



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2011 00525

(22) Data de depozit: 01.06.2011

(41) Data publicării cererii:
28.12.2012 BOPI nr. 12/2012

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
TEHNOLOGII IZOTOPICE ȘI
MOLECULARE, STR.DONATH NR.65-103,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(72) Inventatori:
• DREVE SIMINA VIRGINIA, STR. DONATH
NR. 65-103, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;

• OLENIC LILIANA, STR. DONATH
NR. 65-103, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• BRATU IOAN, STR. DONATH NR. 65-103,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• KACSO IRINA, STR. DONATH NR. 65-103,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• CRIȘAN MARIA, STR. VICTOR BABEȘ
NR. 8, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A ANSAMBLURILOR
FUNCȚIONALE MICRO/NANO-STRUCTURATE DE
CHITOSAN ȘI SUBSTANȚE ACTIVE ANTIINFLAMATOARE
PRIN AUTOASAMBLARE SIMULTANĂ**

(57) Rezumat:

Prezenta invenție se referă la un procedeu de obținere a ansamblurilor funcționale lichide micro/nanostructurate de chitosan și substanțe active antiinflamatoare, prin asamblare simultană, prin încorporarea de substanțe active cu proprietăți antiinflamatoare, prin complexare și/sau adsorbție fizică, rezultând produse noi, cu cedare controlată de substanță activă, cuprinzând prepararea, prin ultra-sonare la 35 Hz, a hidrogelurilor de chitosan aditivat cu 2% v/v Tween-80 și 0,2%

v/v acid oleic, la temperatura camerei, în care s-au adăugat în prealabil soluții de substanțe active antiinflamatoare, care, prin autoasamblare simultană, permit formarea de materiale solide de tip film și de tip spongios.

Revendicări: 2

Figuri: 2



PROCEDEU DE OBTINERE A ANSAMBLELOR FUNCTIONALE MICRO/NANO-STRUCTURATE DE CHITOSAN SI SUBSTANTE ACTIVE ANTIINFLAMATOARE PRIN AUTOASAMBLARE SIMULTANA

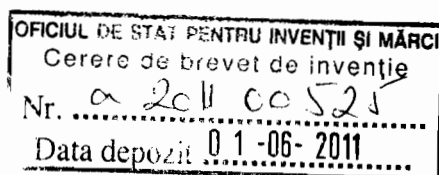
Inventia se refera la un procedeu de obtinere a unor ansamble functionale micronice si submicronice de chitosan cu substante active antiinflamatoare, in scopul efectuarii de studii teoretice si practice cu scop stiintific si a utilizarii lor in medicina si farmacie. Ansamblele de chitosan cu substante active antiinflamatoare prezinta structuri supramoleculare formate prin incapsulare si se folosesc la cedarea controlata de principii bioactive [1,2].

In societatea contemporana se pune tot mai mult accentul pe cresterea calitatii vietii. In acest sens exista preocupari majore pentru imbunatatirea calitatii medicamentelor urmarindu-se ca medicamentele produse sa fie cit mai eficiente, sa aiba cit mai putine efecte secundare si sa fie cit mai complet caracterizate. Actiunea medicamentelor si proprietatile fizico-chimice depind esential de structura moleculara si cristalina a acestora. Cercetarea fundamentala este axata pe obtinerea si caracterizarea fizico-chimica si structurala a ansamblelor supramoleculare de tip oaspete gazda. In literatura stiintifica se releva faptul ca au fost investigate substante bioactive de tip antiinflamatoare non steroidice, antidepresive, hepatoprotectoare, etc., numarul de lucrari stiintifice publicate fiind in continua crestere [3, 4, 5].

Chitosanul este un biopolimer cu lant de polizaharida, derivat din chitina deacetilata a crustaceelor cu proprietati imunoadjuvante, hemostatice, epitelizante, antiseptice, etc. Utilizarea biomaterialelor derivate de chitosan ca baza pentru eliberarea controlata de substante bioactive este unul dintre subiectele de mare noutate in cercetarea in domeniu, mai ales datorita faptului ca penetrarea substantelor active la nivel membranal este limitata de criteriul de dimensionalitate. Celulele umane sunt delimitate de membrane celulare, care protejeaza mediul intra-membranal, dar si permit penetrarea sau eliminarea de substante prin porii membranei, care au dimensiuni medii de 70 nm, in timp ce dimensiunea medie a celulelor este de cca.10 μ m. Preparatele de tip hidrogel de chitosan microstructurat pot fi administrate si intravenos, intrucat capilarele au dimensiuni de maxim 4 μ m [6].

Prin realizarea de preparate micro-sau nanostructurate, cu dimensiuni mai mici sau egale cu 100 nm, avand matricea purtatoare a substantei active antiinflamatoare chitosanul, acesta asigura eliberarea si penetrarea treptata a substantei active prin porii membranelor celulare [7]. Particulele de aceste dimensiuni au proprietati specifice, coerente si diferite de ale materialului similar ne-nanostructurat si dau multifunctionalitatea materialelor nanostructurate.

La nivel international exista preocupari continue pentru identificarea de noi compusi biocompatibili cu activitate tintita, si de noi terapii non-invazive, iar din acest punct de vedere produsele pe baza de chitosan castiga teren constant.



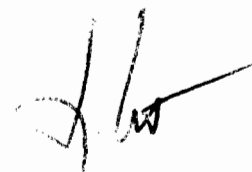
In tara noastra produsele farmaceutice pe baza de chitosan au patruns foarte timid, iar cercetarile in domeniu sunt inca in faza de debut. In prezent exista pe piata medicamentelor o serie de produse de uz curent, cum ar fi: Brexin, Cicladol, Nitropen, etc, care utilizeaza ca vehicule moleculare in transportul tintit al diferitelor substante bioactive, matrici din categoria polizaharidelor de tipul ciclodextrinelor.

In scopul realizarii de ansamble micronice si submicronice de chitosan cu substante active antiinflamatoare au fost folosite pe plan international doua procedee: a) copolimerizarea sau autoasocierea simultana a chitosanului cu principiul activ de interes; b) prepararea nano- sau micro-capsulelor de chitosan urmata de adsorbția sau legarea chimica prin tehnici specifice a substantelor bioactive medicamentoase de livrat. Exista cateva lucrari de baza publicate recent in acest domeniu [8, 9]. Trebuie specificat ca in literatura nu s-a semnalat inca existenta unor sisteme ideale pentru eliberare controlata si tintita de medicamente.

Dezavantajul sistemelor cu eliberare controlata existente (medicamente) consta in faptul ca pentru a fi un transportor microstructurat sau submicrostructurat, chitosanul este eficient numai in forma protonata si solubila, facilitand astfel transportul paracelular al unor substante active hidrofile. Aceasta proprietate implica faptul ca chitosanul este eficient in adsorbția si transportul substantelor active antiinflamatoare intr-o portiune limitata a tractului digestiv, in care valorile de pH sunt mai mici sau egale cu valoarea de 6,5 a preparatului [10, 11]

Avantajul procedului propus consta in autoasamblarea simultana prin utilizarea metodei de ultrasonare rezultand micro si submicrostructuri ale chitosanului cu substante active antiinflamatoare intr-o singura etapa. Materialul nanostructurat obtinut este mai versatil, se poate utiliza ca film subtire, ca material spongios si ca microparticule obtinute prin atomizare. Ca film subtire, produsul se foloseste in aplicatii topice avand rol de eliberare a medicamentului antiinflamator cat si de reconstructie a pielii datorita chitosanului care are proprietatea de a fi atat biodegradabil, biocompatibil si citoprotector. Ca si material spongios se poate folosi fie ca atare fie presat si actioneaza ca hemostatic in procesele hemoragice dar si la eliberarea de medicament antiinflamator pentru rani deschise. Microparticulele pot fi formulate in tablete prin amestecare cu excipienti, produsul avand mare potential in procesele antiinflamatorii ale tractului digestiv, cand chitosanul actioneaza ca o bariera de protectie pe mucoasa tractului digestiv si este in acelasi timp un protector fata de actiunea agresiva a medicamentelor inflamatoare. Procedeu propus prin faptul ca permite realizarea intr-o singura etapa a ansamblelor micronice si submicronice de chitosan cu substante active antiinflamatoare scade semnificativ pretul de productie.

Nano si micro particulele de chitosan conform inventiei prezinta si **alte avantaje**: tehnologie de realizare este simpla; consumul de reactivi, materiale si timp este mic; creste gradul de solubilitate si biodisponibilitate, imbunatateste stabilitatea moleculei bioactive, elimina gustul si/sau mirosul neplacut, inlatura efectele agresive a medicamentelor antiinflamatoare asupra intregului tract digestiv.

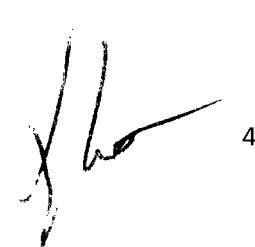


Procedeul propus constituie solutii noi aduse procesului de autoasamblare nano si micro particulelor de chitosan cu substante active antiinflamatorii. Materialele de tip compozit pe baza de polizaharide reprezinta o noua categorie de materiale biocompatibile si biodegradabile, care deschid multe si variate posibilitati de explorare si exploatare a proprietatilor lor. Prepararea nano- sau microparticulelor de chitosan, „incarcarea” acestora cu substante bioactive are loc prin complexare si/sau prin adsorbție fizica.

Se da in continuare un exemplu de realizare a inventiei. S-au preparat solutii de acid acetil-salicilic (ASA), diclofenac – sarea sodica (DCF-Na) si hidrocortizon acetat (HcAc) prin dizolvare in conditii normale in apa cu alcool etilic in proportie 1:1, si s-au inglobat prin agitare in matricea de hidrogel. Concentratia finala a pricipiilor active antiinflamatoare in solutie este de 0,05% . Procesul de micro- sau nano-structurare este favorizat de adaugarea unor aditivi specifici, in cazul de fata au fost adaugati 2%v/v Tween-80 si 0,2% v/v acid oleic, sub continua agitare, timp de cca. 6 ore, la temperatura de 30⁰C. Micronizarea particulelor s-a facut prin ultrasonare la 35 Hz in aparatul cu ultrasunete Elmasonic E 60 H. Intr-o prima etapa s-au realizat hidrogeluri continand microparticule de chitosan cu acid acetil-salicilic (notat ASA), diclofenac – sarea sodica si (notat DCF - Na), si hidrocortizon acetat (notat HcAc), prin dizolvarea CTS in solutie slab acida. In final, hidrogelul “mama” (matrice) este omogen, de culoare galben pai. Materialul nanostructurat se obtine ca film subtire (prin depunere si uscare controlata la 30⁰C timp de 24h in vase Petri), ca material spongios (in aparatul de liofilizare CHRIST ALPHA 1-4 LD, la o temperatura de -58⁰C si presiune de 0,009 atm) sau ca microparticule obtinute prin atomizare (in aparate de atomizare). Materialele solide au consistenta, aspect si proprietati diferite, in functie de compozitie.

Ansamblele micronice si submicronice de chitosan cu substante active antiinflamatoare astfel obtinute au fost caracterizate morfologic prin microscopie optica (microscopul IR JASCO IRT-3000 – accesoriu al spectrometrului FTIR 6100) si prin FTIR. Ansamblele pe baza de chitosan si substante antiinflamatorii obținute prin autoasamblare simultana sunt prezentate in Fig.1, iar materialele obtinute cu aceste ansambluri sunt prezentate in Fig 2. Intrucat latura fiecarei imagini inregistrate si redată in figura 1 este de 200 μm, se poate aprecia cu usurinta si se demonstreaza ca vezicule bine delimitate de ansamble sunt formate, avand dimensiuni între 0,5 μm si 30 μm.

Procedeul de obtinere a nanoansamblurilor pe baza de chitosan si substante antiinflamatorii contribuie esential la implementarea de noi metode de prevenție și intervenționale neinvaziv, prin formularea de materiale noi (medicamente) cu eliberare controlata prin originalitatea materialului care se propune a fi elaborat, si prin aplicabilitatea imediata, cu efecte deosebite in imbunatatirea securitatii si calitatii vietii.



REVEDICARI

1. Procedeu de obtinere a unor ansamble functionale de dimensiuni micronice si submicronice de chitosan caracterizate prin aceea ca au incapsulate substante active cu proprietati antiinflamatoare prin complexare si/sau prin adsorbție fizica, ce pot conduce la formularea unor materiale noi (medicamente) cu cedare controlata de substanta activa .
2. Ansamble functionale obtinute prin revendicarea 1, caracterizate prin aceea ca se prezinta in starea de agregare lichida, contin agregate din chitosan cu substante active antiinflamatoare care s-au preparat prin ultrasonare la 35 Hz a hidrogelurilor de chitosan aditivate cu 2%v/v Tween-80 si 0,2% v/v acid oleic, la temperatura camerei, in care s-au adaugat in prealabil solutii de substante active antiinflamatoare (acid acetil-salicilic, diclofenac-sarea de sodiu, hidrocortizon acetat) care prin autoasamblare simultana permit formarea de materiale solide de tip film si de tip spongios.



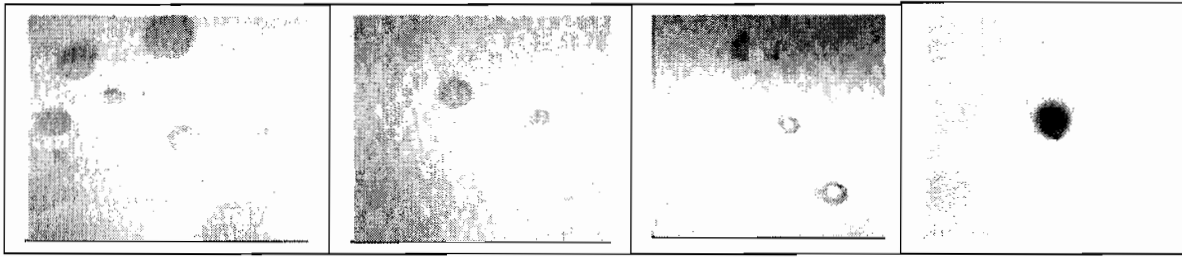


Fig. 1. Ansamble micronice si submicronice de chitosan cu substante active antiinflamatoare acid acetil-salicilic (ASA), diclofenac-sarea sodica (DCF-Na) si hidrocortizon acetat (HcAc).

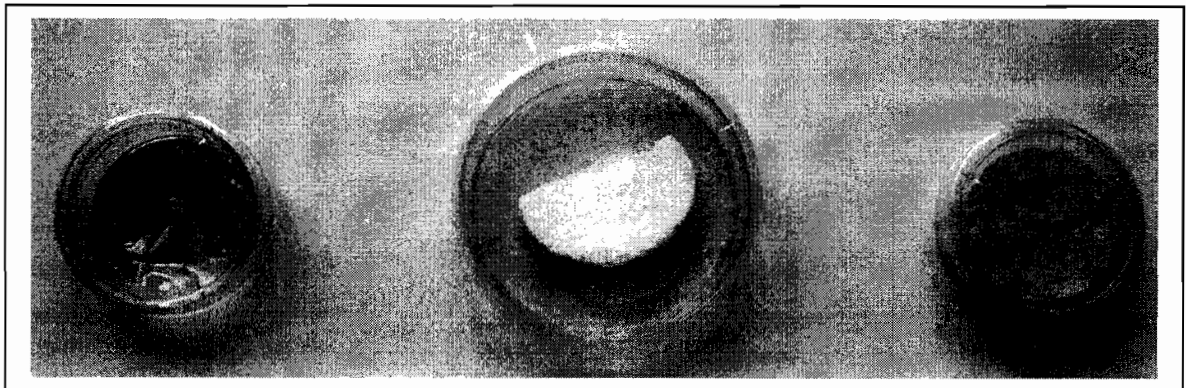


Fig. 2. Materiale sub forma de filme obtinute prin uscare controlata a hidrogelurilor si materiale spongioase obtinute prin liofilizare.