibilitatea utilizării condroitin sulfatului în aplicațiile de eliberare la țintă a medicamentelor la nivelul colonului, condroitin sulfatul putând fi, astfel, considerat medicament cu acțiune anti-osteoartritică.

**RO126183 A2** prezintă hidrogeluri pe bază de xantan și condroitin sulfat, destinate confecționării de materiale cu proprietăți biomedicale pentru eliberarea controlată a codeinei, obținute prin reticularea sub agitare a 90...50% xantan și 10...50% condroitin sulfat cu 2,143 ml de epiclorhidrină, la 80°C, timp de 8 h, hidrogelul rezultat după izolare prezentând un grad maxim de umflare de 7157,17, fiind supraabsorbant.

**RO123143 B1** se referă la un procedeu de obținere a unor hidrogeluri super-absorbante, pe bază de celuloză-xantan, cu aplicații în domeniul farmaceutic și medical. Procedeu conform invenției constă în amestecarea unui alomorf de celuloză cu xantan, nemodificate sau dizolvate în prealabil la temperaturi scăzute de până la -30°C, adăugarea unei soluții de NaOH și epiclorhidrină, sub agitare continuă, cu obținerea unei paste care se depune între două plăcuțe de sticlă, și care se usucă la 80°C, timp de 6 h, urmată de spălarea cu apă distilată a hidrogelurilor obținute, apoi cu acetonă și, în final, se usucă în etuva de vid, la temperatura camerei.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în realizarea unei compoziții pentru obținerea unor hidrogeluri bicomponente, pentru eliberarea controlată a paracetamolului și a teofilinei.

Compoziția conform invenției înlătură dezavantajele de mai sus prin aceea că este constituită din celuloză 90...50% și condroitin sulfat 10...50%, în raport gravimetric, având un grad maxim de gonflare de 300%, compoziție adecvată ca suport/transport.

Prin aplicarea invenției se obține avantajul obținerii de hidrogeluri pe bază de celuloză/condroitin sulfat, care se pot utiliza în diferite ramuri ale industriei farmaceutice și în domeniul biomedical.

Proprietățile biomedicale ale hidrogelurilor pe bază de celuloză/condroitin sulfat au fost evidențiate prin testarea lor ca matrice pentru eliberarea controlată a unor medicamente antipiretice și analgezice, de tipul paracetamolului, și bronhodilatatoare, de tipul teofilinei.

# RO 126831 B1

1 Încărcarea cu medicament a hidrogelurilor a fost realizată prin amestecarea  
medicamentelor utilizate cu hidrogelul sub formă de pudră, utilizând ca mediu de eliberare  
3 o soluție tampon fosfat cu pH 7,4, cu scopul de a mima condițiile fiziologice existente în  
intestinul subțire. Peste amestecul hidrogel-medicament se adaugă o anumită cantitate de  
5 soluție tampon fosfat (pH 7,4), fiind lăsat la umflat la temperatura camerei, timp în care  
medicamentul pătrunde în structura hidrogelului. Probele încărcate cu medicament sunt  
7 uscate prin liofilizare, folosind un dispozitiv de tip Labconco Freezone. Studiul de eliberare  
a fost realizat folosind un spectrofotometru de tip UV-VIS HP 8450A, concentrația  
9 paracetamolului în mediul de eliberare fiind determinată la o lungime de undă de 242 nm,  
iar pentru teofilină la o lungime de undă de 271 nm.

11 În cazul eliberării paracetamolului din hidrogelurile pe bază de celuloză/condroitin  
sulfat, din curbele obținute (fig. 1), se evidențiază faptul că procentul eliberat depinde de  
13 cantitatea de condroitin sulfat din compoziția hidrogelurilor. Astfel, creșterea conținutului de  
condroitin sulfat determină o scădere a cantității de paracetamol eliberat de la 98%, pentru  
15 compoziția ce conține 0,45/0,05 g C/CS (raport de amestecare de 90/10 C/CS), la  
aproximativ 40%, pentru hidrogelul de compoziție 0,3/0,2 g C/CS (raport de amestecare  
17 60/40 C/CS).

19 Profilurile de eliberare indică faptul că, în cazul compozițiilor 0,25/0,25 g C/CS (raport  
de amestecare 50/50 C/CS) și 0,3/0,2 g C/CS (raport de amestecare 60/40 C/CS), principiul  
activ este eliberat cu o viteză mai mică în comparație cu celelalte amestecuri, acest  
21 comportament putând fi atribuit creșterii conținutului de condroitin sulfat în compoziția  
hidrogelurilor, care determină o scădere a dimensiunilor porilor, și formarea unor hidrogeluri  
23 mult mai compacte.

25 Profilurile de eliberare a teofilinei din hidrogelurile pe bază de celuloză/condroitin  
sulfat (fig. 2) prezintă faptul că o creștere a cantității de condroitin sulfat în compoziția  
hidrogelurilor determină o creștere a procentului de teofilină eliberată, astfel în cazul  
27 compozițiilor cu 0,25/0,25 g C/CS (raport de amestecare 50/50 C/CS) și 0,3/0,2 g C/CS  
(raport de amestecare 60/40 C/CS) se eliberează 83% și, respectiv, 75% din cantitatea  
29 totală.

31 Procedul de obținere a hidrogelurilor pe bază de celuloză și condroitin sulfat,  
conform invenției, constă în aceea că celuloza și condroitin sulfatul se reticulează cu  
epiclorhidrină adăugată sub agitare energetică, continuă, timp de 5...10 min, și menținută apoi  
33 la o temperatură de 80°C, timp de 8 h. Hidrogelurile astfel obținute au fost spălate repetat  
cu apă distilată fierbinte și cu apă distilată rece, în scopul îndepărtării totale a epiclorhidrinei  
35 din sistem. După spălare, hidrogelurile au fost înghețate timp de 2 h, după care au fost  
uscate timp de 10 h, prin liofilizare cu ajutorul unui sistem LABCONCO FreeZone.

37 În continuare se dau 5 exemple de realizare a invenției, cu referire și la datele  
prezentate în tabelul de mai jos, unde sunt date caracteristicile de umflare ale hidrogelurilor  
39 pe bază de celuloză și condroitin sulfat, și cu cele două figuri ce reprezintă:

41 - fig. 1, eliberarea paracetamolului din hidrogelurile pe bază de celuloză/condroitin  
sulfat;

43 - fig. 2, profilurile de eliberare a teofilinei din hidrogelurile pe bază de celuloză/  
condroitin sulfat.

## Exemplul 1

45 Într-un pahar Berzelius se amestecă 0,45 g celuloză și 0,05 g condroitin sulfat cu  
6,725 ml apă distilată și 0,625 g NaOH, care se omogenizează, compoziția obținută fiind  
47 înghețată, ulterior, 24 h la -20°C. A doua zi, amestecul obținut este lăsat să se dezghețe la  
temperatura camerei încă 24 h. În cea de-a treia zi, conținutul dezghețat se omogenizează  
49 și se amestecă cu 2,1431 ml epiclorhidrină (EPC1). Acesta se toarnă într-un creuzet și se  
supune reacției de reticulare prin încălzire timp de 8 h, la o temperatură de 80°C. Se obține  
51 un hidrogel de culoare alb-gălbui, având un grad maxim de umflare de 258,17%.

# RO 126831 B1

## Exemplul 2

Se procedează ca în exemplul 1, dar folosind un amestec cu următoarea compoziție: 0,40 g celuloză și 0,1 g condroitin sulfat. Se obține un hidrogel alb-gălbui, cu un grad maxim de umflare mai mare decât cel obținut în exemplul 1, de 297,84%.

## Exemplul 3

Se procedează ca în exemplul 1, dar folosind un amestec cu următoarea compoziție: 0,35 g celuloză și 0,15 g condroitin sulfat. Hidrogelul obținut este mai deschis la culoare, și are o capacitate de umflare de 317,91%.

## Exemplul 4

Se procedează ca în exemplul 1, dar se variază raportul dintre componenți, utilizându-se 0,3 g celuloză și 0,2 g condroitin sulfat. Hidrogelurile se prezintă compacte și sub formă de filme având o capacitate de umflare de 366,39%.

## Exemplul 5

Se procedează ca în exemplul 1, dar se variază raportul dintre componenți, utilizându-se 0,25 g celuloză și 0,25 g condroitin sulfat cu o capacitate de umflare de 366,66 %, valorile gradului maxim de umflare crescând odată cu creșterea conținutului de condroitin sulfat.

*Cantitățile de condroitin sulfat și gradele de umflare ale hidrogelurilor*

Celuloză (g)	CS (g)	$Q_{\max} = (m-m_0)/m_0$ $\times 100$ (%)
0,45	0,05	258,17
0,4	0,1	297,84
0,35	0,15	317,91
0,3	0,2	366,39
0,25	0,25	366,66

# RO 126831 B1

1

## Revendicare

3

Compoziție pentru obținerea unor hidrogeluri bicomponente, **caracterizată prin aceea că** este constituită din celuloză 90...50% și condroitin sulfat 10...50%, în raport gravimetric, având un grad maxim de gonflare de 300%, compoziție adecvată ca suport/transport pentru eliberarea controlată a paracetamolului și a teofilinei.

5

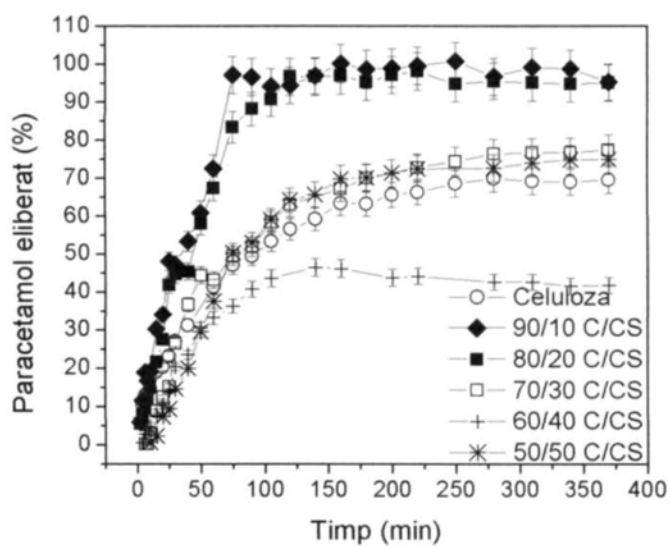


Fig. 1

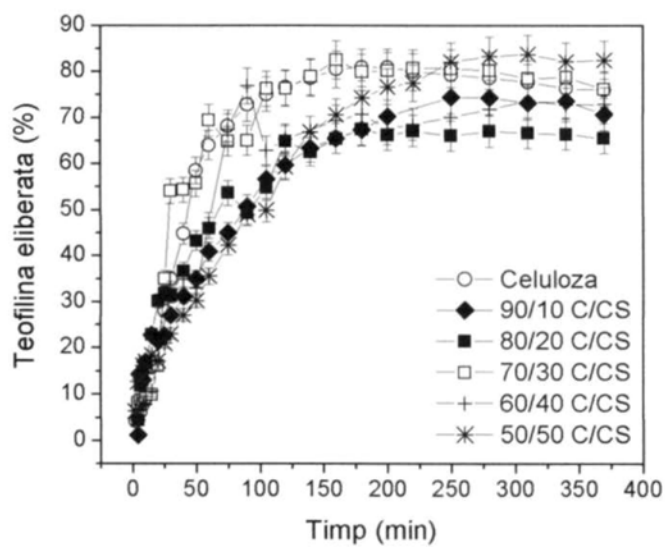


Fig. 2

