



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2012 00867**

(22) Data de depozit: **23.11.2012**

(41) Data publicării cererii:
29.11.2013 BOPI nr. **11/2013**

(71) Solicitant:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE TEXTILE ȘI
PIELĂRIE - SUCURSALA INSTITUTUL DE
CERCETARE PIELĂRIE- ÎNCĂLȚĂMINTE,
STR. ION MINULESCU NR.93, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **ALBU MĂDĂLINA GEORGIANA,
BD. TINERETULUI NR. 21, BL. Z6, SC. 1,
ET. 7, AP. 48, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,
RO**

(54) **MEMBRANĂ DE COLAGEN CU DOXICICLINĂ PENTRU UZ
STOMATOLOGIC ȘI PROCEDEU DE OBȚINERE A ACESTEIA**

(57) **Rezumat:**

Invenția se referă la o membrană de colagen cu doxiciclină, utilizată în stomatologie, ca tratament pentru infecțiile parodontale și gingivale, și la un procedeu de obținere a acesteia. Membrana conform invenției este constituită dintr-un polimer natural - colagen fibrilar tip I, sub formă de gel, hidratat de doxiciclină - un antibiotic cu spectru larg și un agent de reticulare. Procedeu conform invenției constă în încorporarea soluției de doxiciclină în gelul de colagen, omogenizarea acestora, aju-

starea pH-ului la 7,4 cu hidroxid de sodiu 1M, adăugarea de apă distilată până ce compoziția finală conține 1,5% colagen substanță uscată, și reticularea, iar compoziția rezultată sub formă de gel se liofilizează 48 h, rezultând o folie spongioasă densă, de culoare galben-verzui, care se presează la rece, obținându-se membrana de colagen cu doxiciclină, pentru uz stomatologic.

Revendicări: 4



MEMBRANA DE COLAGEN CU DOXICICLINA PENTRU UZ STOMATOLOGIC SI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTEIA

Domeniul tehnic in care poate fi folosita inventia:

Invenția se referă la membrana pe bază de colagen și hclat de doxiciclină utilizată în stomatologie ca tratament pentru infecțiile parodontale și gingivale și la un procedeu de obținere a acestora.

Descrierea stadiului actual:

Boala parodontală este o inflamație cronică a țesutului gingival care duce la distrugerea osului subdiacent, care deține dintii. Lasată netratată, aceasta poate provoca sângerarea gingiilor, respirație cronică grea, dureri dentare sau chiar pierderea dinților. Unele studii au indicat o legătură între bolile gingivale și bolile de inimă și accidente vasculare cerebrale.

Potrivit statisticilor, 70% din populația din întreaga lume suferă de această boală, care, cu trecerea timpului, duce la o deteriorare suplimentară și pierderea dinților.

Există mai multe moduri de a trata parodontoza, în funcție de gravitatea acesteia. Scopul tratamentului este de a curăța bine pungile parodontale infectate cu bacterii, de la rădăcina dintelui și de a preveni suprainfectarea. Tratamentul poate fi chirurgical sau nechirurgical, și se efectuează de către un specialist, fie un periodontist, un dentist sau un igienist dentar. Tratamentul chirurgical poate consta în chirurgie articulară, grefă de țesut moale sau grefă de os sau regenerare tisulară ghidată. Tratamentele ne-chirurgicale includ proceduri mai puțin invazive, cum ar fi: curățare (cu instrumente sau dispozitive ultrasonice), curățarea rădăcinilor și tratamentul cu antibiotic, care este încă în continuă cercetare.

Dentistul poate recomanda folosirea antibioticelor topice sau orale pentru a ajuta la controlul infecției bacteriene. Tratamentul cel mai des întâlnit este reprezentat de antibioticele topice. Acestea pot include clătiri ale gurii cu soluții de antibiotic sau inserarea de fire și geluri care conțin antibiotice în spațiul dintre dinți și gingii sau în pungile parodontale după o curățare profundă. Pe de-o parte antibioticele orale pot fi necesare pentru a elimina complet infecția care cauzează bacterii, iar pe de altă parte, un exces de antibiotice poate provoca arsuri ale stomacului și afecțiuni asupra altor organe ale corpului.

Sistemele de cedare topică sunt utilizate pentru a produce efecte localizate la suprafața pielii sau mucoasei în scopul cedării medicamentului cu acțiune farmacologică (acțiune topică).

Moleculele substanței active difuzează către țesutul țintă din vecinătatea locului de aplicare, producând astfel efectul terapeutic.

Pentru obținerea efectelor topice și posibil sistemice ale preparatelor aplicate local se utilizează diferite sisteme medicamentoase care, în funcție de tipul formei farmaceutice, pot fi lichide (emulsii, soluții, suspensii), solide (pulberi, matrici, membrane) sau semisolide (geluri, hidrogeluri).

Până în prezent, în stomatologie s-au utilizat următoarele tipuri de sisteme de eliberare locală a medicamentelor: fibre de colagen impregnate cu tetraciclină (Periodontal Plus ABTM), filme de colagen din pește cu gluconat de clorhexidină (PerioCol[®] - CG), microcapsule absorbabile din poli-lactidă-co-glicolidă cu minociclină (Arestin[®]), filme din hidroxi-propil celuloză cu catechină din ceai verde, filme de gelatină cu gluconat de clorhexidină (PerioChip[®]), gel polimeric (polilactidă dizolvată în 2 metil-N-pirolidonă în raport 1:2) cu 10% doxiciclină (Atridox[®]) care se eliberează lent în 7 zile și ață dentară din copolimer etilen-vinil acetat cu tetraciclină, care este cedată în timp de 10 zile.

În stomatologie s-au utilizat forme resorbabile ale colagenului pentru pansarea rănilor bucale și închiderea suprafețelor grefate sau a locurilor unde a avut loc extracția, pentru a stabiliza coagularea sângelui, a proteja locurile chiuretate și a accelera procesul de vindecare. Terapia parodontală include regenerarea țesuturilor din imediată apropiere a dinților sau implanturilor și eliminarea defectelor parodontale sau paroimplant prin formarea osului, cimentului și a ligamentului parodontal nou în jurul dintelui.

Brevetul US nr. 114763 (A1) descrie metoda pentru producerea membranei de colagen / apatită prin reticularea colagenului cu EDC/NHS dizolvat în alcool și liofilizată. Aceasta este utilizată pentru regenerarea osoasă ghidată și nu și pentru tratamentul infecțiilor dentare. Alte preparate terapeutice prezentate în brevetul CN 102380123 (A) – membrană colagen-carboximetilceluloză de sodiu reticulată cu glutaraldehidă și RO 83060 (A2) – membrană de colagen cu α -chimotripsină imobilizată au fost utilizate ca pansamente medicale. Acestea au rolul de a regenera țesutul moale, dar nu au proprietăți antimicrobiene. Produse pentru stomatologie, cu acțiune antibacteriană, cu eliberarea topică a doxiciclinei sunt descrise în brevetele: CN 102579408 (A) – micropilule cu eliberare de doxiciclină în plasma sanguină, CN 102552152 (A) – macromolecule compozite pe bază de doxiciclină încapsulată în etilceluloză și gelatină pentru îmbunătățirea stabilității doxiciclinei cu aplicații în medicina veterinară și CN 101618025 (A) – preparat liofilizat pe bază de clorhidrat de doxiciclină, lizină, sulfat de sodiu și polivinil pirolidonă tot pentru uz veterinar. Brevetele descrise mai sus au avantajul de a dezvolta produse care vindecă / previn infectarea țesuturilor dentare prin

acțiunea antibioticului, dar în comparație cu prezenta invenție, nu au capacitatea de regenera țesutul deteriorat de infecție.

Avantajul invenției este că sistemul de cedare a medicamentelor pe bază de colagen și doxiciclină sub formă membrane, odată introdus în sacul parodontal sau la nivelul țesutului gingival infectat, în contact cu acesta, se resoarbe într-o anumită perioadă de timp (de la 21 la 28 zile) și eliberează în același timp, în mod controlat, medicamentul (antibiotic cu spectru larg - doxiciclina). În timpul de resorbție, componentele bioactive acționează astfel: antibioticul – doxiciclina are rolul de a distruge microorganismele din țesuturile infectate, iar colagenul, regenerează țesutul lezat.

Problema tehnică

Având în vedere incidența mare a bolii parodontale, problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în realizarea unui sistem de eliberare controlată a unui medicament (doxiciclina) dintr-un suport polimeric natural (colagenul) reticulat astfel încât eliberarea medicamentului și degradarea suportului, să se facă în același timp, controlat, și să asigure pe de-o parte tratamentul - profilaxia infecției și pe de altă parte regenerarea țesutului gingival și a osului.

Soluția tehnică

Membranele colagenice conform invenției înlătură dezavantajele menționate prin aceea că sunt constituite din următoarele componente, exprimate în procente gravimetrice raportate la 100% colagen substanță uscată: a) un polimer natural, colagen fibrilar tip I, obținut din derma pielii de vițel, sub formă de gel, cu structură nativă triplu helicoidală, cu un conținut de 1.1 ... 2.2% colagen substanță uscată, b) 0.1 ... 0.5% hiclat de doxiciclină sub formă de soluție în apă distilată, se amestecă în colagenul gel, și c) 0.15% ... 0.9% agent de reticulare, glutaraldehidă care se amestecă în compoziția finală sub formă de soluție 0.2% ... 0.3% în apă distilată.

Procedeele de obținere a membranelor colagen-doxiciclină constă în aceea că, în prealabil, gelul de colagen se amestecă cu soluția de hiclat de doxiciclină în apă distilată, se omogenizează, se ajustează la pH-ul 7.4 cu hidroxid de sodiu 1M și se adaugă apă distilată până ce compoziția finală conține 1.5% colagen substanță uscată și se adaugă agent de reticulare. Compoziția obținută sub formă de gel de colagen-doxiciclină reticulat se liofilizează obținându-se o structură poroasă densă care este apoi presată la rece.

Se obțin astfel membrane cu o grosime de 0.1 – 0.4 mm care conțin 5 mg colagen (substanță uscată) și 1 mg doxiciclină pe 1 cm².

Colagenul are rolul de a regenera țesuturile și este și un foarte bun hemostatic, iar doxiciclina este un antibiotic cu spectru larg de acțiune și este recunoscut în tratamentul parodontozei.

Membrana de colagen este resorbabilă în timp (peste 21 zile), iar doxiciclina este cedată în proporție de 50% în primele 8 ore și 80% în 3 săptămâni. Produsul a fost testat din punct de vedere microbiologic pe *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* și *Pseudomonas aeruginosa* și fungi și levuri, iar rezultatul a fost ABSENT pentru toate bacteriile studiate.

Membrana de colagen cu doxiciclina este biocompatibilă, testarea pe celule endoteliale și fibroblaste prezentând fenotipuri normale, bine dezvoltate. De asemenea, testele clinice pe pacienții cu parodontoză au arătat că membrana de colagen cu doxiciclină este foarte eficientă, ducând la o îmbunătățire a stării de sănătate încă din primele zile, iar în 3 săptămâni refacerea a fost completă în majoritatea cazurilor.

Avantajele invenției în raport cu stadiul tehnicii

Aplicarea invenției conduce la următoarele avantaje:

- realizarea unui tratament cu aplicare locală / topică pentru boala parodontală sau infecții gingivale, sub forma unor sisteme de eliberare a medicamentelor, manifestate prin cedarea controlată a doxiciclinei dintr-un suport polimeric natural, colagenul;
- utilizarea sistemelor de cedare topică este mult mai avantajoasă comparativ cu administrarea sistemică deoarece sunt evitate limitările impuse de efectul primului pasaj hepatic și eliminate riscurile și inconvenientele terapiei intravenoase;
- membranele de colagen cu doxiciclina furnizează un mediu propice regenerării țesuturilor, sunt biocompatibile, biodegradabile în timp permitând celulelor să-și sintetizeze propria matrice într-o perioadă de 3 săptămâni, netoxice și eliberează medicamentul (doxiciclina) controlat în 21 – 28 de zile.

Descrierea detaliată a invenției:

Gelul de colagen fibrilar tip I obținut din piele bovină, având o concentrație de colagen de 1,1 ... 2,2% (w/w) este utilizat în această invenție. Cenușa și grăsimea trebuie să fie nedetectabile la analiza calitativă și cantitativă, iar pH-ul gelului este acid, 2 ... 3,5.

Hiclul de doxiciclina utilizat în această invenție este o substanță medicamentoasă comercială, care trebuie să aibă o puritate de peste 97% și solubilitate în apă de 50 mg/mL. Mai pot fi utilizate și alte forme ale doxiciclinei cum ar fi vibramicina sau clorhidrat de doxiciclina.

23-11-2012

Agentul de reticulare este aldehida glutarica care trebuie sa fie 0.15 – 0.9% raportat la continutul de collagen.

Invenția va fi explicată mai în detaliu prin următoarele exemple:

Exemplul 1

In această invenție a fost utilizat un gel de collagen fibrilar tip I cu o concentrație gravimetrică de 2%, 97.5% apă și pH-ul de aproximativ 2...3. O soluție de doxiciclina a fost preparată anterior prin amestecarea a 0.2% hclat de doxiciclina (raportat la gelul de collagen) cu apă distilată. Soluția de doxiciclina obținută a fost încorporată în gel, iar pH-ul a fost ajustat la 7,4 cu 1M hidroxid de sodiu și a fost adăugată apă până când compoziția finală a avut 1,5% collagen, apoi a fost reticulată cu 0.5% glutaraldehidă. Gelul de collagen a fost turnat în tavi de inox și liofilizat după următorul program de liofilizare: tavile cu gel au fost introduse pe rafturile liofilizatorului racite în prealabil la -40°C pentru a obține o porozitate constantă a probelor, și menținute 10 ore. Acest proces continuă cu liofilizarea (extragerea apei sub vid) la presiunea de 0,12 mbar și temperatura de -40°C . Pe parcursul liofilizării temperatura se mărește treptat, ajungând la $+10^{\circ}\text{C}$ în 10 ore, la $+20^{\circ}\text{C}$ în 8 ore și la $+35^{\circ}\text{C}$ în 12 ore. Etapa finală a durat 8 ore, păstrându-se aceeași presiune, iar temperatura finală a rafturilor a ajuns la 35°C . Probele au fost obținute în forma spongioasă densă de culoare galben-verzui deschis datorită conținutului de antibiotic. Folia spongioasă a fost apoi presată la rece obținându-se membrana de collagen cu doxiciclina cu un conținut de $1 \text{ g} / \text{cm}^2$ și o grosime de 0.2 mm.

Exemplul 2

Gelul compozit pe baza de collagen și doxiciclina a fost obținut prin procesul descris în Exemplul 1 exceptând procentul de collagen utilizat, care a fost 1.2% (raportat la collagen substanță uscată). Procesul de liofilizare a fost similar cu cel descris în Exemplul 1. Folia spongioasă obținută nu a fost presată, membrana de collagen cu doxiciclina având un conținut de $1 \text{ g} / \text{cm}^2$ și o grosime de 4 mm.

Exemplul 3

Gelul compozit pe baza de collagen și doxiciclina a fost obținut prin procesul descris în Exemplul 2 exceptând procentul de doxiciclina utilizată, care a fost 0.5% (raportat la collagen substanță uscată). Procesul de liofilizare a fost similar cu cel descris în Exemplul 2. Folia spongioasă obținută a fost presată, membrana de collagen cu doxiciclina având un conținut de $2.5 \text{ g} / \text{cm}^2$ și o grosime de 0.2 mm.

Exemplul 4

Gelul compozit pe baza de collagen și doxiciclina a fost obținut prin procesul descris în Exemplul 2. Procesul de liofilizare a fost similar cu cel descris în Exemplul 3. Folia

spongioasa obtinuta a fost presata la rece, membrana de colagen cu doxiciclina avand un continut de $1 \text{ g} / \text{cm}^2$ si o grosime de 0.1 mm.

Exemplul 5

Gelul compozit pe baza de colagen si doxiciclina a fost obtinut prin procesul descris în Exemplul 1 exceptând procentul de agent de reticulare (aldehida glutarica) utilizat, care a fost 0.8% (raportat la colagen substanță uscată). Procesul de liofilizare au fost similar cu cel descris in Exemplul 4. Folia spongioasa obtinuta a fost presata si s-a obtinut o membrana densa similara cu cea descrisa in exemplul 1, avand un continut de $1 \text{ g} / \text{cm}^2$ si o grosime de 0.2 mm.

Exemplul 6

Gelul compozit pe baza de colagen si doxiciclina a fost obtinut prin procesul descris în Exemplul 1. Procesul de liofilizare au fost similar cu cel descris in Exemplul 5, exceptând programul de inghetare care a fost de 5 in ore loc de 10 ore si temperatura finala de 5 ore in loc de 8 ore; astfel procesul de liofilizare a fost scurtat la 40 ore. Folia spongioasa obtinuta a fost presata si s-a obtinut o membrana densa similara cu cea descrisa in exemplul 1, avand un continut de $1 \text{ g} / \text{cm}^2$ si o grosime de 0.2 mm .

Membrana obtinuta în această invenție este un sistem de eliberare controlata a unui medicament (doxiciclina) dintr-un suport polimeric natural (colagenul) reticulat astfel incat eliberarea medicamentului si degradarea suportului, sa se faca in acelasi timp, controlat, si sa asigure pe de-o parte tratamentul / profilaxia infectiei si pe de alta parte regenerarea tesutului gingival si a osului.

REVENDICARI

1. Membrana de colagen cu doxiciclina pentru uz stomatologic **caracterizata prin aceea ca** este constituita din urmatoarele componente, exprimate in procente gravimetrice raportate la 100% colagen substanta uscata: a) un polimer natural, colagen fibrilar tip I, obtinut din derma pielii de vitel, sub forma de gel, cu structura nativa triplu helicoidala, cu un continut de 1.1% ... 2.2% colagen substanta uscata peste care se adauga componentul b) 0.1 ... 0.5% hclat de doxiciclina solutie in apa distilata, si c) 0.15% ... 0.9% agent de reticulare, glutaraldehida, care se amesteca in compozitia finala sub forma de solutie 0.2% ... 0.3% in apa distilata.

2. Procedul de obtinere a membranei de colagen cu doxiciclina pentru uz stomatologic, definite in revendicarea 1, **caracterizat prin aceea ca**, in prealabil, gelul de colagen cu solutia de doxiciclina se omogenizeaza, se ajusteaza pH-ul la 7.4 cu hidroxid de sodiu 1M si se adauga apa distilata pana ce compozitia finala contine 1.5% colagen substanta uscata apoi se reticuleaza. Compozitia obtinuta sub forma de gel se toarna in tavi de inox si se liofilizeaza dupa urmatorul program de liofilizare: inghetare la -40°C pentru a obtine o porozitate constanta a probelor, timp de 10 ore, liofilizare la presiunea de 0,12 mbar si temperatura de -40°C, continuata cu liofilizare la +10°C in 10 ore, la +20°C in 8 ore si la +35°C in 12 ore si aceeasi presiune. Liofilizarea finala este de 8 ore, la o presiune de 0.001 mbar si la o temperatura de 35°C. Probele obtinute sunt in forma spongioasa densa de culoare galben-verzui deschis datorita continutului de antibiotic.

3. Folia spongioasa obtinuta printr-un procedeu conform revendicarii 2, **caracterizata prin aceea ca** este presata la rece obtinandu-se membrana de colagen cu doxiciclina pentru uz stomatologic cu un continut de 1 g / cm² si o grosime de 0.2 mm.

4. Membrana de colagen cu doxiciclina cu un continut de 1 g / cm² si o grosime de 0.2 mm obtinuta conform revendicarii 3, **caracterizata prin aceea ca** este biocompatibila, bioresorbabila in 21-28 de zile, elibereaza controlat doxiciclina asigurand tratamentul / profilaxia infectiei, iar suportul colagenic regenereaza tesutul gingival si osos.