



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2013 00743

(22) Data de depozit: 17.10.2013

(41) Data publicării cererii:  
27.02.2015 BOPI nr. 2/2015

(71) Solicitant:  
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE  
DEZVOLTARE PENTRU ȘTIINȚE  
BIOLOGICE BUCUREȘTI,  
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR. 296,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:  
• IORDACHEL CĂTĂLIN, STR.NOVACI  
NR. 11, BL.P 33, SC.2, AP.48, SECTOR 5,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• BRATOSIN DANIELA, STR. TRESTIANA  
NR. 5, BL. 9, SC. 1, ET. 6, AP. 24,  
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;

• DOBRE ANA-MARIA,  
STR. VISTIERNICUL STRAVRINOS NR. 17,  
BL. 56, SC. D, ET. 1, AP. 44, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• RUGINĂ ALEXANDRINA MARIA,  
STR.LUICĂ NR.21, BL.7, SC.2, AP.67,  
SECTOR 4, O.P.7, BUCUREȘTI, B, RO;  
• STAN LIGIA FLORENTINA, STR. RONDĂ  
NR. 34, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;  
• SIDOROFF MANUELA ELISABETA,  
STR. DRUMUL TABEREI NR. 138, BL. 715,  
SC. A, ET. 1, AP. 1, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• OPRÎȚA ELENA IULIA,  
STR.VĂLEA IALOMIȚEI NR.6, BL.C 10,  
ET.9, SC.C, AP.184, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO

(54) HIDROGEL CONȚINÂND GLICIL-GLICINĂ PENTRU  
REGENERARE DERMICĂ (GLYDERM)

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un produs pentru tratamentul unor  
leziuni dermice. Produsul conform invenției conține

200 μM...10 mM hidrogel pe bază de glicil-glicină înglobat într-o bază uzuală.

Revendicări: 1  
Figuri: 3

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).



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr. ....	a 2013 0743
Data depozit .....	17-10-2013

## DESCRIEREA INVENȚIEI

### HIDROGEL CONȚINÂND GLICIL-GLICINĂ PENTRU REGENERARE DERMICĂ (GLYDERM)

Defecte ale pielii cauzate de arsuri, ulcere venoase, ulcere diabetice sau leziuni acute induc pierderea de apă, electroliți și proteine la nivelul pielii ceea ce permite invazia bacteriană. Revenirea la funcția de bază a pielii după un prejudiciu adus țesutului (leziuni mecanice, arsuri, etc.) este foarte importantă în dermatologie și chirurgia de țesut dermic.

În acest context, prezenta cerere de brevet de invenție se referă la un produs sub formă de hidrogel, cu utilizare medicală pentru tratamentul leziunilor dermice (arsuri, etc.), acest nou gel ce conține dipeptidul Glicil-Glicină (H-Gly-Gly-OH) ( $C_4H_8N_2O_3$ ) fiind biocompatibil și stimulând o proliferare celulară crescută pentru regenerarea țesutului față de capacitatea lui naturală de regenerare. Testele efectuate pe modele *in vitro* au demonstrat efectele antiapoptotic și antioxidant ale acestui hidrogel cu glicil-glicină.

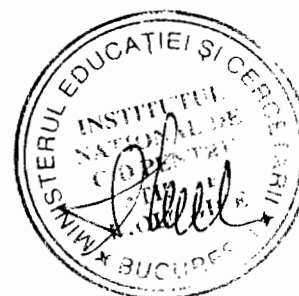
Sunt cunoscute numeroase produse destinate refacerii și regenerării țesuturilor afectate de leziuni de diferite grade și tipuri (arsuri, etc.). Dezavantajul acestor produse este acela că au un mod de fabricație laborios, ceea ce determină un cost de fabricație ridicat și nu reușesc să amelioreze în proporție satisfăcătoare efectele de degradare tisulară și a urmărilor de diferite tipuri și grade (cicatrici cheloide, etc.).

RO110902 se referă la o cremă cu acțiune trofică și epitelizantă pe bază de colagen și vitamine.

RO 112409 se referă la un gel trofic vascular pe bază de antociani.

RO 125505 se referă la un gel contra arsurilor pe bază de colagen și ulei de cătină.

Problema propusă spre rezolvare de prezenta cerere de brevet de invenție constă în tratarea leziunilor dermice. Soluția oferită constă în faptul că se asociază într-o compoziție farmaceutică, dipeptidul Glicil-Glicină (H-Gly-Gly-OH) ( $C_4H_8N_2O_3$ ) și un gel hidrosolubil. Glicil-Glicina este un dipeptid cu sinonimele: diglycine și N-glycylglycine, cu masa moleculară 132,1. După cum se arată în brevetul francez No. 0707113 /2007, brevetul European WO 2009 / 080914A3 și USA Application 20100256234, glicil-glicina adăugată într-un mediu de cultură cu condrocite conduce la o producție masivă a acestor celule. Rata de multiplicare a celulelor într-un astfel de mediu este cu de 3 – 7 ori mai mare decât în absența glicil-glicinei.



Dipeptidul H-Gly-Gly-OH folosit pentru obținerea hidrogelului pentru regenerare dermică utilizabil în tratamentul arsurilor sau altor leziuni dermice oferă următoarele avantaje: efect stimulator asupra proliferării și creșterii celulare, grăbind procesul de refacere tisulară, efect antioxidant și antiapoptotic, preț scăzut, disponibil și ușor de pregătit.

Pentru obținerea hidrogelului pe bază de glycyl-glicină pentru regenerare dermică (Glyderm) cu utilizare medicală în tratamentul leziunilor dermice (arsuri, etc.) am optat pentru forma de gel ca fiind cea mai eficientă formă de condiționare, modernă, și care întrunește mai multe avantaje, de exemplu hidrosolubilitatea preparatelor, importantă atât pentru resorbția locală a componentelor bioactive cât și pentru o mai ușoară îndepărtare a lor prin spălare. Ca substanțe de bază pentru obținerea gelurilor se cunosc și se folosesc atât polimerii naturali, cât și polimerii de sinteză sau semisinteză. Dintre aceștia, produsul cel mai frecvent folosit atât pentru biocompatibilitatea sa, cât și pentru capacitatea deosebită de hidratare, este Carbopol-ul 940 (Sinthalen K) – polimer carbovinilic.

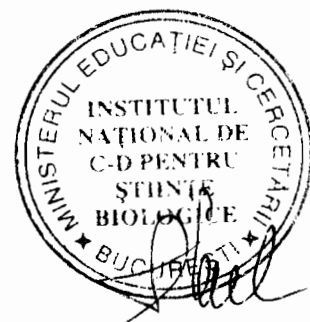
Produsul, conform invenției, este caracterizat prin aceea, că este constituit din glicil-glicină (H-Gly-Gly-OH) ( $C_4H_8N_2O_3$ ) cu o concentrație cuprinsă între 200  $\mu$ M și 10mM într-o bază de gel preparată din 0,5–2 g % Sinthalen K pulbere.

Pentru obținerea hidrogelului pe bază de glicil-glicină pentru regenerare dermică (Glyderm), cu utilizare medicală în tratamentul leziunilor dermice, a arsurilor, se prepară steril, o soluție de lucru de H-Gly-Gly-OH, de concentrație 100mM, care se aliquotează și se păstrează la  $-20^{\circ}C$  până în momentul folosirii.

Baza de gel s-a preparat după metoda clasică, din 0,5–2 g % Sinthalen K pulbere, care s-au amestecat cu 70-90 g apă și 0,10–0,15 g% amestec conservant nipagin-nipazol. S-a lăsat în repaus 24 de ore la temperatura camerei pentru hidratare, după care au fost adăugate 0,1–0,5g trietanolamină până la un pH de 5,8 – 6.

S-a obținut un gel omogen, translucid, cu un pH în jur de 6, în care ulterior se adaugă soluția de lucru H-Gly-Gly-OH în diferite cantități pentru a se ajunge la concentrații de 200  $\mu$ M și 10mM. Hidrogelul se menține 24 ore în vasul acoperit pentru maturare.

Produsul sub formă de Hidrogel pe bază de glicil-glicină pentru regenerare dermică, (Glyderm), pentru tratamentul arsurilor și altor leziuni dermice prezintă următoarele avantaje:



- Utilizarea gelului de Carbopol ca suport al substanței active, glicil-glicina, determină o mărire a vitezei de absorbție cutanată, obținându-se o concentrație terapeutică optimă în scurt timp de la aplicare.
- Forma de realizare a produsului ca gel hidrosolubil permite adsorbția pe suprafața lui a compușilor de degradare locali care reprezintă substanțe toxice.
- Stimulează creșterea și multiplicarea celulară a fibroblastelor și keratinocitelor, esențiale în procesul de regenerare și remodelare tisulară.
- Reface țesutul degradat și stimulează reepitelizarea.

Produsul care face obiectul prezentei cereri de brevet este destinat tratamentului arsurilor de diferite grade sau leziunilor dermice cu alte origini, cu proprietăți verificate experimental de tratare și refacere a țesutului cutanat afectat de arsură.

#### TESTĂRI EXPERIMENTALE

##### 1. Testări preclinice *in vitro*

Pentru testarea preclinică a Hidrogelului pe bază de Glicil-Glicină pentru regenerare dermică (Glyderm) s-a urmărit realizarea pe acest hidrogel a unor culturi de fibroblaste și keratinocite, așa cum se prezintă în Figura 1 și Figura 2. Se poate observa cu ușurință numărul crescut de celule la cultura realizată pe hidrogelul cu glicil-glicină.

##### 2 Testări preclinice *in vivo*

Au fost testate efectele dermo – restitutive ale preparatului Glyderm.

Experimentul a fost realizat pe iepuri de laborator în cadrul INCDMI Cantacuzino București. Pe același animal de laborator s-au indus două arsuri chimice în zona dorsală, în prealabil cu blana rasă, care ulterior au fost delimitate. Pe una din arsuri s-a efectuat tratament cu preparatul Glyderm, constând în aplicări de două ori pe zi pe zona lezată.

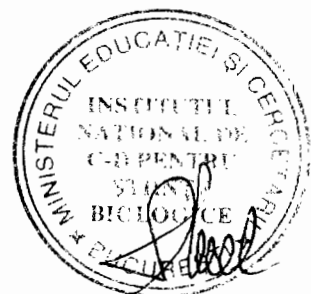
*Rezultate obținute:* După 4-5 zile de tratament se observă vindecarea arsurii tratate cu Glyderm, fără cicatrice, spre deosebire de zona netratată.

În concluzie, pe baza rezultatelor furnizate de testările preclinice *in vitro* și *in vivo* ale hidrogelului pe bază de glicil-glicină (Glyderm), se poate concluziona că produsul realizat conform prezentei cereri de brevet de invenție, are un efect stimulator al creșterii și multiplicării celulare și prezintă reale calități de refacere a țesuturilor afectate, de stimulare a cicatrizării și de regenerare a leziunilor dermice, și poate fi utilizat cu real succes în tratamentul arsurilor.

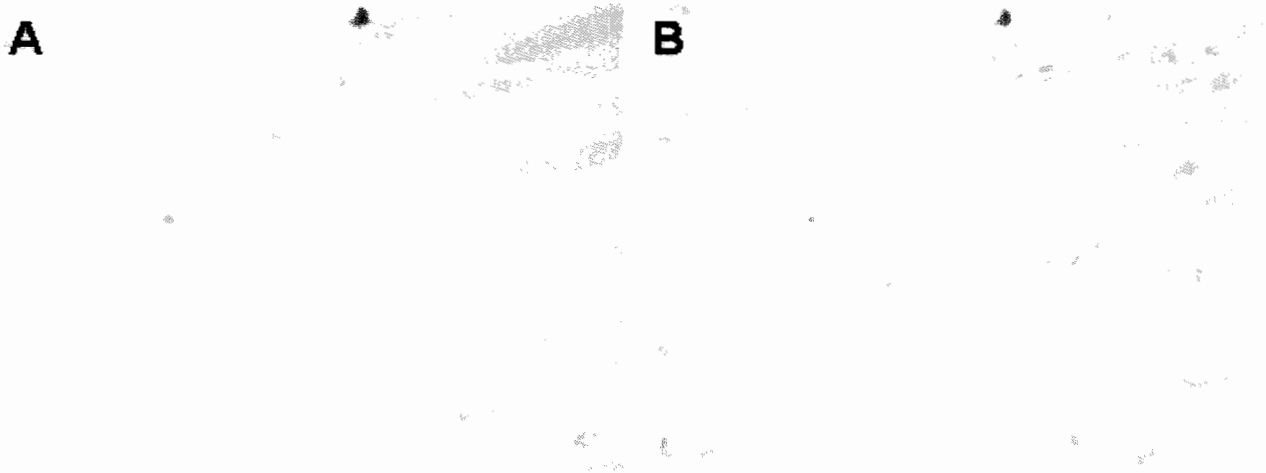


## REVENDICĂRI

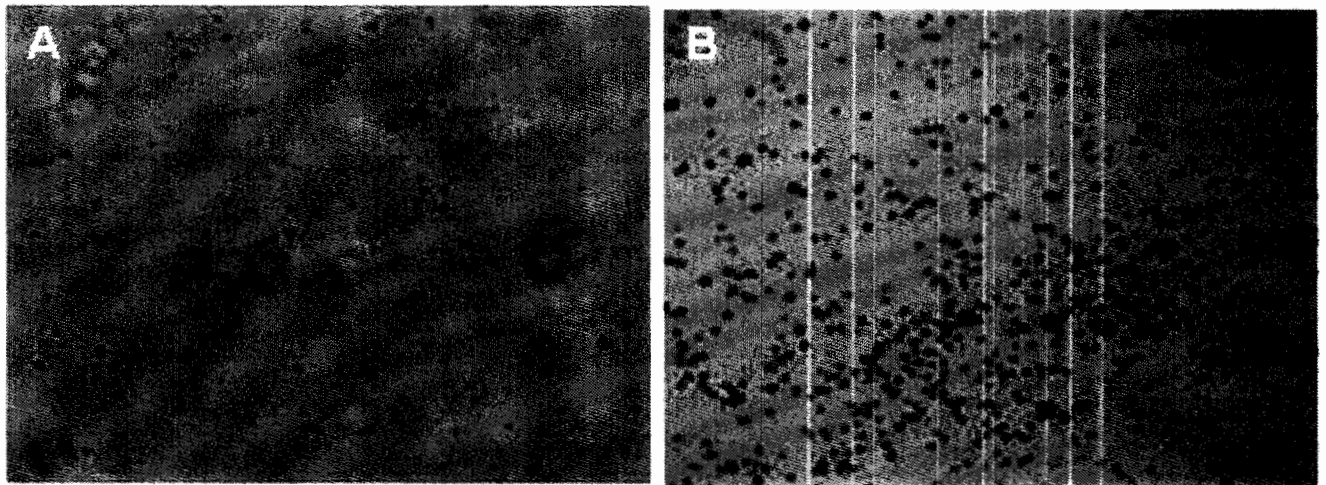
1. Produs sub formă de hidrogel pentru tratamentul arsurilor și altor tipuri de leziuni dermice conținând Glicil-Glicină (H-Gly-Gly-OH) ( $C_4H_8N_2O_3$ ) cu o concentrație ce poate varia între 200  $\mu$ M și 10mM înglobat într-o bază de gel.



DESENE

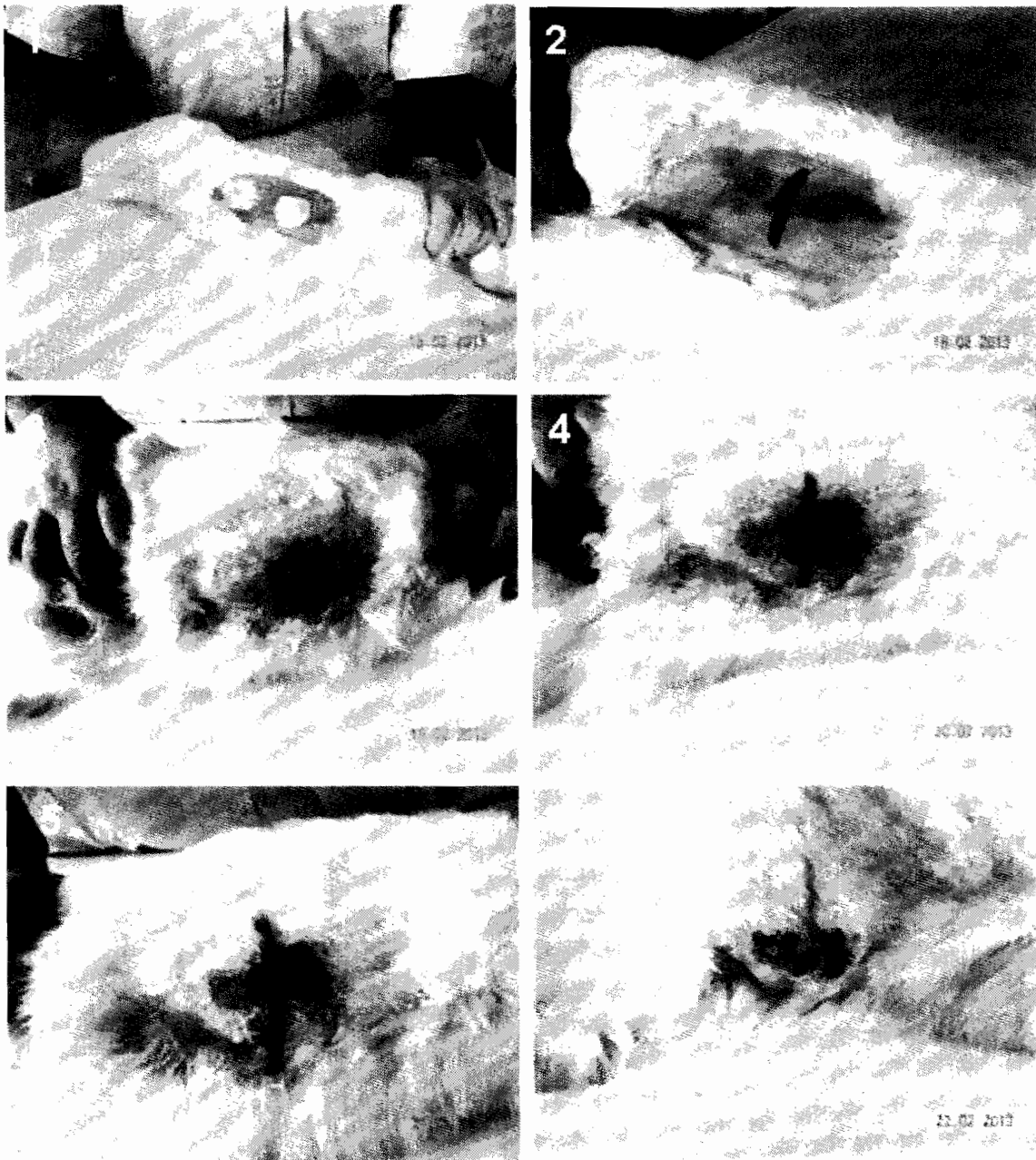


**Figura 1.** Cultura de fibroblaste realizată pe hidrogel simplu (A) și pe hidrogel conținând 800 $\mu$ M glicil-glicină (B).



**Figura 2.** Cultura de keratinocite martor (A) și pe suport cu 800  $\mu$ M glicil-glicină.





**Figura 3.** Derularea experimentului in vivo. 1: Producerea arsurilor cu pasta epilatoare; 2: Delimitarea celor 2 zone de arsură; 3: Aplicarea gelului cu glicil-glicină (Glyderm ) pe arsura din partea stângă; 4: Evoluția comparativă a celor 2 plăgi la 2 zile după producere. Se observă apariția unei zone de necroză pe arsura netratată cu gel; 5: Evoluția arsurilor la 3 zile după producere; 6: Evoluția arsurilor la 4 zile după producere. Se observă în zona arsurii tratate, o vindecare substanțială și începutul acoperirii cu blană.

