



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2012 00919

(22) Data de depozit: 29.11.2012

(41) Data publicării cererii:
30.05.2014 BOPI nr. 5/2014

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
TEXTILE ȘI PIELĂRIE - SUCURSALA
INSTITUTUL DE CERCETARE PIELĂRIE,
ÎNCĂLȚĂMINTE BUCUREȘTI,
STR. ION MINULESCU NR.93, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;
• UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI
FARMACIE "CAROL DAVILA" DIN
BUCUREȘTI, STR.DIONISIE LUPU NR.37,
SECTOR 1, 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;
• GHICA MIHAELA VIOLETA,
CALEA CRÂNGAȘI NR.26-28, BL. 48-49,
SC.A, AP.4, ET.2, SECTOR 6, BUCUREȘTI,
B, RO

(54) SISTEME DE CEDARE A MEDICAMENTELOR PE BAZĂ DE
COLAGEN ȘI PROCEDEU DE OBȚINERE A ACESTORA

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un sistem de cedare a unui medicament, și la un procedeu pentru obținerea acestuia, cu aplicații medicale. Sistemul conform invenției cuprinde, în procente masice, raportate la 100% gel de colagen fibrilar, obținut din dermă de vițel cu structură nativă triplu elicoidală, 0,8...1,2% colagen substanță uscată, până la 1,2% dextran soluție în apă distilată, 0,1...1% substanță medicamentoasă-acid flufenamic dizolvat în hidroxid de sodiu 1 M soluție, până la 1,2% agent de reticulare, glutaraldehidă, soluție de concentrație 0,2...0,3% în apă distilată. Procedeu conform invenției

constă din aceea că gelul de colagen se tratează cu hidroxid de sodiu până la pH de 7,4, se amestecă apoi soluția de dextran cu soluția de acid flufenamic, apoi se reticulează, rezultând un gel care se lasă la maturat timp de 24 h, la o temperatură de 4°C, și se liofilizează, din care se obține un sistem de tip matrice spongioasă, de culoare alb-verzui.

Revendicări: 3
Figuri: 2



SISTEME DE CEDARE A MEDICAMENTELOR PE BAZA DE COLAGEN ȘI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTORA

Domeniul tehnic în care poate fi folosită invenția:

Invenția se referă la sisteme de cedare a medicamentelor cu suport polimeric natural sub formă de matrici spongioase, preparate în special din colagen și un medicament, în funcție de utilizarea lor în aplicații medicale.

Descrierea stadiului actual:

Descrierea stadiului actual:

În prezent o problemă majoră în terapeutică este reprezentată de menținerea în organism a unei anumite doze de medicament. În ultimii ani au fost propuse o serie de strategii pentru proiectarea unor vehicule medicamentoase care să permită controlul unor parametri ce asigură performanța tratamentului medicamentos. Astfel, au fost dezvoltate așa numitele sisteme de cedare a medicamentelor ("drug delivery systems" – DDS) care urmăresc în principal atât cedarea medicamentului într-o manieră controlată cât și menținerea acestuia la un nivel terapeutic în organism.

Formularea DDS se bazează în principal pe utilizarea polimerilor naturali (colagen, gelatină, albumină, chitosan, acid alginic, dextran) și sintetici (acid polilactic, acid polilactic-co-glicolic, poli (metilmetacrilat), poli(ϵ -caprolactonă, polietilenglicol, polihidroxibutirat-co-hidroxivalerat etc). Printre caracteristicile importante pe care trebuie să le îndeplinească polimerii utilizați pentru DDS se menționează în special, biocompatibilitatea și biodegradabilitatea.

Administrarea unui medicament cu suport polimeric se poate realiza fie pe ruta sistemică (oral, parenteral), fie pe ruta locală (cutanat, periodontal, ocular, vaginal, uretral, nazal, oftalmic, etc). Dintre aceste căi de administrare în prezenta invenție se va face referire la calea topică de aplicare.

Un aspect important ce trebuie luat în considerare în vindecarea leziunilor acute sau cronice cu exudat slab, moderat sau crescut este reprezentat de controlul răspunsului inflamator post-leziune. Aceasta întrucât vindecarea leziunilor este un proces dinamic multifactorial care constă dintr-o succesiune de evenimente cum ar fi hemostaza, inflamarea, proliferarea și remodelarea.

În cazul întreruperii sau prelungirii acestui proces, se poate ajunge la întârzierea vindecării leziunii sau chiar la o inflamare cronică a leziunii.

Printre medicamentele care facilitează răspunsul inflamator post-leziune se menționează antiinflamatoarele nesteroidiene (AINS). Din cauza efectelor adverse provocate de aceste medicamente (mai ales la nivel gastro-intestinal), s-a căutat o alternativă la calea de administrare orală. În consecință, vindecarea leziunilor cutanate de diferite etiologii poate fi optimizată și susținută printr-o abordare rațională bazată pe utilizarea sistemelor topice de cedare a medicamentelor cu suporturi biopolimerice. Cedarea AINS direct la nivelul leziunii, într-o manieră controlată pentru menținerea unei concentrații suficiente și eficiente de medicament, este esențială pentru a combate inflamația ce apare în timpul procesului de vindecare.

Până în prezent, au fost dezvoltate diverse produse pe bază de acid flufenamic, cum ar fi compoziții cu administrare *orală*: compoziție acid flufenamic în combinație cu prostaglandine (brevet US2009012165), compoziție de tip tablete cu acid flufenamic în combinație cu un opioid (brevet WO2008011169), compoziție acid flufenamic în combinație cu un antibiotic (brevet KR101141938 / WO2011090345), compoziție acid flufenamic în combinație cu talidomida (brevet WO9819649), compoziție acid flufenamic de tip suspensie (brevet JP2687401), compoziție de tip micelă cu acid flufenamic pentru evitarea efectelor adverse gastro-intestinale (brevet EP0274870), compoziție acid flufenamic pentru tratamentul / ameliorarea dismenoreei primare, migrenei acute și relaxarea musculaturii netede (brevet IL45357); compoziții de uz *topic*: compoziție acid flufenamic în combinație cu vitamina A, acidul flufenamic fiind în concentrație cuprinsă între 0,0001-5,0g% (brevet JP6032728) compoziție cu acid flufenamic sub formă de soluție, soluție coloidală, emulsie, cremă hidrofilică / lipofilică, gel apos, acidul flufenamic fiind în concentrație cuprinsă între 0,0001-5,0g%, iar fosfatidilglicerol ca bază cu conținut între 0,1-30g% (brevet JP5132415), compoziție acid flufenamic în combinație cu un derivat de pirimidină, acidul flufenamic fiind în concentrație cuprinsă între 0,05-2g% (brevet JP2693535), compoziție acid flufenamic în combinație cu acidul solvohidroxamic, acidul flufenamic fiind în concentrație cuprinsă între 0,05-10g%, de preferat 0,5-2g% (brevet EP0313347), compoziție acid flufenamic în combinație cu acidul sorbic și tocoferol, acidul flufenamic fiind în concentrație cuprinsă între 0,05-10g%, de preferat 0,5-2g% (brevet JP2885808, compoziție acid flufenamic în combinație cu un agent adeziv, preparatul având acțiune transcutanată, iar acidul flufenamic fiind cu o concentrație cuprinsă între 0,001-3mg/cm² (brevet JP7106979); sau administrate pe

cale *injectabilă*: compoziție acid flufenamic de tip emulsie U/A administrată injectabil intravenos (brevet JP1039406).

Până în prezent nu au fost dezvoltate sisteme de cedare a medicamentelor antiinflamatoare din colagen și dextran. Suporturi tridimensionale poroase biodegradabile pe baza de colagen și glicozaminoglican au fost prezentate în US 2004121943. Spre deosebire de acestea, sistemele propuse de noi au avantajul de a avea un medicament care este eliberat la nivelul leziunii și care în afară de regenerare, are rolul de a controla inflamația țesutului lezat.

Brevetul US5932245 descrie hidrolizate de colagen sau gelatină cu eliberare rapidă de glibenclamidă și derivați de acid 3-indolilacetic cum ar fi indometacin sau acemetacin. Față de invenția noastră, acesta are dezavantajul că s-au folosit hidrolizate de colagen, nu colagen fibrilar care este mult mai ușor recunoscut de țesutul uman în stadiul de regenerare.

Brevetul WO9300890 (A1) prezintă suporturi de colagen cu medicamente ca antibiotic, factor de creștere, steroizitobramicină, pentru tratament oftalmic. Și acesta are dezavantajul că medicamentele care sunt eliberate controlat nu au efect antiinflamator.

Îmbunătățirile administrării topice a antiinflamatoarelor nesteroidiene s-au bazat pe utilizarea unor biopolimeri, care asigură un suport adecvat de cedare a substanței active. Dintre acești biopolimeri, un interes crescut este acordat colagenului ca matrice naturală pentru cedarea substanței active datorită similarității cu materialele pe care mediul biologic le poate recunoaște, antigenicității scăzute, răspunsului inflamator redus și biodegradării enzimaticice în sisteme naturale. Mai mult decât atât, colagenul poate fi procesat în diferite forme ca suporturi DDS și anume: spongi, geluri, fibre, membrane, tablete, microsferă, minipelete, nanoparticule. Colagenul poate fi asociat cu diferiți polimeri naturali. Alt polimer natural, dextranul, un polizaharid de origine bacteriană, prezintă o excelentă biocompatibilitate tisulară și hidrofilicitate. În plus crește stabilitatea *in vitro* și descrește imunogenicitatea *in vivo* a proteinelor și enzimelor (acestea fiind susceptibile de degradare enzimatică).

În cazul suporturilor colagenice poroase, un aspect important este legat de cedarea medicamentului. Aceasta este rezultatul mai multor procese fizico-chimice și anume: inițial la contactul imediat al suportului poros colagenic cu exudatul de la nivelul leziunii are loc o desorbție rapidă a medicamentului de la suprafață, nereținut în rețeaua polimerică. Treptat, o dată cu absorbția exudatului, are loc umflarea suportului poros, relaxarea polimerului și difuziunea lentă a medicamentului reținut în rețeaua colagenică, asigurându-se menținerea unei concentrații constante de medicament la locul inflamației asociate leziunii. Pentru evaluarea cedării medicamentului din formulări pentru care mai multe procese sunt asociate mecanismului cinetic se utilizează modelul legii puterii.

Problema tehnică

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în realizarea unui sistem de eliberare controlată a medicamentului, selectarea unui suport polimeric, un amestec de colagen și dextran, și a unui antiinflamator nesteroidian, reticulate și combinate în anumite proporții astfel încât, medicamentul eliberat din sistemele obținute să asigure controlul răspunsului inflamator post-leziune.

Soluția tehnică

Sisteme de cedare a medicamentelor cu suport polimeric natural sub formă de matrici spongioase conform invenției înlătură dezavantajele menționate prin aceea că sunt constituite din următoarele componente, exprimate în procente gravimetrice raportate la 100% colagen substanță uscată: 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 0,8% ... 1,2% colagen substanță uscată peste care se adaugă componentul b) 0% ... 1,2% dextran soluție în apă distilată, c) 0,1 ... 1,0% acid flufenamic dizolvat în hidroxid de sodiu (NaOH) 1M soluție și d) 0% ... 1,2% agent de reticulare, glutaraldehida, sub formă de soluție 0,2% ... 0,3% în apă distilată.

Procedeeul de obținere a sistemelor de cedare a medicamentelor cu suport polimeric natural sub formă de matrici spongioase constă în faptul că gelul de colagen se amestecă cu soluția de dextran, se ajustează pH-ul la 7,4 cu hidroxid de sodiu 1M, se omogenizează, apoi se adaugă soluția de acid flufenamic ajustată la pH-ul 7,4 și se reticulează. Gelul compozit astfel obținut se lasă la maturat 24 ore la 4°C și apoi se liofilizează 48 de ore. Probele obținute sunt în formă de matrici spongioase de culoare alb-verzui datorită conținutului de acid flufenamic.

Pentru a demonstra capacitatea de eliberare controlată a medicamentelor, cedarea acidului flufenamic a fost simulată în soluție tampon fosfat la un pH de 7,4 și temperatura de 37°C și a fost studiată influența factorilor de formulare asupra profilelor cinetice de cedare a medicamentului (glutaraldehydă și dextran).

Profilele cinetice de cedare *in vitro* ale acidului flufenamic din matrici spongioase cu suport polimeric, colagen și dextran, sunt prezentate comparativ ca procent cumulativ de medicament cedat în funcție de timp în Figurile 1 și 2.

Din profilele cinetice din Figurile 1 și 2 se observă influența reticulării cu glutaraldehida și respectiv influența cantității de dextran, cantitatea de colagen fiind constantă, asupra procentului de acid flufenamic cedat.

Din examinarea figurilor se mai poate remarcă faptul că în primele 200 de minute s-a cedat

aproximativ 50% din cantitatea inițială de acid flufenamic, restul fiind cedat lent și treptat, pe parcursul a încă 400 de minute.

Pentru determinarea mecanismului de cedare a acid niflumic din suporturile poroase proiectate s-a utilizat modelul legii puterii.

Valorile coeficientului de determinare pentru modelul legii puterii obținute la cedarea acidului flufenamic din sistemele poroase, parametri cinetici specifici modelului legii puterii și procentul de acid flufenamic cedat sunt prezentate în tabelul următor:

Sisteme de cedare a acidului flufenamic cu suport polimeric natural	Coeficientul de determinare pentru modelul legii puterii	Exponentul de cedare	Constanta cinetică (1/min ⁿ)	% cedat
Matrice cu collagen nereticulată	0,9788	0,385	0,072	78,63
Matrice cu collagen reticulata cu aldehida glutarică	0,9839	0,419	0,058	76,71
Matrice cu collagen și 0,6% dextran reticulată cu aldehidă glutarică	0,9856	0,385	0,074	81,09
Matrice cu collagen și 1,2% dextran reticulată cu aldehidă glutarică	0,9579	0,354	0,100	87,39

Profilele de cedare ale acidului flufenamic din matrici, dar și mecanismul cinetic sunt influențate de tipul și concentrația factorilor de formulare. Prin modularea concentrației acestora se poate controla cantitatea de substanță medicamentoasă cedată, în vederea obținerii unor sisteme de cedare care să asigure o eliberare optimă a medicamentului în raport cu locul de aplicare și indicația terapeutică.

Scurtă descriere a desenelor

Figura 1 prezintă influența gradului de reticulare cu glutaraldehidă asupra profilelor cinetice înregistrate la cedarea acidului flufenamic din matricile spongioase.

Figura 2 prezintă influența dextranului asupra profilelor cinetice înregistrate la cedarea acidului flufenamic din matricile spongioase.

Avantajele invenției în raport cu stadiul tehnicii

Aplicarea invenției conduce la următoarele avantaje:

- utilizarea topică a unui medicament antiinflamator nesteroidian care este eficient din punct de vedere al reducerii inflamației asociat unei leziuni, fără a întârzia vindecarea epitelială;
- evitarea reacțiilor adverse asociate administrării pe cale orală a medicamentelor antiinflamatoare nesteroidiene, mai ales la nivel gastro-intestinal, evitarea factorilor care influențează absorbția gastro-intestinală precum și limitările impuse de efectul pasajului hepatic și intestinal;
- utilizarea unor suporturi de cedare a medicamentelor pe bază de polimeri naturali (colagen, dextran) care prezintă biocompatibilitate tisulară înaltă, hidrofilicitate, antigenicitate scăzută, inflamare minimă și care favorizează creșterea, diferențierea și proliferarea celulară și care pot fi procesate în diferite forme, matricile spongioase fiind selectate în prezenta invenției;
- obținerea unor sisteme cu suporturi naturale de cedare controlată a medicamentelor, utilizabile în tratamentul inflamațiilor asociate unor leziuni de diferite etiologii.

Descrierea detaliată a invenției:

Gelul de colagen fibrilar tip I obținut din piele bovină, având o concentrație de colagen de 0,6 ... 1,4% (g/g) este utilizat în această invenție. Gelul trebuie să aibă o anumită puritate, să nu conțină grăsimi și cenușă. pH-ul gelului trebuie să fie acid: 2,2 ... 3,5.

Dextranul din *Leuconostoc ssp.* utilizat în această invenție este o polizaharidă comercială cu masa moleculară de aprox. 500.000 Da. Se poate utiliza și dextran cu mase moleculare mai mici, în procent de 0 ... 1,2%.

Acidul flufenamic sau acidul 2-{{3-(Trifluorometil) fenil}amino}benzoic utilizat în această invenție este o substanță medicamentoasă comercială, care se prezintă sub formă de pulbere cristalină, slab gălbuie, fără miros sau cu miros foarte slab și cu gust foarte slab amar. Acidul flufenamic se topește la 124° – 125°C în funcție de morfologia cristalelor, cu resolidificare și retopire la 134° – 136°C. Valoarea constantei de disociere pK_a este 3,9, iar coeficientul de partiție log P (octanol/apă) este 5,2. Mai pot fi utilizate și alte medicamente antiinflamatorii nesteroidiene cu ar fi: acidul niflumic, acidul mefenamic, acidul tolfenamic, diclofenacul, indometacinul, ibuprofenul, ketoprofenul, fenilbutazona, piroxicamul, tenoxicamul, meloxicamul în procent de 0,1 ... 1%.

Agentul de reticulare este aldehida glutarică care trebuie să fie 0 ... 1,5% raportat la conținutul de colagen.

Invenția va fi explicată mai în detaliu prin următoarele exemple:

Exemplul 1

În aceasta invenție a fost utilizat colagenul fibrilar tip I sub formă de gel obținut din piele bovină, de puritate medicală, având o concentrație de colagen de 0,8% (w/w) și un pH de 2,2. Gelul de colagen a fost ajustat apoi cu NaOH 1M la pH-ul de 7,4. Dextran-ul a fost solubilizat în apă distilată și adăugat peste gel, având o concentrație finală în gel de 0,6%. O soluție de acid flufenamic 0,5% a fost dizolvat în NaOH 1M, adusă la un pH de 7,4 și adăugată peste gelul de colagen. Gelul compozit din colagen, dextran și acid flufenamic a fost reticulat cu 0,6% glutaraldehydă, lăsat la maturat 24 ore la 4°C și apoi a fost liofilizat. Liofilizarea a început la -40°C timp de 10 ore și apoi liofilizat la presiunea de 0,1 mbar și temperatura de +10°C în 8 ore, la +25°C în 12 ore și la +35°C în 8 ore. După cele 38 de ore a avut loc liofilizarea finală încă 10 ore la presiunea de 0,001 mbar la aceeași temperatură de 35°C. Probele au fost obținute în formă de matrici spongioase de culoare alb-verzui datorită conținutului de acid flufenamic.

Exemplul 2

Gelul compozit pe bază de colagen, dextran, acid flufenamic reticulate cu glutaraldehydă a fost obținut prin procesul descris în Exemplul 1 exceptând procentul de colagen utilizat, care a fost 1,0% (raportat la colagen substanță uscată). Procesul de liofilizare a fost similar cu cel descris în Exemplul 1.

Exemplul 3

Gelul compozit pe bază de colagen, dextran, acid flufenamic reticulate cu glutaraldehydă a fost obținut prin procesul descris în Exemplul 1 exceptând procentul de colagen utilizat, care a fost 1,2% (raportat la colagen substanță uscată). Procesul de liofilizare a fost similar cu cel descris în Exemplul 1.

Exemplul 4

Gelul compozit pe bază de colagen, dextran, acid flufenamic reticulate cu glutaraldehydă a fost obținut prin procesul descris în Exemplul 2 exceptând procentul de dextran utilizat, care a fost 1,2% (raportat la colagen substanță uscată). Procesul de liofilizare a fost similar cu cel descris în Exemplul 1.

Exemplul 5

Gelul compozit pe bază de colagen, dextran, acid flufenamic reticulate cu glutaraldehydă a fost obținut prin procesul descris în Exemplul 2 exceptând procentul de glutaraldehydă

utilizată, care a fost 1,2% (raportat la colagen substanță uscată). Procesul de liofilizare a fost similar cu cel descris în Exemplul 1.

Exemplul 6

Gelul compozit pe bază de colagen, dextran, acid flufenamic reticulate cu glutaraldehidă a fost obținut prin procesul descris în Exemplul 1 exceptând procentul de dextran, care a fost 1,2% (raportat la colagen substanță uscată) și nu a fost reticulat (procent glutaraldehidă 0%). Procesul de liofilizare a fost similar cu cel descris în Exemplul 1.

Sisteme de cedare a controlată a medicamentului antiinflamator nesteroidian dintr-un suport polimeric pe bază de colagen și dextran au fost obținute în această invenție și au proprietatea de a asigura atât regenerarea țesutului datorită conținutului de colagen și dextran, polimeri naturali care se găsesc în matricea extracelulară, cât și controlul inflamației într-o rană, datorită acidului flufenamic eliberat în timp.

REVENDICARI

1. Sisteme de cedare a medicamentelor cu suport polimeric natural sub formă de matrici spongioase pentru aplicații medicale **caracterizată prin aceea că** este constituită 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 0,8% ... 1,2% colagen substanță uscată peste care se adaugă componentul b) 0% ... 1,2% dextran soluție în apă distilată, c) 0,1 ... 1,0% acid flufenamic dizolvat în NaOH 1M soluție și d) 0% ... 1,2% agent de reticulare, glutaraldehida, sub formă de soluție 0,2% ... 0,3% în apă distilată.
2. Procedul de obținere a sistemelor de cedare a medicamentelor cu suport polimeric natural sub formă de matrici spongioase definite ca având compoziția din revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că**, în prealabil, gelul de colagen se ajustează pH-ul la 7,4 cu hidroxid de sodiu 1M și se amestecă cu soluția de dextran, se omogenizează, și se adaugă soluția de acid flufenamic, apoi se reticulează. Gelul compozit astfel obținut se lasă la maturat 24 ore la 4°C și apoi se liofilizează. Liofilizarea are loc după următorul program: înghețare la -40°C timp de 10 ore, liofilizare principală la presiunea de 0,1 mbar și temperatura de +10°C în 8 ore, apoi la +25°C în 12 ore și la +35°C în 8 ore. Procesul se continuă cu liofilizarea finală încă 10 ore la presiunea de 0,001 mbar la aceeași temperatura de 35°C. Probele obținute sunt în formă de matrici spongioase de culoare alb-verzui datorită conținutului de acid flufenamic.
3. Sistemele de cedare a medicamentelor cu suport polimeric natural sub formă de matrici spongioase obținute conform revendicării 3, **caracterizată prin aceea că** eliberează controlat acidul flufenamic asigurând tratamentul / profilaxia inflamațiilor asociate unei leziuni, iar suportul polimeric din colagen și dextran regenerează țesutul conjunctiv.

FIGURI

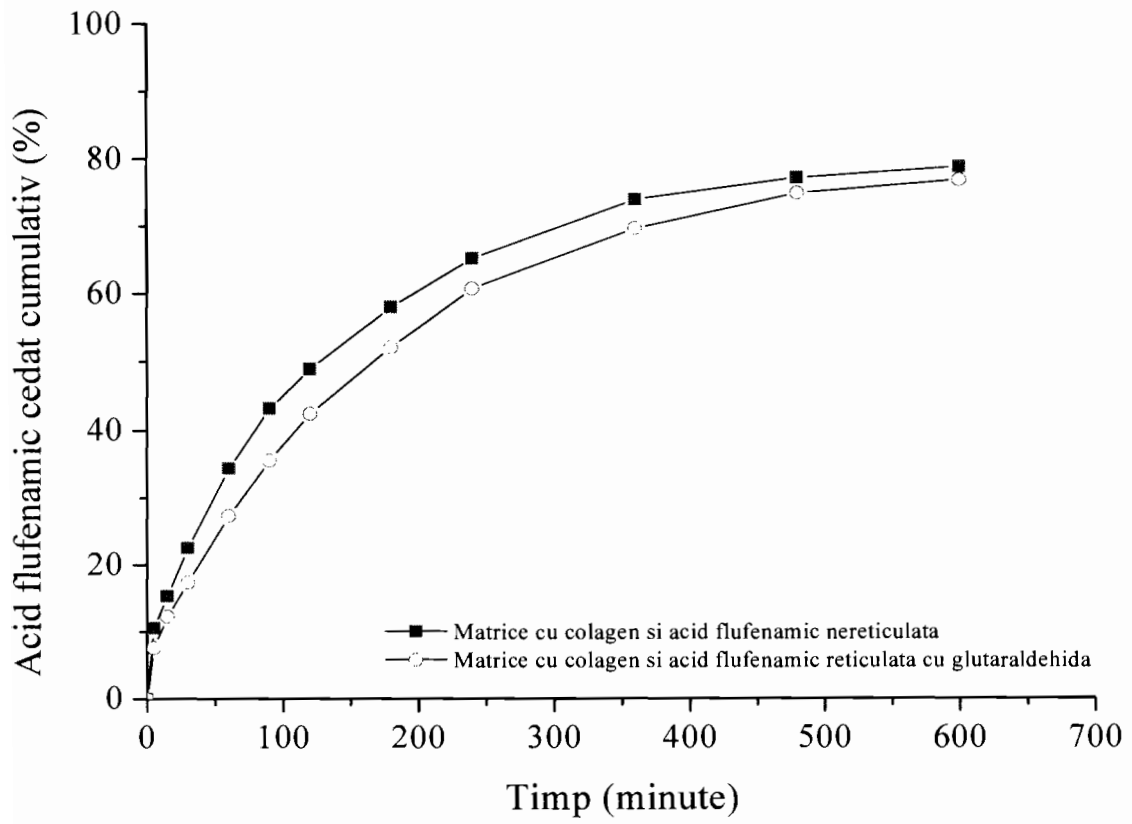


Figura 1

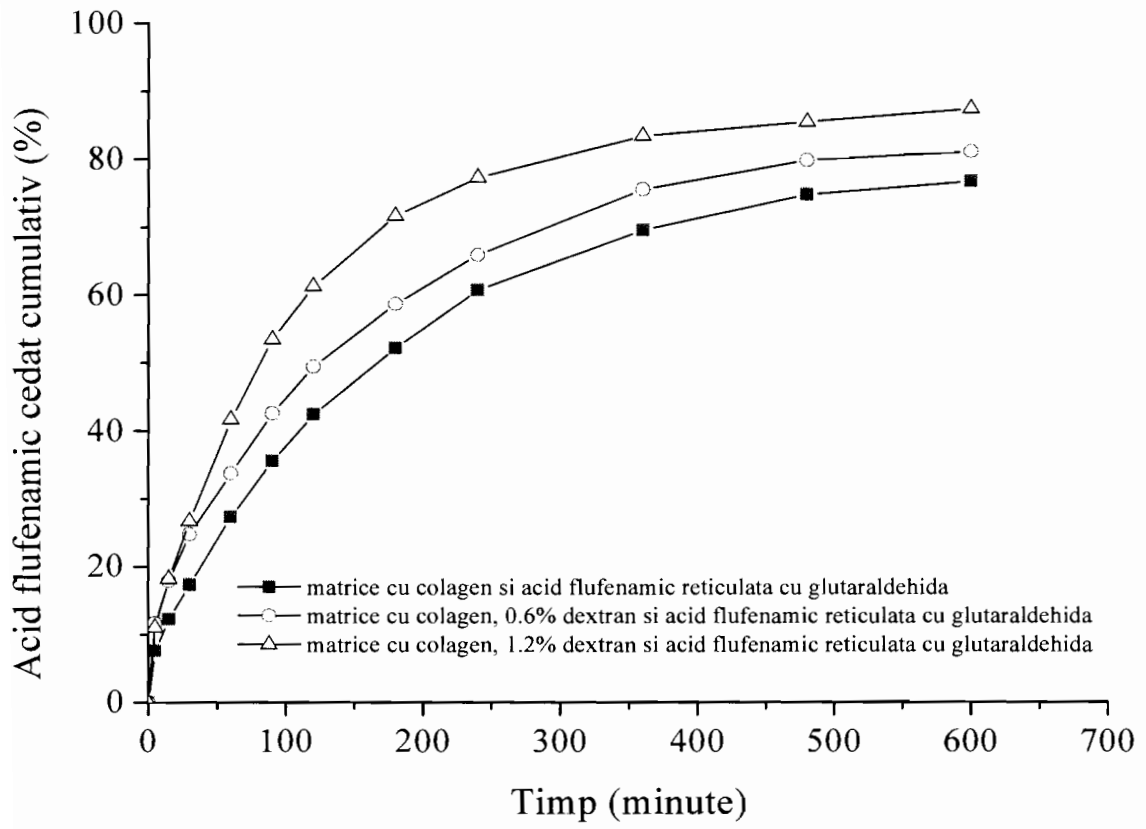


Figura 2