



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2011 00983**

(22) Data de depozit: **30.09.2011**

(41) Data publicării cererii:
30.07.2013 BOPI nr. **7/2013**

(71) Solicitant:
• **ANDRIȚOIU CĂLIN VASILE, COMPLEX
STUDENTESC TUDOR VLADIMIRESCU
T22, SC. B, ET. 2, AP. 52, IAȘI, IS, RO;**
• **PRISĂCARU ANCA IRINA,
STR. ATERIZAJ NR.1, ET. 2, AP. 9, IAȘI, IS,
RO**

(72) Inventatori:
• **ANDRIȚOIU CĂLIN VASILE, COMPLEX
STUDENTESC TUDOR VLADIMIRESCU
T22, SC. B, ET. 2, AP. 52, IAȘI, IS, RO;**
• **PRISĂCARU ANCA IRINA,
STR. ATERIZAJ NR.1, ET. 2, AP. 9, IAȘI, IS,
RO**

(54) **UNGUENTE CICATRIZANTE PE BAZĂ DE POLIMERI
NATURALI**

(57) Rezumat:

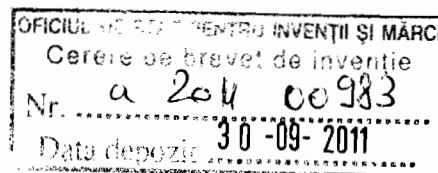
Prezenta invenție se referă la o compoziție de unguente pe bază de polimeri naturali, cu efecte cicatrizante asupra diferitelor tipuri de leziuni cutanate, constituită dintr-un polimer natural, ales dintre chitosan, albuș de

ou liofilizat sau colagen, înglobat într-o bază formată din lanolină și vaselină, în părți egale.

Revendicări: 1

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).





UNGUENTE CICATRIZANTE PE BAZĂ DE POLIMERI NATURALI

Invenția se referă la un tip de preparate cicatrizante realizate pe bază de polimeri naturali.

Se știe că realizarea de produse pe bază de polimeri naturali implică o muncă laborioasă, costisitor de realizat. Tehnologia de obținere a produselor pe bază de polimeri naturali necesită aparatură de laborator specifică, precum și condiții ce respectă regulile igienico-sanitare impuse de Inspekția Sanitar-Veterinară.

Se știe, de asemenea, faptul că pe piața dermato-cosmetică nu există unguente cicatrizante pe bază de polimeri naturali.

Problemele pe care le rezolvă invenția sunt:

- utilizarea unei baze de unguent speciale (având un conținut ridicat în lanolină) ce asigură ea însăși un răspuns terapeutic crescut;
- obținerea unor produse exclusiv naturale, cu efect cicatrizant superior prin asigurarea unui sinergism de acțiune conferit de amestecul a 3 polimeri naturali în concentrații optime;
- utilizarea unei tehnologii de preparare nepoluante și care nu produce modificări privind structura fizico-chimică a principiilor active;
- utilizarea unei tehnologii de preparare simple și ușor de adaptat producției la nivel industrial;
- ambalarea în cutii prevăzute cu peliculă de ceară, evitând astfel contactul unguentului cu materiale toxice precum folia de aluminiu.

Unguentele pe bază de polimeri naturali propuse spre brevetare:

- au fost elaborate în cadrul laboratoarelor Universității „Gheorghe Asachi” Iași, Facultatea de Inginerie Chimică și Protecția Mediului, în cadrul unei burse postdoctorale prin proiectul PERFORM-ERA;
- au fost testate preclinic pe animale de experiență, în cadrul experimentelor fundamentale la nivel cutanat întreprinse în Biobaza Experimentală a Universității de Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa” Iași.

Pentru inducerea leziunilor cutanate la animalele de experiență s-au folosit trei modele experimentale:

Colin Anulea
Spini

- model experimental de incizie liniară, realizat cu o lamă chirurgicală sterilă, având dimensiunea de 1 cm, leziunea de incizie fiind lăsată fără fir de sutură (model experimental după Süntar et al, 2010, cu modificarea dimensiunii de la 5 cm la 1 cm);
- model experimental de excizie circulară, realizată cu un pumn de biopsie cu diametrul de 8 mm (model experimental după Süntar et al, 2010, cu modificarea diametrului exciziei de la 5 mm la 8 mm);
- model experimental de arsură termică, realizat cu un aparat de sudură cu matriță de cupru, cu dimensiunile de 9x8 mm, adus la temperatura de 100°C și care a fost menținut timp de 9 secunde pe piele (model experimental după Mesquita et al, 2010, cu modificarea dimensiunii matriței de la 10x10 mm la 9x8 mm).

Fiecare tip de model animal cu leziune cutanată indusă experimental, prin incizie, excizie și arsură termică a fost tratat timp de 21 de zile cu unguente polimerice.

Produsele polimerice utilizate, trei la număr, sunt: chitosanul, albușul de ou liofilizat și colagenul.

1. Unguent cicatrizant cu chitosan

Mod de prezentare: cutie farmaceutică cu peliculă de ceară.

Compoziție: lanolină (*Adeps lanae anhidricus*), vaselină (*Vaselinum album*), chitosan.

Mod de preparare

În baza de unguent obținută prin amestecarea în părți egale de lanolină și vaselină farmaceutică (100 grame de amestec) se încorporează liofilizatul mojarat corespunzător a 0,24 grame de chitosan, solubilizat în prealabil în 30 ml „oțet de mere și miere”. Liofilizatul este adăugat treptat în baza de unguent, pe baie de apă, la temperatura de 40°C.

Principii active: grupări aminice, aminozaharuri.

Acțiune farmacologică: efect cicatrizant pentru leziuni de tip incizie, leziune cu pierdere tegumentară și arsuri termice.

Indicații terapeutice: leziuni cutanate, tăieturi, arsuri termice și plăgi cu pierderea soluției de continuitate.

Mod de administrare: se dezinfectează plaga, apoi se aplică un strat uniform de unguent; se lasă nepansat dacă există posibilitatea de a menține leziunea ferită de contact.

Păstrare: la rece (0-4°C), ferit de umiditate și diferențe de temperatură, recipient închis după folosire.

Garanție: 12 luni de la data fabricației (în condițiile păstrării adecvate).

Contraindicații: persoanele alergice la baza de unguent sau chitosan.

Avertisment: a nu se lăsa la îndemâna copiilor.

2. Unguent cicatrizant cu albuș de ou liofilizat

Mod de prezentare: cutie farmaceutică cu peliculă de ceară.

Compoziție: lanolină (*Adeps lanae anhidricus*), vaselină (*Vaselineum album*), albuș de ou liofilizat.

Mod de preparare

În baza de unguent obținută prin amestecarea în părți egale de lanolină și vaselină farmaceutică (100 grame de amestec) se încorporează 3 grame de albuș de ou liofilizat și mojarat, adăugat treptat în baza de unguent, pe baie de apă, la temperatura de 40°C.

Pricipii active: zeaxantină, luteină, riboflavină, seleniu, colină, proteine, aminoacizi esențiali, aminoacizi neesențiali.

Acțiune farmacologică: efect cicatrizant pentru leziuni de tip incizie, leziuni cu pierdere tegumentară și arsuri termice, formând un film protector aderent leziunii.

Indicații terapeutice: leziuni cutanate, tăieturi, arsuri termice și plăgi cu pierderea soluției de continuitate.

Mod de administrare: se dezinfectează plaga, apoi se aplică un strat uniform de unguent; se lasă nepansat dacă există posibilitatea de a menține leziunea ferită de contact.

Păstrare: la rece (0-4°C), ferit de umiditate și diferențe de temperatură, recipient închis după folosire.

Garanție: 12 luni de la data fabricației (în condițiile păstrării adecvate).

Contraindicații: persoanele alergice la baza de unguent sau principiile active din albușul de ou liofilizat.

Avertisment: a nu se lăsa la îndemâna copiilor.

3. Unguent cicatrizant cu colagen

Mod de prezentare: cutie farmaceutică cu peliculă de ceară.

Compoziție: lanolină (*Adeps lanae anhidricus*), vaselină (*Vaselinum album*), colagen.

Mod de preparare

În baza de unguent obținută prin amestecarea în părți egale de lanolină și vaselină farmaceutică (100 grame de amestec) se încorporează 2 grame de colagen, care este adăugat treptat în baza de unguent, pe baie de apă, la temperatura de 40°C.

Pricipii active: prolina, hidroxiprolina (10-15% din masa acizilor aminați) și hidroxilizina.

Acțiune farmacologică: efect cicatrizant pentru leziuni de tip incizie, leziuni cu pierdere tegumentară și arsuri termice; efect hemostatic asupra țesuturilor vii: răni, plăgi sau diverse stadii de intervenții chirurgicale pe diverse țesuturi și organe; proliferare celulară (proprietatea de a genera un țesut nou).

Indicații terapeutice: leziuni cutanate, tăieturi, arsuri termice și plăgi cu pierderea soluției de continuitate.

Mod de administrare: se dezinfectează plaga, apoi se aplică un strat uniform de unguent; se lasă nepansat dacă există posibilitatea de a menține leziunea ferită de contact.

Păstrare: la rece (0-4°C), ferit de umiditate și diferențe de temperatură, recipient închis după folosire.

Garanție: 12 luni de la data fabricației (în condițiile păstrării adecvate).

Contraindicații: persoanele alergice la baza de unguent sau colagen.

Avertisment: a nu se lăsa la îndemâna copiilor.

4. Unguent cicatrizant cu polimeri naturali (chitosan, albuș de ou liofilizat, colagen)

Mod de prezentare: cutie farmaceutică cu peliculă de ceară.

Compoziție: lanolină (*Adeps lanae anhidricus*), vaselină (*Vaselinum album*), chitosan, albuș de ou liofilizat, colagen.

Mod de preparare

Este obținut prin amestecul în părți egale a celor trei unguente, anterior descrise, pe baie de apă, la temperatura de 40°C.

Principii active: grupări aminice, aminozaharuri (chitosan); zeaxantină, luteină, riboflavină, seleniu, colină, proteine (aminoacizi esențiali, aminoacizi neesențiali (albuș de ou); prolina, hidroxiprolina (10-15% din masa acizilor aminați) și hidroxilizina (colagen).

Acțiune farmacologică: efect cicatrizant pentru leziuni de tip incizie, leziuni cu pierdere tegumentară și arsuri termice, cu formarea unui film protector; efect hemostatic asupra țesuturilor vii (răni, plăgi sau diverse stadii de intervenții chirurgicale pe diverse țesuturi și organe); efect de inducere a proliferării celulare (proprietatea de a genera un țesut nou).

Indicații terapeutice: leziuni cutanate, tăieturi, arsuri termice și plăgi cu pierderea soluției de continuitate.

Mod de administrare: se dezinfectează plaga, apoi se aplică un strat uniform de unguent; se lasă nepansat dacă există posibilitatea de a menține leziunea ferită de contact.

Păstrare: la rece (0-4°C), ferit de umiditate și diferențe de temperatură, recipient închis după folosire.

Garanție: 12 luni de la data fabricației (în condițiile păstrării adecvate).

Contraindicații: persoanele alergice la baza de unguent sau chitosan, albuș de ou sau colagen.

Avertisment: a nu se lăsa la îndemâna copiilor.

Avantajele folosirii unguentelor pe bază de polimeri naturali în tratarea leziunilor cutanate sunt următoarele:

- conțin compuși biocompatibili cu organismul uman, fără a avea efecte secundare precum compușii chimici de sinteză (Zikakis, 1989);
- conține compuși cu rol în regenerarea țesutului afectat (Abarrategi et al, 2010; Ochi et al., 2002);
- conține substanțe cu activitate hemostatică (Wang et al, 2006);
- conține compuși cu efect bactericid și antimicrobian (Pasquantonio et al, 2008);
- timpul de vindecare este mai scurt decât studiile prezentate în literatura de specialitate (de Mesquita et al, 2010; Aoyagi et al, 2007; Upadhyay et al, 2009; Hafezi, et al, 2010; Csupor et al, 2010; Akkol et al, 2011), cu rezultate favorabile în ceea ce privește cicatrizarea.

Chitosan

Chitosanul face parte din clasa celor mai răspândiți polimeri naturali pe bază de monomeri glucozaminici cunoscuți pentru activitatea antimicrobiană. Aceștia sunt utilizați ca aditivi în cosmetică, iar în medicină pentru prepararea de microcapsule implantabile și membrane pentru eliberare controlată de medicamente. Este obținut prin deacetilarea chitinei în prezență de 40-50% soluție de NaOH, la 120-150°C. Acesta este hidrofil, biocompatibil și biodegradabil (Zikakis, 1989). Are un rol important în regenerarea țesutului afectat (Abarrategi et al, 2010), deținând activitate hemostatică (Wang et al, 2006), bactericidă, antimicrobiană (Pasquantonio et al, 2008). Totodată, este folosit ca suport pentru eliberarea controlată a principiului activ (Kumar et al., 2004). În organismul uman, chitosanul este degradat de o enzimă numită lizozima, conducând la produși de degradare care sunt capabili să stimuleze macrofagele, să influențeze pozitiv sedimentarea colagenului și, în consecință, să accelereze procesul de tratarea a rănilor (Thierry et al., 2005; Ratajska and Boryniec, 1998; Zang și Neau, 2001).

Albuș de ou liofilizat

Face parte, alături de colagen și gelatină, din grupul de polimeri proteici utilizați în domeniul biomedical.

Oul conține numeroase substanțe biologice active: zeaxantină, luteină, riboflavină, seleniu, colină, proteine, etc. Albușul de ou conține 4701 mg de aminoacizi esențiali (valină – 735 mg, izoleucină – 628 mg, leucină – 917 mg, lizină – 683 mg, metionină – 413 mg, treonină – 483 mg,

triptofan – 169 mg, fenilalanină – 673 mg) și 6302 mg aminoacizi neesențiali (alanină – 694 mg, arginină – 621 mg, acid asparagic – 1008 mg, histidină – 250 mg, glicină – 385 mg, acid glutamic – 1510 mg, prolină – 400 mg, serină – 760 mg, tirozină – 397 mg, cisteină – 277 mg) (Banu et al., 2011).

Se știe că albușul de ou administrat pe leziuni cutanate formează un film protector, contribuind la procesul de vindecare al țesutului afectat.

Colagen

Materialele colagenice sunt biomateriale care, datorită biocompatibilității, au multiple aplicații în ingineria tisulară. Colagenul este unul din materialele arhitecturale de bază ale materiei vii. Prezintă randament crescut de obținere, având ca sursă țesuturile animale (piele, tendon, os) (Fleischmayer et al., 1990).

Fibra de colagen reprezintă o entitate materială de tip fibros, cu o configurație tridimensională specifică (structură cuaternară) și care suferă procese de umflare în apă sau soluții apoase fără a se dizolva în acestea (Colt & Bucevschi, 1999).

Răspunsul mediilor biologice (respectiv țesuturilor vii: răni, plăgi, sau diverse stadii de intervenții chirurgicale pe diverse țesuturi și organe) la contactul acestora cu materialele colagenice se concretizează prin diverse fenomene specifice, reprezentate de hemostază, răspuns imunologic și proliferare celulară (Colt & Bucevschi, 1999). Proprietatea hemostatică, una din cele mai importante proprietăți biologice ale materialelor colagenice, determină coagularea sângelui în contact cu acesta (plachetele aderă în primă fază la suprafața gelului colagenic, apoi acestea se desorb și se implică într-un proces de agregare pentru ca în a treia fază să se activeze reacția trombinei asupra fibrinogenului, care se finalizează cu apariția trombusului plachetar) (Antiszko et al., 1995). De asemenea, materialele colagenice au proprietatea de a genera un țesut nou (Ochi et al., 2002).

Colagenul este degradat în mod natural de metaloproteinaze, în mod specific de colagenaze și serin-proteaze, permițând ca degradarea lui să fie sub controlul local al celulelor din țesutul cultivat (Rothamel et al., 2005). Reticulările suplimentare ale colagenului prin tratamente fizice (uscarea prin înghețare, încălzire) sau prin amestecare cu alți polimeri (chitosan, spre exemplu) (Park et al., 2004), determină creșterea rezistenței mecanice și a rezistenței la acțiunea enzimelor, având ca rezultate creșterea timpului de biodegradare, limitarea caracteristicilor de umflare și scaderea solubilității (Taguchi & Tanaka, 2002).

Matricile de colagen stimulează producerea de colagen de neoformație de către celule (în cadrul testelor pe culturi de celule), proprietate neîntâlnită la biomaterialele sintetice. Acest fapt se datorează domeniilor sale de legare a integrinelor, care favorizează atașarea celulelor din cultură, fenomen necesar pentru creșterea, diferențierea și activitatea metabolică a celulelor (Jarman-Smith et al., 2004).

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- unguentele cicatrizante la care se referă invenția se obțin din produse naturale (polimeri naturali), nepoluate, ce conțin compuși biocompatibili cu organismul uman și care nu prezintă efecte secundare precum compușii de sinteză;
- tehnologia de preparare este simplă și ușor de adaptat condițiilor de producție industrială;
- tehnologia de preparare este nepoluantă, în urma ei nerezultând reziduuri toxice;
- tehnologia de preparare se realizează în condiții ce asigură protejarea compușilor activi, evitând degradarea enzimatică;
- nu conține parabeni sau alți conservanți sintetici;
- tratamentul este ușor de urmat în ambulatoriu, după ce pacientul a înțeles exact care este modalitatea de aplicare;
- unguentele sunt ambalate în cutii prevăzute cu peliculă de ceară, evitând astfel contactul unguentului cu materiale toxice precum folia de aluminiu;
- asigură prezența sinergică a compușilor activi din trei polimeri diferiți, caracterizați prin capacitate de regenerare tisulară, activitate hemostatică, efect bactericid și antimicrobian;
- unguentele cicatrizante inovative pe bază de polimeri naturali prezintă o conjunctură de piață favorabilă datorită inexistenței pe piața românească a producătorilor de preparate cicatrizante care să utilizeze principii polimerice din trei surse diferite, care au efect sinergic în vindecarea leziunilor cutanate.

Se dau în continuare trei exemple de utilizare a acestor unguente fitoterapice în urma studiilor fundamentate întreprinse:

1. efect cicatrizant și reepitelizant asupra leziunilor de tip incizie fără fir de sutură,
2. efect cicatrizant și reepitelizant asupra modelului experimental de tip excizie cutanată,
3. efect cicatrizant și reepitelizant asupra leziunilor termice de tip arsură.

Pentru demonstrarea efectului cicatrizant al unguentelor pe bază de polimeri naturali enumerate mai sus am folosit trei modele experimentale recunoscute în literatura internațională de specialitate:

1. model experimental de tip incizie liniară, realizat cu o lamă chirurgicală sterilă, incizia având lungimea de 1 cm, realizată sub anestezie și lăsată nesuturată;

5

2. model experimental de tip excizie circulară, realizat cu un pumn de biopsie standard de 8 mm;
3. model experimental de leziune cutanată termică de tip arsură.

Au fost urmărite macroscopic cele trei tipuri de leziuni imediat după realizarea modelului experimental, la 24 de ore, 48 de ore, 72 de ore și, deasemenea, în zilele 6, 9, 12 și 21, în scopul descrierii evenimentelor clinice și evaluării contracției răni pe parcursul experimentului.

Deasemenea, s-au prelevat probe de țesut cutanat pentru efectuarea examenului anatomo-patologic la timpii menționați.

Colin Adutuș
Șom

Bibliografie

- Abarrategi A, Lópiz-Morales Y, Ramos V, Civantos A, López-Durán L, Marco F, López-Lacomba JL. Chitosan scaffolds for osteochondral tissue regeneration, *J Biomed Mater Res A*. 95(4):1132-41, 2010.
- Antiszko M., Braczko M., Grzybowski J., Jethon J. A comparative examination of the hemostatic properties of xenogenic collagenic biomaterials, *Polim. Med.*, 25(3-4): 37-45, 1995.
- Banu C., Vizirenu C., Ianițchi D., Sălegeanu E. Alimente vii –Alimente nevii, Alimente bune – Alimente rele, Editura ASAB, București, 2011.
- Colt M., Bucevschi M.D. Valorificarea neconvențională a pieilor, Editura Gh. Asachi, 308, 1999.
- Fleischmayer R., Bjorn O., Kuhn K. Structure, Molecular Biology and Pathology of Collagen, vol. 580, New York Academy of Sciences, 1990.
- Jarman-Smith M., Tulin Bodamyali T., Cliff Stevens C., Howell J.A., Michael Horrocks M., Chaudhuri J.B. Human fibroblast culture on a crosslinked dermal porcine collagen matrix, *Biochem.Eng.J.*, 20(23): 217-222, 2004.
- Kumar M.N., Muzzarelli R.A., Muzzarelli C., Sashiwa H., Domb A.J. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. *Chem Rev*, 104(12): 6017-84, 2004.
- Ochi M., Uchio Y., Kawasaki K., Wakitani S., Iwasa J. Transplantation of cartilage-like tissue made by tissue engineering in the treatment of cartilage defects of the knee, *J. Bone Joint Surg.*, 34, 28-32, 2002.
- Pasquantonio G., Greco C., Prenna M., Ripa C., Vitali L.A., Petrelli D., Di Luca M.C., Ripa S. Antibacterial activity and anti-biofilm effect of chitosan against strains of *Streptococcus mutans* isolated in dental plaque, *Int J Immunopathol Pharmacol*. 21(4):993-7, 2008.
- Park S.N., Kim J.K., Suh H., Evaluation of antibiotic-loaded collagen-hyaluronic acid matrix as a skin substitute, *Biomaterials*, 25(17), 3689-3698, 2004.
- Ratajska, M. and S. Boryniec, Physical and chemical aspects of biodegradation of natural polymers. *Reactive & Functional Polymers*, 38: 35-49, 1998.
- Rothamel D., Schwarz F., Sager M., Herten M., Sculean A., Becker J. Biodegradation, of differently cross-linked collagen membranes: an experimental study in the rat, *Clin. Oral Implants Res.*, 16(3): 369-378, 2005.

- Taguchi T., Tanaka J. Swelling behavior of hyaluronic acid and type II collagen hydrogels prepared by using conventional crosslinking and subsequent additional polymer interactions, *J. Biomater.Sci.Polym.* Ed., 13(1): 43-52, 2002.
- Thierry, B., Merhi Y, Silver J, Tabrizian M. Biodegradable membrane-covered stent from chitosan-based polymers. *J.Biomed Mater Res A*,75(3): 556-66, 2005.
- Wang X., Yan Y., Zhang R. A Comparison of Chitosan and Collagen Sponges as Hemostatic Dressings, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 21: 39, 2006.
- Zang, H., Neau S.H. In vitro degradation of chitosan by a commercial enzyme preparation: effect of molecular weight and degree of deacetylation. *Biomaterials*, 22(12): 1653-1658, 2001.
- Zikakis, J.P. Chitinolytic Enzymes and Their Applications, *Acs Symposium Series*, 389: 116-126, 1989.

REVENDICĂRI

Unguentele cicatrizante pe bază de polimeri naturali, în număr de 4 (*Unguent cicatrizant cu chitosan, Unguent cicatrizant cu albuș de ou liofilizat, Unguent cicatrizant cu collagen, Unguent cicatrizant „3 POLIMERI”*), caracterizate prin aceea că au în structura lor:

- produse de origine naturală, reprezentate de chitosan, albuș de ou liofilizat, collagen;
- tehnologie de recoltare, depozitare și procesare după norme igienico-sanitare la standarde europene și la o temperatură ce nu depășește 40°C (pentru a nu distruge enzimele și compușii activi instabili termic);
- prin procesarea tehnologică se păstrează toate caracteristicile biologice ale polimerilor utilizați și nu rămân reziduuri toxice,
- baza de înglobare a principiilor polimerice are 50% lanolină (produs de origine naturală) și 50% vaselină farmaceutică, fiind preferată bazei simple (10% lanolină și 90% vaselină farmaceutică), deoarece asigură ea însăși un răspuns terapeutic superior;
- nu sunt folosiți parabeni sau alți conservanți sintetici;
- sunt încorporate substanțe din polimeri naturali cu certe proprietăți cicatrizante, biocompatibile cu organismul uman și care nu prezintă efecte secundare precum compușii de sinteză.