



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2011 00876**

(22) Data de depozit: **07.09.2011**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **29.03.2013** BOPI nr. **3/2013**

(41) Data publicării cererii:
29.06.2012 BOPI nr. **6/2012**

(73) Titular:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
ȘTIINȚE BIOLOGICE,
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.296,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **ALEXANDRU VALENTINA,
STR.JEAN LOUIS CALDERON NR.58,
AP.16, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **GILLE ELVIRA, STR.PLEVNEI NR.4,
BL.F 10, SC.C, AP.51, PIATRA NEAMȚ, NT,
RO;**

• **NECULA RADU, BD.TRAIAN NR.2,
BL.S 1, SC.E, AP.151, PIATRA NEAMȚ, NT,
RO;**

• **LEAU FLORIN, STR.DEZROBIRII NR.44,
BL.O 9, AP.166, SECTOR 6, BUCUREȘTI,
B, RO;**

• **SAVIN SIMONA,
STR. GIACCOMO PUCCINI NR.19, SC.A,
ET.2, AP.8, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B,
RO;**

• **TATIA RODICA,
STR. EROU ADRIAN FULGA NR.3,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
RO 110780 B; RO 110398 B

(54) **BIOPREPARAT PELICULOGEN CU EFECT PROTECTOR,
REGENERATIV ȘI CICATRIZANT, ȘI PROCEDEU DE
OBTINERE A ACESTUIA**



RO 127488 B1

1 Invenția se referă la un biopreparat topic de uz uman și/sau veterinar, cu acțiune în
2 terapia unor afecțiuni cutanate accidentale, cum ar fi plăgi neinfectate, înțepături, contuzii și
3 arsuri ușoare, și la procedeul de obținere a acestuia.

4 Procesul de vindecare a rănilor se caracterizează prin 3 faze care se suprapun:
5 inflamația, proliferarea celulelor și remodelarea. După rănire, mai multe tipuri de celule sunt
6 recrutate la locul prejudiciat, pentru a realiza procesul de reparare. După neutrofile și
7 monocite, fibroblaștii sunt atrași la locul leziunii, pentru a iniția faza proliferativă a procesului
8 de vindecare. Acestea sunt celulele care secretă colagenii și glicozaminoglicanii unui nou
9 țesut de granulare, care ulterior, prin remodelare, se transformă într-o dermă matură.

10 Acestea secretă, de asemenea, factori de creștere, cum ar fi KGF-1, PDGF și TGF-B,
11 care stimulează proliferarea/diferențierea/migrarea altor celule implicate în procesul de
12 vindecare (Clark, R. A. F., 1993, *Biology of Dermal Wound Repair*. In Nemeth, A. J. (Ed.),
13 *Dermatologic Clinics Wound Healing*, vol. 11, pp. 647-666). Procesul de vindecare poate fi
14 întârziat sau împiedicat de nivelurile ridicate ale radicalilor liberi de oxigen sau de infecția
15 microbiană.

16 În tratamentul leziunilor cutanate, se folosesc unele compoziții în care sunt incluse
17 componente de matrice extracelulară (colagen, elastină, glicozaminoglicani), care au
18 proprietatea de a stimula procesul de biosinteză a unui nou țesut, asigurând un mediu similar
19 țesutului natural și/sau specii de plante medicinale care conțin substanțe active (taninuri,
20 alcaloizi, saponine, compuși fenolici, uleiuri volatile, vitamine, microelemente), care le
21 conferă acțiune farmacologică antiseptică, antiinflamatoare, antioxidantă și cicatrizantă. Se
22 cunoaște, din brevetul **RO 110398 B1**, compoziția unui unguent cu proprietăți regenerative
23 și cicatrizante, constituit din colagen, condroitin sulfat, alcool etilic, vaselină farmaceutică,
24 glicerină farmaceutică, Tween 80, nipagin, nipasol și apă distilată.

25 Brevetul **RO 110780** se referă la un biopreparat peliculogen cu efect protector și
26 cicatrizant, care este constituit din colagen cu greutatea moleculară medie 280000...350000,
27 glicozaminoglicani cu greutatea moleculară medie 15000...25000 și hexozamine și glicerină,
28 și este condiționat sub formă de pelicule sterile, și la un procedeu de obținere a preparatului
29 peliculogen.

30 Brevetul **RO 122181** descrie un bioprodus de uz extern, sub formă de hidrogel din
31 componente naturale, eficient în regenerarea țesutului dermic lezat, realizat prin asocierea
32 următoarelor componente: carbomer, colagen tip I și III sub formă nativă, elastină alfa sau
33 k, glicozaminoglicani, extract alcoolic de *Equisetum arvense*, extract alcoolic de *Achillea*
34 *millefolium*, nipagin și nipasol și apă distilată.

35 Brevetul **118929 B** oferă un preparat pentru tratarea arsurilor, constituit dintr-o
36 emulsie formată din ulei de in, apă de var și extract alcoolic de muguri de plop și urzică mare.

37 Problema pe care o rezolvă invenția este de a realiza un biopreparat cu efect
38 protector, regenerativ și cicatrizant, alcătuit numai din componente naturale și cu capacitatea
39 de a stimula procesul de vindecare a tegumentului lezat și un procedeu de obținere a
40 acestuia.

41 Biopreparatul cu efect protector, regenerativ și cicatrizant, conform invenției, este
42 constituit din 25...50 părți ceară de albine, 5...10 părți cetaceum, 2,5...5 părți vaselină,
43 7,3...14,6 părți ulei de măsline, 0,425...0,850 părți oxid de zinc, 0,120...0,240 părți
44 fitocomplex liofilizat, constituit din 4 părți *Equisetum arvense*, 3 părți *Achillea millefolium*, 0,5
45 părți *Hyssopus officinalis* și 0,25 părți *Echinacea purpurea*, 1...2 părți colagen hidrolizat cu
46 greutate medie 100...120.000 Da, 0,232...0,262 părți tocoferol, 0,150...0,300 părți neomicină,
47 0,065...0,125 părți extract din sâmburi de grapefruit, 0,05...0,1 părți ulei de levănțică,
48 7,3...14,6 părți apă purificată, părțile fiind exprimate în greutate.

RO 127488 B1

Procedeul de obținere a biopreparatului pelicologen cu efect protector, regenerativ și cicatrizant, conform invenției, constă, într-o primă etapă, în care se realizează fitocomplexul din părțile aeriene ale plantelor uscate și mărunțite mecanic, prin amestecarea a 4 părți *Equisetum arvense*, 3 părți *Achillea millefolium*, 0,5 părți *Hyssopus officinalis* și 0,25 părți *Echinaceea purpurea*, amestecul se supune extracției timp de 10 zile în etanol 70%, la temperaturi de 25...35°C, într-un raport amestec vegetal:solvent de 1:8, după care soluția obținută se filtrează și se concentrează la temperatura de 40...50°C, sub vid, se liofilizează, rezultând un fitocomplex pulbere care se păstrează în flacoane sigilate, la temperatura de 4°C, după care, într-o a doua etapă, se realizează patru compoziții, compoziția I constând din topirea a 25...50 părți ceară de albine, 5...10 părți cetaceum, 2,5...5 părți vaselină și din 0,232...0,262 părți tocoferol, compoziția II constând din 7,3...14,6 părți de apă pură și 0,425...0,850 părți oxid de zinc, după care se adaugă o compoziție III, constând din 7,3...14,6 părți ulei de măsline și 0,150...0,300 părți neomicină sulfat, se adaugă apoi o compoziție IV, constând din 1...2 părți collagen hidrolizat, sterilizat prin filtrare, în care a fost solubilizat 0,120...0,240 părți fitocomplex liofilizat, cele patru compoziții se amestecă la cald, pe baie de apă, și în amestecul omogenizat, se adaugă 0,05...0,1 părți de ulei de levănțică și 0,065...0,125 părți conservant natural, în final, rezultă un preparat care se păstrează în recipiente, la o temperatură de 4°C.

Biopreparatul conform invenției prezintă următoarele avantaje: 19

- constituie o alternativă la produsele de sinteză, fiind obținut din ingrediente organice și minerale naturale; 21

- se folosește un conservant cosmetic natural, netoxic și non alergic.

Se prezintă, în continuare, un exemplu de realizare a invenției. 23

Exemplu. Se constituie o compoziție din ceară de albine 25...50 g, cetaceum 5...10 g, vaselină 2,5...5 g, ulei de măsline 7,3...14,6 g, oxid de zinc 0,425...0,85 g, fitocomplex liofilizat 0,120...0,240 g, collagen hidrolizat cu greutatea medie 100...120.000 Da 1...2 g, vitamina E (tocoferol) 0,232...0,464 g, neomicină sulfat 0,150...0,300 g, extract din sămburi de grapefruit (conservant natural) 0,0625...0,125 g, ulei de levănțică 0,05...0,1 g și apă purificată 7,3...14,6 g. 25
27
29

Etapa 1. Părțile aeriene ale următoarelor plante medicinale: tulpini sterile de *Equisetum arvense* (coada calului), frunze și flori de *Achillea millefolium* (coada șoricelului), tulpini, frunze și flori *Hyssopus officinalis* (isop) și *Echinaceea purpurea* (echinaceea) sunt uscate la umbră timp de 4...7 zile, mărunțite mecanic, fiecare separat. Ulterior, sunt amestecate, în următoarea proporție: *Equisetum arvense* 4 g, *Achillea millefolium* 3 g, *Hyssopus officinalis* 0,5 g și *Echinaceea purpurea* 2,5 g. Amestecul realizat este supus extracției în etanol 70%, raportul dintre amestecul vegetal și solvent fiind de 1:8. Extracția se realizează la întuneric, în sticle brune, bine închise, la o temperatură cuprinsă între 25 și 35°C, pentru o perioadă de 10 zile, cu agitare zilnică. La sfârșitul perioadei, solventul este decantat, filtrat și apoi concentrat la 40...50°C, sub vacuum, până la evaporare. Concentratul este liofilizat, pentru a obține, în final, un produs sub formă de pulbere, care se păstrează la 4°C, într-un recipient foarte bine închis. 31
33
35
37
39
41

Etapa 2. Se realizează patru compoziții, într-un vas de inox, se topesc, pe baie de apă, în ordine: 5 g ceară, 5 g cetaceum și 2,5 g vaselină, după topire, se ia vasul de pe baie de apă și se adaugă 0,232 g vitamina E, agitând continuu (compoziția I), această compoziție se păstrează în stare topită pe baie de apă. Într-un recipient, separat, pe o baie de apă, se pun la încălzit 7,5 ml apă pură, când apa ajunge la 70°C, se adaugă 0,425 g oxid de zinc (compoziția II), această compoziție se menține la 70°C. În alt recipient, pe baie de apă, se încălzesc, la 70°C, 7,5 ml ulei de măsline în care a fost adăugată și omogenizată neomicină 43
45
47

RO 127488 B1

1 (compoziția III). Într-o eprubetă, se adaugă 0,120 g fitocomplex și 1 ml colagen hidrolizat, se
amestecă bine prin pipetare (compoziția IV). După ce toate cele patru compoziții au fost
3 pregătite, peste compoziția I, păstrată la cald, în stare topită, se adaugă compoziția II,
menținută la 70°C, se omogenizează bine, apoi se adaugă compoziția III, se omogenizează,
5 când amestecul ajunge la 37...40°C, se adaugă compoziția IV și se omogenizează foarte
bine. Când amestecul capătă consistență cremoasă, se adaugă 0,150 g conservant și 0,05 g
7 ulei de levănțică. Recipientul cu amestecul se ia de pe baia de apă, se continuă omo-
genizarea, până când acesta începe să se întărească, se toarnă în cutii din plastic și se lasă
9 să se răcească, apoi se depozitează la 4°C și este stabil 3 luni.

Fitocomplexul a fost analizat pentru identificarea efectului antioxidant și a activității
11 antimicrobiene. A fost determinată prezența compușilor polifenolici, calitativ, prin
cromatografie lichidă (HPLC) și, cantitativ, prin metoda colorimetrică Folin-Ciocalteu.
13 Activitatea antioxidantă a acestora a fost evidențiată spectrofotometric prin metoda
determinării capacității antioxidante a echivalentului Trolox (TEAC), bazată pe scăderea
15 maximului absorbantei radicalilor DPPH și ABTS. Activitatea antimicrobiană testată s-a
manifestat cu preponderență pe tulpini de stafilococi implicate în patologia cutanată. Studiile
17 *in vitro* efectuate au folosit ca model linia celulară de fibroblaste de șoareci L 929 (ECACC).
Efectul fitocomplexului asupra stimulării proliferării fibroblastelor s-a testat și demonstrat prin
19 metoda preluării colorantului roșu neutru, iar capacitatea de a stimula sinteza colagenului
solubil s-a evidențiat utilizând kitul *Sircol collagen assay kit*, conform instrucțiunilor
21 producătorului (Biocolor Ltd., Newtownabbey). Efectul protector, regenerativ și cicatrizant s-a
demonstrat și *in vivo* prin teste pe animale de laborator.

1. Biopreparat peliculogen cu efect protector, regenerativ și cicatrizant, **caracterizat prin aceea că** este constituit din 25...50 părți ceară de albine, 5...10 părți cetaceum, 2,5...5 părți vaselină, 7,3...14,6 părți ulei de măsline, 0,425...0,850 părți oxid de zinc, 0,120...0,240 părți fitocomplex liofilizat, constituit din 4 părți *Equisetum arvense*, 3 părți *Achillea millefolium*, 0,5 părți *Hyssopus officinalis* și 0,25 părți *Echinaceea purpurea*, 1...2 părți colagen hidrolizat cu greutate medie 100...120.000 Da, 0,232...0,262 părți tocoferol, 0,150...0,300 părți neomicină, 0,065...0,125 părți extract din sămburi de grapefruit, 0,05...0,1 părți ulei de levănțică, 7,3...14,6 părți apă purificată, părțile fiind exprimate în greutate. 3
5
7
9
2. Procedeu de obținere a biopreparatului peliculogen cu efect protector, regenerativ și cicatrizant, **caracterizat prin aceea că**, într-o primă etapă, se realizează fitocomplexul din părțile aeriene ale plantelor uscate și mărunțite mecanic prin amestecarea a 4 părți *Equisetum arvense*, 3 părți *Achillea millefolium*, 0,5 părți *Hyssopus officinalis* și 0,25 părți *Echinaceea purpurea*, amestecul se supune extracției timp de 10 zile în etanol 70%, la temperaturi de 25...35°C, într-un raport amestec vegetal:solvent de 1:8, după care soluția obținută se filtrează și se concentrează la temperatura de 40...50°C, sub vid, se liofilizează, rezultând un fitocomplex pulbere, care se păstrează în flacoane sigilate, la temperatura de 4°C, după care, într-o a doua etapă, se realizează patru compoziții, compoziția I, constând din topirea a 25...50 părți ceară de albine, 5...10 părți cetaceum, 2,5...5 părți vaselină și din 0,232...0,262 părți tocoferol, compoziția II, constând din 7,3...14,6 părți de apă pură și 0,425...0,850 părți oxid de zinc, după care se adaugă o compoziție III, constând din 7,3...14,6 părți ulei de măsline și 0,150...0,300 părți neomicină sulfat, se adaugă apoi o compoziție IV, constând din 1...2 părți colagen hidrolizat, sterilizat prin filtrare, în care a fost solubilizat 0,120...0,240 părți fitocomplex liofilizat, cele patru compoziții se amestecă la cald, pe baie de apă, și în amestecul omogenizat, se adaugă 0,05...0,1 părți de ulei de levănțică și 0,065...0,125 părți conservant natural, în final, rezultă un preparat care se păstrează în recipiente la o temperatură de 4°C. 11
13
15
17
19
21
23
25
27

