



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2010 01222**

(22) Data de depozit: **29.11.2010**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **29.11.2013** BOPI nr. **11/2013**

(41) Data publicării cererii:
30.08.2012 BOPI nr. **8/2012**

(73) Titular:

- UNIVERSITATEA "OVIDIUS" DIN CONSTANȚA, BD. MAMAIA NR.124, CONSTANȚA, CT, RO;
- UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN BUCUREȘTI, STR. POLIZU GHEORGHE NR.1-7, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
- UNIVERSITATEA DIN BUCUREȘTI, BD.MIHAIL KOGĂLNICEANU NR.36-46, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;
- INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU ȘTIINȚE BIOLOGICE, SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.296, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
- PRODIAGNOSTIC S.R.L., STR.FARULUI NR.30, CONSTANȚA, CT, RO

(72) Inventatori:

- NEGREANU-PÎRJOL TICUȚA, STR.SUCEAVA NR.12, BL.V 4, SC.C, ET.1, AP.48, CONSTANȚA, CT, RO;
- NEGREANU-PÎRJOL BOGDAN- ȘTEFAN, STR.SUCEAVA NR.12, BL.V 4, SC.C, ET.1, AP.48, CONSTANȚA, CT, RO;
- GURAN CORNELIA, STR. PUȚUL DE PIATRĂ NR.5, AP.4, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
- CĂLINESCU MIRELA, ȘOS.IANCULUI NR.53, BL.102 B, SC.B, AP.50, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;

- OANCEA ANCA, STR.PAȘCANI NR.5, BL.D 7, SC.E, ET.2, AP.45, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
- GORUN ELENA, STR.CPT.DOBRILĂ EUGENIU NR.2, BL.H, SC.A, ET.1, AP.8, CONSTANȚA, CT, RO;
- RONCEA FLORENTINA- NICOLETA, STR.CPT.DOBRILĂ EUGENIU NR.4, BL.R 1, SC.C, AP.42, CONSTANȚA, CT, RO;
- DUMITRU FLORINA, STR.DUMBRAVA NOUĂ NR.15, BL.M 109 A, SC.A, ET.6, AP.38, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;
- MEGHEA AURELIA, STR.OLIMPULUI NR.76, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
- BADEA NICOLETA, STR.LEREȘTI NR.3, BL.A 2, SC.6, ET.4, AP.88, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;
- ȚARĂLUNGĂ GHEORGHE, STR. GUATEMALA NR.3, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
- AMARIEI CORNELIU, STR.ILARIE VORONCA NR.7, CONSTANȚA, CT, RO;
- MOLDOVAN LUCIA, BD. CONSTRUCTORILOR NR.24, BL.19, SC.A, ET.2, AP.13, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:

WO 2005/084627 A1; US 2005/0180927 A1

(54)

PREPARATE FARMACEUTICE, DE TIP APĂ DE GURĂ, PE BAZĂ DE COMPLEXȘI METALICI AI CLORHEXIDINEI ȘI PROCEDEU DE OBȚINERE A ACESTORA



RO 127722 B1

1 Invenția se referă la preparate farmaceutice de tip apă de gură pe bază de complecși
2 metalici ai clorhexidinei și la un procedeu de obținere a acestora. Preparatele farmaceutice
3 de tip ape de gură cu acțiune la nivelul mucoasei orofaringiene sunt destinate domeniului
4 sănătății umane și veterinară după caz, privind acțiunea dezinfectantă și antimicrobică, putând
5 fi utilizate pentru igiena cavității orofaringiene, având acțiune antimicrobiană, dezinfectantă.

6 În ultimii ani există o preocupare și o cerere crescută de realizare de agenți
7 antimicrobieni frecvent comercializați, ca principali ingrediente activi alături de alcoolii, iod,
8 iodoform, hexaclorofen fiind și clorhexidina (CHX). CHX este activă împotriva bacteriilor
9 Gram pozitive și mai puțin activă împotriva bacteriilor Gram negative, fungi, și specii de
10 *Proteus*; are activitate numai împotriva unor tipuri de virusuri (hepatită, herpes simplex, HIV,
11 citomegalovirus și virus respirator). CHX - activitate redusă împotriva micobacteriilor și nulă
12 pentru endospori și chisturi ale protozoarelor. CHX acționează asupra: membranei celulare
13 provocând distrugerea acesteia și pierderea materialului intracelular, inhibiția respiratorie și
14 coagularea citoplasmatică.

15 Clorhexidina (DCI) este o bază tare cu solubilitate redusă în apă. Pentru creșterea
16 solubilității în apă, CHX formează săruri cu acizi: gluconic (CHX-digluconat 20 g/100 mL,
17 CHX-acetat 1,9 g/100 mL) [US 2006/0051385 A1].

18 În ceea ce privește natura ionilor metalici utilizați drept centre de coordonare, un
19 număr important de studii vizează complecși ai metalelor cu relevanță biologică
20 semnificativă, cum sunt zincul, cuprul și argintul. Dintre acțiunile biologice specifice acestor
21 ioni metalici, interesul maxim a fost suscitată de activitatea antimicrobiană și cicatrizantă a
22 acestora [Bryan Greener, **Antimicrobial biguanide metal complexes**, *J. Pharmaceutical*
23 **Sciences**, 69(2), 215-217, 2006], [Farrington, K. L., Morrow, L.E., **Antimicrobial Metals:**
24 **A Nonantibiotic Approach to Nosocomial Infections - Silver and copper may prove key**
25 **în preventing a problem that kills nearly 88.000 per year, 2005,**
26 **www.rxmed.com/monographs**]. Este cunoscută combinația complexă a Ag(I) cu
27 sulfodiazina, polimer de coordonare în care ionul Ag⁺ este pentacoordinat, un agent
28 antibacterian mult mai eficient comparativ cu ligandul liber, împotriva unor tulpini bacteriene,
29 cum ar fi *Pseudomonas aeruginosa* și *Staphylococcus aureus* [US 20030035848 A1/2003],
30 [US 2002/0072480 A1].

31 Preparatele farmaceutice de tip ape de gură cu activitate antimicrobiană, propuse în
32 cadrul brevetului, destinate exercitării acțiunii dezinfectante a complecșilor metalici printr-un
33 efect sinergic datorat reunirii acțiunii antibacteriene și antifungice a clorhexidinei și a
34 derivaților săi cu cea a ionilor metalici Zn, Cu și Ag, concomitent cu creșterea eficacității
35 terapeutice, se pot utiliza atât pentru igiena cavității orofaringiene cât și a suprafețelor și a
36 instrumentarului medical.

37 Capacitatea antibacteriană a ionilor de argint este corelată cu starea de oxidare și
38 este dovedit faptul ca ionii de argint în stări de oxidare II și III au o acțiune antibacteriană mai
39 bună/măi eficientă și mai puternică decât Ag(I). Totuși, AgNO₃ și alți complecși, cum ar fi
40 Ag(I)-sulfadiazina sunt agenți antibacterieni eficienți cu Ag(I). Un complex Ag(III)-CHX sub
41 formă nanocristalină - sintetizat prin tehnica microemulsiei inverse - a prezentat activitate
42 antibacteriană puternică pe bacterii Gram-pozitive (*Enterococcus faecalis* (ATCC 29212),
43 *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228),
44 *Propionibacterium acnes* (ATCC 6919)) și Gram-negative (*Acinetobacter calcoaceticus*
45 (ATCC 23055), *Citrobacter freundii* (ATCC 6750), *Klebsiella pneumonia* (ATCC 10031), și
46 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)) și pe tulpini rezistente la metilicilinăde
47 *Staphylococcus aureus*. Concentrațiile inhibitorii minime (MIC) ale complexului Ag(III)-CHX

RO 127722 B1

au fost mult mai mici decât cele ale ligandului liber, (clorhexidina bază), AgNO₃ și Ag(I) - sulfadiazina [Synthesis of Highly Antibacterial Nanocrystalline Trivalent Silver Polydiguanide, Sukdeb Pal, Eun Jeong Yoon, Yu Kyung Tak, Eung Chil Choi, and Joon Myong Song, J. AM. CHEM. SOC. 2009,131,16147-16155].

Complecși ai clorhexidinei cu Ag(III) au fost obținuți sub formă de compoziții stabile la temperatura ambiantă, compatibile cu materialele utilizate ca substrat în dispozitivele medicale, și au fost utilizate în tratamentul sau profilaxia infecțiilor microbiene (bacteriene)

[US WO 2007/000590 A1], [US 2006/0051385 A1].

Acțiunea antimicrobiană a unor astfel de complecși CHX-Ag(III) este superioară celei a ligandului liber sau a ionului Ag(I) în compușii AgNO₃ sau Ag(I)-sulfadiazina, utilizați deja în tratamentul clinic al infecțiilor bacteriene. Articole destinate uzului medical (instrumentar cu peliculă antiseptică, e.g. sonde de inhibare - evitarea infecțiilor nosocomiale, pansamente antimicrobiene bioadezive) produse prin impregnarea cu CHX-Ag(III) (prin imersare în soluția de complex) sau prin acoperirea cu CHX-Ag(III) pulbere pot fi păstrate perioade îndelungate (câțiva ani) la presiunea și temperatura ambiantă în ambalaje sterile tradiționale. CHX-Ag(III) dispersat prin amestecare mecanică în IntraSite Gel (Smith&Nephew Medical Ltd.) conduce la obținerea unui hidrogel stabil chimic cu acțiune antimicrobiană față de *Staphylococcus aureus* (zona de inhibiție = 6,4 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (zona de inhibiție = 5,4 mm)

[US 2002/0072480 A1], [US WO 2007/000590 A1].

Complecși ai CHX cu Ag(I) și Ag(II): [Ag(CHX)]⁺ și [Ag(CHX)]²⁺ au prezentat activitate antibacteriană superioară și viteze letale mai mari în comparație cu clorhexidina și AgNO₃ și pot reprezenta o nouă generație/clasă de agenți antibacterieni în tratamentul rănilor. Acești complecși [Ag(CHX)](NO₃) și [Ag(CHX)](NO₃)₂ au fost sintetizați prin precipitare din soluții apoase neutre sau slab acide (H₂SO₄, 2N) de clorhexidină (CHX) și AgNO₃. Complexul [Ag(CHX)](NO₃)₂ cu Ag(II) a fost obținut în 2 etape: oxidarea Ag(I) din soluția CHX:AgNO₃ cu sodiu persulfat (Na₂S₂O₈), formarea complexului CHX:Ag(II) [Metallopharmaceuticals based on silver(I) and silver(II) polydiguanide complexes: activity against burn wound pathogens, Pal S, Yoon EJ, Park SH, Choi EC, Song JM, J Antimicrob Chemother. 2010;65(10):2134-40]. Activitatea antibacteriană a acestor complecși a fost stabilită prin determinarea concentrațiilor MIC și MBC pe 4 bacterii Gram-pozitive și pe 4 bacterii Gram-negative: *Acinetobacter calcoaceticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*. Concentrațiile MIC pentru complecșii [Ag(CHX)]⁺ și [Ag(CHX)]²⁺ au fost mult mai scăzute decât cele ale clorhexidinei, AgNO₃ și complexului Ag-sulfadiazină. Vitezele letale/biocide? ale complecșilor [Ag(CHX)]⁺ și [Ag(CHX)]²⁺ pe bacteriile testate au fost de 2-8 ori mai mari decât cele corespunzătoare clorhexidinei sau AgNO₃ la concentrații egale cu MIC sau de 4 ori mai mari decât aceasta.

În studiile clinice, produsele de îngrijire orală (pasta de dinți, ape de gură) ce conțin amestecuri clorhexidină: Zn(II) s-au dovedit mult mai eficiente în controlul formării plăcii dentare, gingivitei și a compușilor cu sulf volatili din cavitatea bucală (i.e. respirație mirositoare, halenă) decât produsele care au în componență doar clorhexidină.

Apa de gură cu CHX este extensiv utilizată ca adjuvant în tratamentul periodontitei și există studii preliminare care arată că CHX inhibă numeroase activități glicozidice și proteolitice ale bacteriilor orale, e.g. *P. gingivalis* [Inhibition of Porphyromonas gingivalis proteinases (gingipains) by chlorhexidine: synergistic effect of Zn(II), C. A. Cronan, J. Potempa, J. Travis, J. A. Mayo, Oral Microbiology Immunology 2006: 21: 212-217]. Activitățile enzimelor răspunzătoare de durerea gingivală lys (Kgp) și arg (2 forme, RgpB și

RO 127722 B1

1 HrgpA) au fost măsurate în prezența unor concentrații variabile de CHX și în prezența
amestecului CHX:Zn. Constantele de inhibiție (K_i) au fost determinate în ambele cazuri.
3 RgpB, HrgpA și Kgp au fost inhibitate de clorhexidina cu K_i cu valori în domeniul micromolar.
Pentru RgpB și HrgpA, efectele inhibitorii ale CHX au fost potentate de 30 de ori la
5 adăugarea Zn(II). Interacția CHX-Zn(II) determină un efect sinergic în inhibarea HrgpA și
RgpB. Pentru Kgp, efectele Zn(II) și CHX în activitatea de inhibiție au fost antagonice.

7 Ionii de zinc și clorhexidina prezintă un efect inhibitoriu sinergic asupra creșterii *in*
vitro a *S. sobrinus* și *S. sanguis*. Efectele asupra plăcii bacteriene au fost determinate pentru
9 8,0 mM, 0,44 mM CHX și a combinării celor două, mai eficientă combinația [E. Gierstein, A.
A. Scheie, G. Rolla, **Scandinavian Journal of Dental Research, 1988, 96(6), 541-550**].

11 Ionii de zinc, clorhexidina (CHX) și clorura de cetilpiridiniu sunt compuși cunoscuți
pentru inhibarea compușilor volatili pe bază de S (VCS). Ionii de zinc la concentrația de 1%
13 au un gust neplăcut, este de dorit să fie eficienți la concentrații mai mici.

15 CHX are gust neplăcut la 0,2%. Zn are cel mai bun efect anti-VCS în concentrația de
1%, 1 h, CHX are același efect la 0,2%, în 3 h [A. Young, G. Jonski, G. Rolla, **European**
Journal of Oral Sciences, 2003,111(5), 400].

17 Cuprul este un metal de interes clinic, metal esențial în nutriția umană și are toxicitate
redușă.

19 Clorhexidina și Cu^{2+} , soluții de 1,1 mM au fost folosite în experimente vizând redu-
cerea plăcii bacteriene. Clorhexidina, în concentrația 1,1 mM, este mai eficientă decât Cu^{2+}
21 [S. M. Waler, G. Rolla, **Scandinavian Journal of Dental Research, 1982, 90(2), 131-133**].

23 Complecși pe bază de CHX-I, se regăsesc în următoarele formulări: [GB
1128833/1966] și [PEP 1340490 B1/2003], colutoriu pe bază de clorhexidină, sub formă de
soluție pentru igiena orală bazată pe clorhexidină și acid ascorbic, care nu are ca efect
25 secundar pigmentarea dinților. La soluția de clorhexidină și acid ascorbic (cu rol de reducere
a Fe^{3+} la Fe^{2+} , împiedicarea reacțiilor Maillard) se adaugă sodiu metabisulfid care are rolul de
27 a stabiliza acidul ascorbic (împiedicarea oxidării acestuia) în soluție apoasă. Cu citrat de
sodiu pH-ul colutorului este păstrat la valori: 5,7-6,3, domeniu în care activitatea clor-
29 hexidinei este maximă.

Alte patente ce conțin compuși pe bază de clorhexidină [WO 03/096999 A1],
31 Formulări pentru mascarea gustului neplăcut (compoziția 1,4% wt. NaF, 4,3% wt. clor-
hexidină acetat, 14,3% aspartam, 74,0-74,3% celuloză microcristalină, 5,7% polio-
33 xietilenglicol 4000, 0,0-0,3% ulei de mentă; [WO 03/084461 A2], Formulări orale ce conțin
clorhexidină sau săruri (digluconat, diacetat, diclorhidrat), sare de zinc, gluconat de zinc și
35 agent de mascare/aromatizare - zaharină sau sare a zaharinei; [US 2005/0191247 A1],
complecși ai clorhexidinei cu săruri de Cu^{2+} și Zn^{2+} , sunt prezente în concentrații 1%, 0,5%,
37 0,1%, cel puțin 0,01%.

În prezent se produc și se comercializează un număr însemnat de medicamente
39 antiseptice care conțin ca substanță activă clorhexidina, administrate sub formă de soluții,
ape de gură sau geluri, pentru uz extern, ca OTC [1], **Agenda Medicală, Editura Medica,**
41 **București, 2009, Memomed, Ediția 15, Editura Minesan și Editura Universitară, 2009,**
în:

43 1. Afecțiuni oro-dentare, protetică-ortodonție (Corsodyl Mint Mouthwash soluție -
SmithKline Beecham/Anglia; Corsodyl gel - SmithKline Beecham/Anglia; Klorhexidin Dental
45 soluție - ACO; Plack out soluție - Santa/Grecia; Plack out gel - Santa/Grecia; Peridex -
Procter & Gamble Comp.; Dentosmin-P - Arzneimittelwerk/Germania; Trachisan-
47 Engelhard/Germania);

RO 127722 B1

2. Afecțiuni cutanate, ginecologice și antisepsia suprafețelor (Betagin - Biofarm S.A./România; Chlorhexidine-Gifrer Barbezat/Franta; Chlorhexidine gluconat - Ferrosan; Clorhexidin - Biofarm S.A./România; Clohexin-A, -B, -C- Pharma Labor/România; Desmanol - Schulke Mayr/Germania; Hibiscrub - Zeneca Ltd/VAnglia; Hibitane - ICI-Zeneca/Anglia; Septofort - Pharmavit).

Dezavantajele sau limitele clorhexidinei prezente ca principiu activ în actualele preparate farmaceutice comercializate sunt:

Transformarea ligandului într-o formă hidrosolubilă. CHX (baza liberă) este insolubilă în apă și există doar la $pH > 12$. CHX este folosită ca sare a unor acizi organici: CHX diacetat, CHX diclorhidrat, CHX digluconat. Totuși, posibilitatea unor interacții nedorite a ionului metalic cu alte specii organice sau anorganice sau coprecipitarea face din aceste specii - surse nu foarte potrivite de ligand CHX. Întrucât valorile pK_a pentru CHX (2,2 și 10,3) arată că CHX este diprotonată pe întreg domeniul de valori corespunzătoare pH -ului fiziologic, solubilizarea acesteia se poate ușor realiza prin tratarea cu H_2SO_4 diluat și transformarea în $CHX^{2+} \cdot 2(HSO_4^-)$.

Limitările clorhexidinei prezente ca principiu activ în actualele forme farmaceutice comercializate constau în obținerea de forme farmaceutice lichide (ape de gură) care permit o scădere a concentrației clorhexidinei la nivelul cavității orale prin diluare rapidă cu salivă, reacții adverse, limitarea activității antimicrobiene ca și durata efectului terapeutic.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în prezentarea de preparate farmaceutice de tip apă de gură pe bază de complecși metalici ai clorhexidinei pentru igiena cavității orofaringiene, având acțiune antimicrobiană, dezinfectantă și un procedeu de obținere a acestora.

Preparatele farmaceutice de tip apă de gură pe bază de complecși metalici ai clorhexidinei, conform invenției, înlătură dezavantajele de mai sus, prin aceea că sunt constituite din 0,03...0,1% complecși metalici ai clorhexidinei, 0,1...0,5%, polioxietilen-20 sorbitan monooleat, 1...20% ulei de castor polioxil-40-hidrogenat, 20...80% glicerină, 10...50% alcool etilic, 0,05...0,10% ulei de mentă, 5...50% apă, procentele fiind în greutate.

Procedeul de obținere a preparatelor farmaceutice de tip geluri bioadezive pe bază de complecși metalici ai clorhexidinei conform invenției, înlătură dezavantajele de mai sus prin aceea că se amestecă complecșii metalici ai clorhexidinei cu ulei de castor polioxil-40-hidrogenat, respectiv polioxietilen-20 sorbitan monooleat, prin triturare într-o patentulă și se încălzește pe baia de apă, separat se prepară o soluție prin dizolvarea cantităților corespunzătoare de alcool concentrat, glicerină și apă și se aduce la aceeași temperatură că prima soluție prin încălzire pe baia de apă și se adaugă treptat și cu agitare continuă peste amestecul obținut anterior, apoi se supun controlului calitativ, în care se determină proprietățile organoleptice, pH -ul și densitatea relativă, conform F.R. X, se condiționează în flacoane de sticlă, pline, bine închise și se depozitează la loc răcoros, ferit de lumină.

Prin aplicarea invenției, se obțin următoarele avantaje:

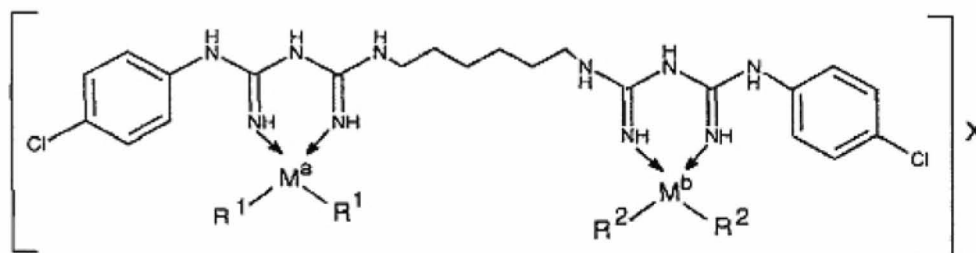
- alegerea solventului-cosolvenți și a celorlalți excipienți din formulă, principiilor active complecșii $Cu(II)$ cu diacetat și diclorhidrat de clorhexidină, au permis obținerea de forme farmaceutice lichide cu o viscozitate și densitate aparentă mai mare, ceea ce prelungește timpul de contact cu mucoasa bucală a substanței active, implicit durata acțiunii terapeutice;

- forma farmaceutică se încadrează în parametrii de calitate oficiali pentru apele de gură;

- complecșii metalici utilizați ca principii active au prezentat o acțiune antioxidantă și antimicrobiană superioară liganzilor organici (clorhexidină) folosiți sau a sării metalice.

RO 127722 B1

1 Prin asocierea clorhexidinei și a sărurilor acesteia, cu ioni metalici cu activitate
farmacologică proprie (antibacteriană, antifungică, cicatrizantă, antiinflamatoare) în compuși
3 cu proprietăți dezinfectante și antimicotice, se pot elimina problemele generate de utilizarea
CHX libere. Complecși metalici ai clorhexidinei ca agenți antimicrobieni au structura
5 corespunzătoare formulei generale:



și formula chimică $[M^aM^b(CHX)(R^1)_2(R^2)_2] \cdot X$,

15 în care

M^a și M^b sunt identici sau diferiți, și sunt aleși dintr-un grup constând dintre Cu, Zn și Ag;

17 R^1 sunt fiecare Cl sau împreună CH_3COO

R^2 este ales dintr-un grup constând dintre CH_3COO și Cl sau absent;

19 X = este ales dintr-un grup constând dintre $2NO_3 \cdot 2C_2H_5OH$, $2Cl$, $2NO_3$ și $2C_2H_5OH$;

21 Într-un prim aspect al invenției, preparatele farmaceutice de tip apă de gură pe bază
de complecși metalici ai clorhexidinei cresc contactul preparatului cu mucoasa
bucală, respectiv cale topică, respectiv prelungirea acțiunii terapeutice, precum și
23 posibilitatea folosirii de noi compuși neutilizați în terapeutică, activi *in vitro* la concentrații mai
mici comparativ cu sărurile de clorhexidină folosite;

25 Într-un alt aspect al invenției, preparatele farmaceutice de tip geluri bioadezive pe
bază de complecși metalici ai clorhexidinei elimină reacțiile adverse (dermatite iritante de
27 contact -CHX liberă) și minimalizarea efectelor secundare (gingivite descuamative,
decolorarea dinților și a limbii, alterarea gustului, alergii care pot conduce la șoc anafilactic).

29 Într-un alt aspect al invenției, sunt descrise formulări/compoziții farmaceutice care să
aibă o solubilitate în medii apoase superioară concentrației minime inhibitorii (MIC) a
31 organismului tratat;

Într-un alt aspect al invenției, este descrisă alegerea excipienților astfel încât să se
33 evite formarea complecșilor insolubili CHX-excipient anionic;

Într-un alt aspect al invenției, preparatele farmaceutice sunt stabile chimic în domeniul
35 de $pH = 5,5-7$, domeniul de eficacitate maximă al CHX;

Într-un alt aspect al invenției, este descrisă evitarea contaminării produsului în
37 procesul de sinteză - pentru păstrarea activității biologice nealterate.

Pentru obținerea apelor de gură s-au folosit ca substanțe active, complecși metalici
39 pe bază de clorhexidină. Complecșii se prezintă ca pulberi de culoare violet până la violet -
închis care au o solubilitate scăzută în solvenții polari. Complexul metalic este parțial solubil
41 în etanol și acetonă, solubil în dimetilsulfoxid la rece și parțial solubil în dimetilformamidă.
Pentru obținerea apelor de gură a fost necesară creșterea gradului de solubilitate al
43 complecșilor în solvenți polari prin hidrotropie și solubilizare micelară.

Compușii cu grupări puternic polare hidrofile, glicerina și sorbitolul, în molecula lor
45 măresc solubilitatea substanțelor greu solubile prin hidrotropie, care se bazează pe activarea
punților de hidrogen și pe scăderea tensiunii interfaciale.

RO 127722 B1

Pentru aducerea în soluție a substanțelor active greu solubile în apă complecși metalici ai clorhexidinei, s-a efectuat o solubilizare micelară prin legături active la suprafață, care sunt capabile să transfere substanța activă în soluții apoase clare sau cel mult opalescente, fără ca prin acest proces să se modifice structura chimică a substanței medicamentoase. Ca agenți de solubilizare se folosesc substanțe tensioactive bipolare.

Ca mediatori ai dizolvării pentru soluțiile studiate s-a utilizat ulei de castor polioxil 40-hidrogenat și polioxietilen-20 sorbitan monooleat, capacitatea de solubilizare bazându-se pe formarea spontană a agregatelor moleculare sau micelilor, stabile din punct de vedere termodinamic și protejate de reacțiile de degradare.

Alcoolii (glicerol, sorbitol, etanol) utilizați la preparare conform invenției, îmbunătățesc capacitatea de solubilizare a tensioactivilor încorporându-se peste punțile de hidrogen în stratul palisadic al micelilor și potențează tăria acestora, prin cosolubilizare.

Glicerolul este un alcool polihidric, obținut prin saponificarea grăsimilor, solvent polar și hidrofil, miscibil în orice proporție cu apa și alcoolul. Puterea solubilizantă a glicerolului, lichid dens, siropos, crește prin încălzire, când viscozitatea scade. Nu trebuie depășită însă temperatura de 130°C când se descompune formând acroleină. Este utilizat în brevetul de față ca și cosolvent.

Polioxietilen-20 sorbitan monooleat este un tensioactiv neionic constituit dintr-un amestec de monoesteri ai acidului oleic cu sorbitolul sau cu anhidridele acestuia (sorbitani), copolimerizați cu aproximativ 20 de molecule de oxid de etilen pentru fiecare moleculă de sorbitol sau sorbitan. Este un lichid vâscos, limpede, galben până la galben-brun, cu miros slab caracteristic și gust slab amar urmat de o senzație de căldură. Diluat cu apă produce prin agitare o spumă abundentă.

Uleiul de mentă sau uleiul volatil de izmă bună este un ulei volatil obținut prin distilare cu vapori de apă din frunzele și vârfurile înflorite ale plantei *Mentha piperita* L. (fam. *Laibiatae*). Este un lichid incolor sau galben-deschis până la galben-verzui, cu miros caracteristic de mentă și gust arzător, răcoritor, însă nu amar. Conține cel puțin 50,0% alcoolii totali exprimați în mentol ($C_{10}H_{20}O$) și cel puțin 4% esteri exprimați în acetat de metil ($C_{12}H_{22}O_2$).

Se amestecă principiul activ complexul metalic al clorhexidinei cu ulei de castor polioxil-40-hidrogenat, respectiv polioxietilen-20 sorbitan monooleat, prin triturare într-o patentulă și se încălzește pe baia de apă.

Separat, se prepară o soluție prin dizolvarea în cantitățile corespunzătoare de alcool concentrat, glicerina și apă. Soluția se aduce, prin încălzire pe baia de apă, la aceeași temperatură și se adaugă treptat și continuă agitare peste amestecul obținut anterior.

După preparare soluțiile obținute au fost supuse controlului calitativ, în care s-au determinat atât proprietățile organoleptice, pH-ul și densitatea relativă, conform F.R.X, s-au condiționat în flacoane de sticlă, pline, bine închise și s-au depozitat la loc răcoros, ferit de lumină.

În continuare se prezintă 2 exemple nelimitative de realizare a invenției, în legătură cu tabelul 2 și cu figura care reprezintă schema tehnologică a procedurii de obținere a preparatelor farmaceutice tip ape de gură pe bază de complecși metalici ai clorhexidinei.

Exemplul 1. Se amestecă 0,03 g complecși metalici ai clorhexidinei cu 1 g ulei de castor polioxil-40-hidrogenat, respectiv 0,1 g polioxietilen-20-sorbitan monooleat, prin triturare într-o patentulă și se încălzește pe baia de apă la 50°C, separat se prepară o soluție prin dizolvarea a 25 g alcool etilic 90%, 20 g glicerină și 5 g apă și se aduce la aceeași temperatură ca prima soluție prin încălzire pe baia de apă și se adaugă treptat și cu agitare continuă peste amestecul obținut anterior, apoi se supun controlului calitativ, în care se

RO 127722 B1

1 determină proprietățile organoleptice, pH-ul și densitatea relativă, conform F.R. X, se
3 condiționează în flacoane de sticlă, pline, bine închise și se depozitează la loc răcoros, ferit
de lumină.

5 **Exemplul 2.** Se amestecă 0,1 g complecși metalici ai clorhexidinei cu 10 g ulei de
7 castor polioxil-40-hidrogenat, respectiv 0,5 g polioxietilen-20-sorbitan monooleat, prin
9 triturare într-o patentulă și se încălzește pe baia de apă la 50°C, separat se prepară o soluție
11 prin dizolvarea a 35 g alcool etilic 90%, 80 g glicerină și 35 g apă și se aduce la aceeași
13 temperatură ca prima soluție prin încălzire pe baia de apă și se adaugă treptat și cu agitare
continuă peste amestecul obținut anterior, apoi se supun controlului calitativ, în care se
determină proprietățile organoleptice, pH-ul și densitatea relativă, conform F.R. X, se
condiționează în flacoane de sticlă, pline, bine închise și se depozitează la loc răcoros, ferit
de lumină.

Tabelul 1

Exemple nelimitative de realizare a invenției

Materiale componente	Exemplul 1 (g)	Exemplul 2 (g)
Complexul metalic diacetat de 1,1'-hexameten-bis-[5-(4-clorfenil)-biguanido]nitrat, cupru	0,03-0,1	-
complexul metalic diclorhidrat de bis 1,1'-hexameten-bis-[5-(4-clorfenil)biguanid]cupru	-	0,04-0,1
Polioxietilen-20 sorbitan monooleat	0,1-0,5	-
Ulei de castor polioxil-40-hidrogenat	1 - 10	10-20
Glicerină	20-80	20-50
Alcool etilic	25-35	10-50
Ulei de mentă	0,05-0,10	0,05-0,10
Apă	5-35	20-50

29 Se obțin preparate farmaceutice de tip ape de gură conform invenției, cu
31 caracteristicile fizico -chimice din tabelul 2.

Tabelul 2

Caracteristici fizico - chimice ale preparatelor farmaceutice de tip ape de gură pe bază de complecși metalici ai clorhexidinei

Caracteristica	Rezultate
Examen organoleptic	Soluții colorate, slab violet, limpede, cu miros caracteristic de inentă
pH	5,00 - 6,00
Densitate relativă	1,1200-1,300

41 Procedul de obținere a apei de gură conform invenției, constă în următoarea schemă tehnologică prezentată în figură.

RO 127722 B1

În urma studiului efectuat privind activitatea antimicrobiană s-a observat că preparatele farmaceutice de tip ape de gură care conțin complecși metalici ai clorhexidinei prezintă activitate antimicrobiană față de tulpinile microbiene *Staphylococcus aureus* (diametrul de inhibiție 1-18 mm), *Escherichia coli* (diametrul de inhibiție 1-10 mm), *Candida albicans* (diametrul de inhibiție 1-8 mm), mai ridicată comparativ cu liganzii organici și combinațiile complexe din care au fost obținute.

Preparatele farmaceutice cu aplicare pe mucoasa orofaringiană pe bază de complecși metalici ai clorhexidinei, condiționate sub formă de ape de gură au fost testate *in vitro* în culturi de fibroblaste. Aceste teste au rolul de a reduce numărul de animale pe care se vor efectua experimentele *in vivo* prin stabilirea concentrației de la care produsele analizate nu mai prezintă efect citotoxic. Pentru testarea efectului compușilor studiați asupra celulelor s-au analizat viabilitatea celulară (prin metoda cu MTT) și morfologia celulară. Citotoxicitatea a fost testată prin metoda extractului, luând în lucru mai multe concentrații ale extractelor și mai multe grade de diluție ale produselor sub formă de soluție. Rezultatele obținute au demonstrat un pronunțat efect citotoxic al produselor în forma în care au fost obținute, comparativ cu proba martor (cultura de celule). La diluții mai mici de 1,4 a produselor condiționate ca ape de gură nu s-au mai observat efecte de modificare a morfologiei fibroblastelor, acestea având o viabilitate de peste 95% după 24 h de cultivare în prezenta respectivelor extracte.

Testarea activității antioxidante a preparatelor farmaceutice de tip ape de gură pe bază de complecși metalici ai clorhexidinei conform invenției, prin metoda chemiluminiscentei, a evidențiat că acestea prezintă valori ale activității antioxidante în domeniul 50-95%, ceea ce le indică drept agenți antioxidanți eficienți.

RO 127722 B1

Revendicări

1

3

1. Preparate farmaceutice de tip apă de gură pe bază de complecși metalici ai clorhexidinei, **caracterizate prin aceea că** sunt constituite din 0,03...0,1% complecși metalici ai clorhexidinei, 0,1...0,5%, polioxietilen-20 sorbitan monooleat, 1...20% ulei de castor polioxil-40-hidrogenat, 20...80% glicerină, 10...50% alcool etilic, 0,05 ...0,10% ulei de mentă, 5...50% apă, procentele fiind în greutate.

5

7

9

2. Preparate farmaceutice de tip apă de gură, conform revendicării 1, **caracterizate prin aceea că** se prezintă sub formă de soluții limpezi, colorate în violet, cu un pH slab acid, densitate relativă mai mare ca a apei, topice de uz extern, prezintă activitate antimicrobiană și antioxidantă, având acțiune dezinfectantă și antimicotică, sunt biocompatibile, au toxicitate redusă sau neglijabilă și nu sunt factori poluanți ai mediului.

11

13

15

17

19

21

3. Procedeu de obținere a preparatelor farmaceutice de tip apă de gură pe bază de complecși metalici ai clorhexidinei, definite în revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că** se amestecă complecșii metalici ai clorhexidinei cu ulei de castor polioxil-40-hidrogenat, respectiv polioxietilen-20 sorbitan monooleat, prin triturare într-o patentulă și se încălzește pe baia de apă, separat se prepară o soluție prin dizolvarea cantităților corespunzătoare de alcool concentrat, glicerină și apă, și se aduce la aceeași temperatură ca prima soluție prin încălzire pe baia de apă și se adaugă treptat și cu agitare continuă peste amestecul obținut anterior, apoi se supun controlului calitativ, în care se determină proprietățile organoleptice, pH-ul și densitatea relativă, conform F.R. X, se condiționează în flacoane de sticlă, pline, bine închise și se depozitează la loc răcoros, ferit de lumină.

(51) Int.Cl.

A61K 9/08 (2006.01).

A61K 33/38 (2006.01).

C07C 279/26 (2006.01)

