



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2010 01216

(22) Data de depozit: 26.11.2010

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

(71) Solicitant:
• UNIVERSITATEA "ȘTEFAN CEL MARE"
DIN SUCEAVA, STR.UNIVERSITĂȚII NR.13,
SUCEAVA, SV, RO

(72) Inventatori:
• HAGIU BOGDAN-ALEXANDRU,
BD.DIMITRIE CANTEMIR NR.3, BL.P4,
SC.B, ET.3, AP.15, IAȘI, IS, RO;
• SANDU ION, STR.SF.PETRU MOVILĂ
NR.3, BL.L11, SC.A, ET.3, AP.3, IAȘI, IS,
RO;
• VASILACHE VIOLETA, BD. GAVRIL
TUDORAȘ NR.22, BL.C4, SC.A, AP.7,
SUCEAVA, SV, RO;

• ȚURA VASILE, STR.VASILE LUPU NR.83,
BL.D1, SC.A, ET.10, AP.37, IAȘI, IS, RO;
• MANGALAGIU IONEL, STR. CRIȘULUI
NR.12, IAȘI, IS, RO;
• MUNGIU OSTIN COSTEL, STR.SĂRĂRIE
NR.6, IAȘI, IS, RO;
• FILOTE CONSTANTIN,
STR.GEORGE ENESCU NR. 12,
BL. BELVEDERE, SC. D, AP. 17, SUCEAVA,
SV, RO;
• SANDU ANDREI-VICTOR,
ALEEA T.NECULAI NR.37, BL.959, SC.C,
ET.2, AP.10, IAȘI, IS, RO

(54) PROCEDEU DE OBTINERE A UNEI NANODISPERSII
ULEIOASE CU CAPACITATE REGENERATIVĂ

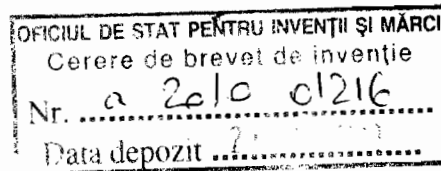
(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unei nanodispersii uleioase cu capacitate regenerativă a țesuturilor. Procedeu conform invenției constă din dispersarea în suportul matriceal, constând din ulei de floarea soarelui pentru uz injectabil în concentrație de 2,5...5,0 ppm, prin agitare cu 300 rot/min, fie a argintului coloidal cu granulație de 5...10 nm, peliculizat cu poli-vinilpirolidonă, fie a unor nanoparticule de argint obținute din azotat de argint prin precipitare cu citrat de sodiu și stabilizate în sistem apos, în prezența poli-

vinilpirolidonei, rezultând o emulsie grasă de apă în ulei, din care se obține nanodispersia uleioasă de argint coloidal, cu o dimensiune a particulelor de maximum 10 nm, prin aplicarea unui vid de 0,85 at la o temperatură de 75...80°C, timp de 20...30 min, nanodispersia fiind ambalată în fiole care se păstrează la temperaturi sub 10°C.

Revendicări: 4





PROCEDEU DE OBTINERE A UNEI NANODISPERSII ULEIOASE CU CAPACITATE REGENERATIVĂ

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unei nanodispersii uleioase cu capacitate regenerativă a țesuturilor, datorită stimulării celulelor stem mezenchimale și ale foliculilor piloși.

Se știe că nanoparticulele de argint în concentrații între 2,5 și 5 ppm stimulează culturile de celule STEM mezenchimale [1]. De asemenea, argintul nanometric inclus în materiale nanofibrilare biocompatibile implantate subcutanat are ca efect geneza unor noi foliculi piloși, ce provin din celulele stem ale celor vechi sau din celulele stem mezenchimale, regenerarea cutanată având loc prin acțiunea noilor celule stem [2-7]. Particulele de argint prezintă și o remarcabilă acțiune antibacteriană [8].

În baza acestor cercetări fundamentale, în tratamentele cicatrizante și regenerative ale tegumentelor acoperite cu păr, s-au utilizat o serie de sisteme pe bază de pansamente, cu nanofibre din diverse materiale polimerice naturale sau artificiale, cu comportare specifică sistemelor microporoase, aero-difuzive care conțin, pe lângă argint, sub diversele forme biologic active (metal, cation sau oxid) și alte substanțe cu efect hemostatic și cicatrizant [9]. De asemenea, sunt utilizate ca suport matriceal pentru nanoparticulele de argint fibrina sau trombina uscată liofilizată în scopul obținerii unor pudre cu efecte hemostatic și regenerativ [10, 11]. Dintre materialele polimerice naturale utilizate în acest scop, fibrina - o proteină fibroasă, obținută din fibrinogen (produs de ficat), care favorizează vindecarea plăgilor este des indicată în hemoragii capilare de suprafață, plăgi atone, arsuri întinse etc. [12]. Dintre adjuvanți sau excipienți, alături de argintul coloidal, în literatura de specialitate figurează utilizarea sulfamidelor, chimioterapicelor și antibioticelor cu administrare topică, lactoza pudră, sulfatul de magneziu, etc., ca atare sau sub formă de sisteme disperse sinergice [13-20].

Aceste sisteme pe bază de materiale polimerice naturale, amestecate cu adjuvanții sau excipienții prezentați mai sus, au o serie de dezavantaje legate de compatibilitatea chimică, uniformitatea micro-structurală și dispunerea componentilor în suportul de fibrină ca sistem matricial. Mai mult, sistemele compozite obținute prin liofilizare, gelifiere sau amestecare în stare solidă, semifluidă sau pastată, au dezavantajele neuniformității distribuției principiilor active, utilizării unor principii biologic active incompatibile chimic, higroscopicității ridicate și altele, reducând astfel efectul sinergic al unor componente.

Sistemul nanodispers cel mai apropiat de invenția prezentă este cea pe bază de argint coloidal obținut prin reducerea cationului de $\text{Ag}^+_{(\text{aq})}$ din soluții apoase de azotat de argint în prezența aminoalcoolilor (dietanolamină sau trietanolamină) [21] și respectiv a gelului semisolid pe bază de argint coloidal (precipitat tot în soluții apoase) în concentrație de 0,001...1% și diverși adjuvanți ce măresc efectul terapeutic în aplicații topice [22]. Aceste sisteme au dezavantajul că se bazează doar pe acțiunea argintului coloidal în aplicații topice, folosit doar pentru tratarea leziunilor tegumentelor și mucoaselor, fiind exclusă administrarea injectabilă pentru pregătirea preoperatorie a țesuturilor prin acțiunea antimicrobiană sau pentru regenerarea profilactică a rupturilor interne, închise ale acestora.

Scopul invenției este de a prepara un sistem dispers uleios cu capacitate antibacteriană și regenerativă pe bază de nanoparticule de argint stabilizate steric și electrostatic, care să permită administrarea injectabilă pentru pregătirea preoperatorie a țesuturilor sau pentru favorizarea refacerii mușchilor după rupturi prin stimularea celulelor stem mezenchimale și pentru tratarea diverselor forme de alopecie prin generarea de noi foliculi piloși.

Problema pe care o rezolvă invenția constă într-un procedeu de obținere a unei nanodispersii biocompatibile de argint în ulei cu acțiune antibacteriană și regenerativă, care să permită administrarea injectabilă pentru pregătirea preoperatorie a țesuturilor sau pentru regenerarea leziunilor musculare și tratarea alopeciilor.

Procedeul de obținere a unei nanodispersii uleioase cu capacitate regenerativă a țesuturilor, care să permită administrarea injectabilă pentru pregătirea preoperatorie a țesuturilor sau pentru regenerarea profilactică a leziunilor interne, prin activarea *celulelor stem mezenchimale*, conform invenției, înlătură dezavantajele de mai sus, prin aceea că, utilizează ca suport matricial uleiul de floarea soarelui pentru uz injectabil, respectiv de uz farmaceutic (ulei rafinat care în prealabil a fost neutralizat și sterilizat) în care se dispersează, în concentrație de 2,5...5,0 ppm., prin agitare cu 300 rot/min., fie argint coloidal cu granulația 5...10 nm, care în prealabil a fost peliculizat superficial cu polivinilpirolidonă, fie nanoparticule de argint obținute din azotat de argint prin precipitare cu citrat de sodiu și stabilizat în sistem apos, în prezența polivinilpirolidonei, când rezultă o emulsie grasă de apă în ulei. Din aceasta se obține nanodispersia uleioasă de argint coloidal, cu dimensiunea particulelor de maxim 10 nm, prin vacuumare la 0,85 atm și temperatura de 75...80°C, timp de 20...30 min.

Prin aplicare invenția aduce o serie de avantaje, cum ar fi:

- administrarea pe cale injectabilă, care permite o remanență în țesuturi timp îndelungat, în comparație cu nanodispersiile apoase;
- o înaltă biocompatibilitate cu țesuturile lezate;

- absorbția predominant locală permite utilizarea în scop profilactic sau terapeutic a unei cantități mici de nanodispersie, în comparație cu tratamentele pe cale orală;
- permite o regenerare rapidă a țesuturilor, lipsită de reacții adverse, întrucât prin stimularea celulelor stem mezenchimale se poate reface orice țesut;
- permite formarea precoce a țesutului de granulație, efect ce îl face util și în ingineria tisulară pentru pregătirea țesuturilor pentru grefare;
- în cazul tegumentelor acoperite cu păr, administrarea subcutanată realizează un efect terapeutic scontat pentru toate formele de alopecie;
- are un efect sinergic cu alți componenți regenerativi cu mod de administrare topică;
- fiabilitate ridicată și eliberare graduală a argintului la o doză optimă procesului regenerativ;
- un cost scăzut de fabricare.

În continuare se prezintă două exemple de realizare a invenției.

Exemplul 1

Pentru obținerea unui kilogram de nanodispersie uleioasă pe bază de argint coloidal, se procedează în felul următor: se iau 1000g ulei de floarea soarelui rafinat injectabil, care în prealabil a fost neutralizat și sterilizat, în care se dispersează intim prin agitare mecanică cu 600 rot/min. 5 mg pulbere de nanoparticule de argint, cu dimensiunile cuprinse între 5...10 nm și peliculizate superficial cu polivinilpirolidonă, care permite stabilizarea microsistemului uleios nanodispers.

După stabilizarea prin agitare mecanică, nanodispersia uleioasă se infiolează, în fiole de sticlă de 1,0, 2,0 și 3,0 grame și se păstrează la temperaturi sub 10°C în cutii originale, ferite de lumină. Se agită înainte de utilizarea ca produs injectabil.

Argintul coloidal peliculizat cu polivinilpirolidonă, distribuit omogen în nanodispersie, permite o eliberare constantă în timp a principiului bioactiv, care stimulează pe timp îndelungat celulele stem, argintul și ionii de argint asigurând și o acțiune antimicrobiană, antiinflamatoare și antialergică, care reduce riscul de infectare a plăgilor, îmbunătățind toleranța firelor de sutură.

Exemplul 2

Pentru obținerea unui kilogram de nanodispersie uleioasă pe bază de argint coloidal, se procedează în felul următor: în 1000 cm³ ulei de floarea soarelui injectabil (ulei rafinat care în prealabil a fost neutralizat și sterilizat), se dispersează intim prin agitare mecanică cu 300 rot/min 200 cm³ nanodispersie apoasă pe bază de argint, care conține cca. 5 mg argint coloidal, obținut prin precipitarea cu o soluție alcoolică de citrat de sodiu a argintului din soluție apoasă de azotat de argint,

aditivată cu 1 g de polivinilpirolidonă ca agent de suprafață. Pentru aceasta, în 200 cm³ apă bidistilată se dizolvă 10 mg azotat de argint. În această soluție, după încălzirea ei la 60...65°C, se adaugă sub agitare puternică 2 cm³ soluție alcoolică de citrat de sodiu 1% și 1g polivinilpirolidonă, după care sistemul microeterogen se agită cu 600 rot/min., timp de 10 min. Nanodispersia rezultată se redispersează intim în 1000 cm³ ulei de floarea soarelui injectabil prin agitare mecanică cu 300 rot/min., timp de 15...20 min., după care se separă nanodispersia uleioasă, sub forma unei emulsii, de sistemul apos, cu ajutorul unei pâlnii de separare. Emulsia astfel obținută se vacumează, sub agitare ușoară, la 0,85 atm și temperatura de 75....80°C, timp de 20...30 min.

Nanodispersia uleioasă se infiolează, în fiole de sticlă de 1,0, 2,0 și 3,0 grame și se păstrează la temperaturi sub 10°C în cutii originale, ferite de lumină. Se agită înainte de utilizarea ca produs injectabil.

Efectele componentelor sunt asemănătoare cu cele de la exemplul 1.

Revendicări

1. Procedeu de obținere a unei nanodispersii uleioase cu capacitate regenerativă a țesuturilor, care să permită administrarea injectabilă pentru pregătirea preoperatorie a țesuturilor sau pentru regenerarea profilactică a leziunilor interne, prin activarea *celulelor stem mezenchimale*, **caracterizat prin aceea că**, utilizează ca suport matricial uleiul de floarea soarelui pentru uz injectabil, în care se dispersează, în concentrație de 2,5...5,0 ppm., prin agitare cu 300 rot/min., fie argint coloidal cu granulația 5...10 nm, care în prealabil a fost peliculizat superficial cu polivinilpirolidonă, fie nanoparticule de argint obținute din azotat de argint prin precipitare cu citrat de sodiu și stabilizat în sistem apos cu polivinilpirolidonă;

2. Procedeu, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, în cazul al doilea, nanodispersia apoasă de argint coloidal se obține prin precipitarea stoechiometrică la temperatura 60...65°C cu o soluție alcoolică de citrat de sodiu 1% a argintului din soluție apoasă de azotat de argint 0,005%, aditivată cu polivinilpirolidonă 0,1%, ca agent de suprafață, în raport volumetric de 1:100 și sub agitare puternică cu 600 rot/min., timp de 10 min.;

3. Procedeu, conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că**, în cazul al doilea, nanodispersia uleioasă de argint coloidal stabilizat se obține prin redispersarea intimă în ulei de floarea soarelui injectabil prin agitare mecanică cu 300 rot/min., timp de 15...20 min. a soluției apoase de argint coloidal în raport volumetric de 5:1, după care se separă nanodispersia uleioasă, sub forma unei emulsii, de sistemul apos, cu ajutorul unei pâlnii de separare, iar emulsia obținută se vacumează, sub agitare ușoară, la 0,85 atm și temperatura de 75...80°C, timp de 20...30 min.

4. Procedeu, conform revendicărilor 1, 2 și 3, **caracterizat prin aceea că**, nanodispersiile uleioase se infiolează în fiole de sticlă de 1,0, 2,0 și 3,0 grame care se păstrează la temperaturi sub 10°C în cutii originale, ferite de lumină, iar înainte de utilizare, ca produs injectabil, se agită.