



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2014 00979**

(22) Data de depozit: **11/12/2014**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/06/2020** BOPI nr. **6/2020**

(41) Data publicării cererii:
30/06/2016 BOPI nr. **6/2016**

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

(72) Inventatori:
• **TCACENCO LUMINIȚA, STR. EDUCAȚIEI
NR. 35, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **IODĂCHEL CĂTĂLIN, STR. NOVACI
NR. 11, BL.P 33, SC.2, AP.48, ET.5,
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **BERTEANU ELENA,
STR. DR. ALEXANDRU LOCUSTEANU
NR. 2, BL. 77A, ET. 3, AP. 15, BUCUREȘTI,
B, RO;**
• **PARASCHIV MARIA,
CALEA CĂLĂRAȘILOR NR. 325, BL. D1,
SC. 3, AP. 128, BRĂILA, BR, RO;**

• **DINU ECATERINA LILIANA,
STR. CARPENULUI NR. 4, BUCUREȘTI, B,
RO;**
• **ENACHE MIHAELA IONICA,
STR. PLT. NEDELCU ION NR.3, SC. 1,
ET. 4, AP. 25, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,
RO;**
• **ZUAV ADINA-LIDIA, ALEEA MOINEȘTI
NR. 1, BL. 15, SC. 2, ET. 3, AP. 34,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **TUSA IRIS MARIA, STR. ELIE CAROFOLI
NR. 12, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **GEANTA MARIANA, STR. GHIRLANDEI
NR. 60, BL. 73, SC. 2, ET. 1, AP. 28,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
**WO 2013/149323; RU 2004108177 (A);
KR 20020046193 (A); KR 20120033393 (A)**

(54) **COMPOZIȚIE DE GEL ANTIINFLAMATOR PE BAZĂ
DE BIOPOLIMERI ȘI EXTRACTE DE PLANTE**



RO 131198 B1

1 Invenția se referă la un material biocompatibil, hidratant, pe bază de chitosan, biopolimer
natural, compatibil și compuși biologic activi din extracte de plante, cu efect antiinflamator:
3 sulfina (*Melilotus officinalis*), mesteacănul (*Betula verrucosa*), trei frați pătați (*Viola tricolor*),
roinița (*Melissa officinalis*) și crețișoara (*Alchemilla vulgaris*).

5 Se cunosc din literatura de specialitate numeroase compoziții în care chitosanul este
asociat cu diferite extracte din plante, în scop terapeutic. Astfel, cererea de brevet
7 **WO 2013/149323** descrie compoziții lipidice pentru îngrijirea pielii, constituite din cel puțin un
extract uleios din plante, și cel puțin un supliment lipofil și un excipient hidrofил dizolvat în apă.
9 Suplimentul hidrofил poate fi chitosanul, în timp ce extractele din plante pot fi oricare dintre
sulfină, mesteacăn, trei frați pătați, roiniță sau crețișoară, sau amestec al acestora. De ase-
11 menea, cererea **RU 2004108177 (A)** descrie un agent pentru tratarea bolilor infecțioase, care
este constituit din chitosan și un extract apos din plante selectate dintr-un grup care cuprinde
13 frunze de mesteacăn sau trei frați pătați. Cererea **KR 20020046193 (A)** descrie o compoziție
pentru inhibarea angiogenezei având ca ingredient activ un extract de *Melissa*, și care mai
15 poate cuprinde în plus, într-una dintre variante, și un extract de *Melilotus officinalis*. Și cererea
KR 20120033393 (A) descrie o mască sub formă de gel, în compoziția căreia se găsește
17 chitosan, dar și sevă de mesteacăn alb, fiind utilizată în tratamente cosmetice și ale derma-
titelor.

19 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în furnizarea unei compoziții cu efect
antiinflamator și regenerativ avansat, obținut prin combinarea chitosanului cu extracte din plante
21 având un conținut bogat de aminoacizi, polifenoli și fitosteroli.

Compoziția pentru un gel antiinflamator pe bază de chitosan și extracte apoase de
23 plante, conform invenției, înlătură dezavantajele soluțiilor cunoscute prin aceea că este consti-
tuită din 15...20% chitosan, 30...40% carbopol, 0,8% trietanolamină, 2...3% glicerină și 8,25%
25 extracte reunite de sulfină, mesteacăn, trei frați pătați, roiniță și crețișoară, având un conținut
total de aminoacizi, exprimat în acid glutamic, de 0,05...0,07% și apă distilată până la 100%.

27 Chitosanul utilizat în compoziția acestui hidrogel este un constituent natural, un
biopolimer biodegradabil și biocompatibil, fiind un produs ieftin și accesibil.

29 Chitosanul este o polizaharidă liniară derivată din chitină, este polimerul existent în
exoscheletul artropodelor, cochiliile de crustacee sau cuticulele de insecte (**Muzzarelli RAA.
31 Chitin. New York: Pergamon; 1977**). Acesta este un produs ce în ultimii ani a fost studiat
extensiv, datorită biocompatibilității sale unice, biodegradabilității, stabilității în mediul natural,
33 precum și proprietăților antifungice și antibacteriene (**Muzzarelli RAA. Genipin-crosslinked
chitosan hydrogels as biomedical and pharmaceutical aids. Carbohydr. Polym. 2009; 77:
35 1-9; Kong M, Chen X.G., Xing K., Park H.J., Antimicrobial properties of chitosan and mode
of action: a state of the art review, Int. J. Food Microbiol. 2010; 144: 51-63**).

37 Fiind un bun bioadeziv, poate fi ușor cuplat cu suprafețe încărcate negativ. Prelucrat
adevat, favorizează transportul medicamentelor de-a lungul suprafețelor epiteliale. Chitosanul
39 inhibă formarea celulelor în cancerul mamar, este non-toxic și are proprietăți active în profilarea
genetică (**HemCon Medical Technologies Inc, <http://hemcon.com/2004>; Mani Prabakaran,
41 Chitosan derivatives as promising materials for controlled drug delivery, Journal of
Biomaterials Applications, 2008, vol. 23, 5-36; Scheila Honey and col., The effect of
43 chitosan molecular weight on the properties of alginate chitosan microparticules
containing - <http://www.tipr.org>.)**

RO 131198 B1

Compușii biologic activi de origine vegetală, de tipul polifenolilor și polizaharidelor, conținuți în plante, prezintă proprietăți antiinflamatoare, care au la bază capacitatea de a inhiba activitatea radicalilor liberi implicați în procesele de îmbătrânire, inflamare și în procesele degenerative și imunologice, precum cancerul, boli tot mai frecvente din cauza poluării crescute din mediu la toate nivelurile, poluare ce conduce la stresul oxidativ ce determină astfel moartea celulară și degradarea matricei extracelulare.

Datele de literatura privind plantele enumerate mai sus indică faptul că sulfina conține derivați flavonoidici cu proprietăți diuretice și antiinflamatorii, taninuri cu efect cicatrizant, melilotol (ulei volatil cu proprietăți antiseptice), cumarine și substanțe amare. Planta prezintă efect antiinflamator, antispastic, anestezic, sedativ, astringent și cicatrizant. Administrată extern, sulfina este benefică în leziuni ale pielii (răni, ulcerații, furuncule), ale mucoaselor (afte, gingivite), faringite, amigdalite, nevralgii, inflamații oculare (conjunctivite). Referitor la mesteacăn, frunzele acestuia conțin: flavone cu acțiune diuretică și antiinflamatoare, saponozide cu acțiune diuretică, taninuri cu efect cicatrizant, ulei volatil cu proprietăți antiseptice, rășini cu efect diuretic, antiseptic și de eliminare a acidului uric, glucide, vitamina C și săruri minerale. Atât frunzele, cât și scoarța conțin acizi fenolici, tanini, vitamina C și metil salicilat. Mesteacănul este menționat ca fiind un foarte bun antiinflamator (folosit în special în afecțiuni reumatismale); printre componentele active ale mesteacănului amintim glicozidele salicilice care în organism se transformă în acid salicilic (aspirina naturală). Extern se folosește în tratarea plăgilor (se pot face spălături sau cataplasme cu macerat).

Trei frați pătați conține: flavonoide, uleiuri volatile, violina, antocianozide, vitamina A și C, betacaroten, mucilagii cu acțiune emolientă, zaharuri, rășini, saponine, compuși salicilici, taninuri și rutină (cu rol în stabilizarea membranelor capilare). Are acțiune antiinflamatoare și sudorifică datorită compușilor salicilici (salicilat de metil). În uz extern, ajută la vindecarea plăgilor, furunculozelor, aftelor, stomatitelor, leucoreei, rinoreei, flebitelor etc. Crețișoara conține: tanin (6...8%), flavonozide, acid salicilic, saponine, acid stearic, acid palmitic, acid elagic, acid luteic, fitosteroli și săruri minerale. Extern, planta se folosește în următoarele afecțiuni: acnee, hemoroizi, stomatite (inflamații ale gingiilor însoțite uneori de sângerări), precum și în tratarea rănilor și plăgilor, sub formă de macerat sau cataplasme din frunze proaspete zdrobite. Are acțiune antiinflamatorie datorită conținutului de flavonozide și acid salicilic, este cicatrizantă și hemostatică, efect datorat conținutului ridicat de tanin.

O altă plantă selecționată este roinița - frunzele acestei plante conțin: ulei volatil, vitamina C (până la 15% din substanța uscată), acid ursolic, acid cafeic, acid oleanic, citrol, tanin, saponine, substanțe amare și săruri minerale. Roinița are o acțiune antiinflamatoare articulară (reumatism), antialgică (încetinind sau chiar oprind procesele degenerative), antimicrobiană, sedativă, laxativă, carminativă și antispastică. Extern planta este folosită pentru ulcerații acute și cronice, prurit, herpes, contuzii, eczeme ([http.V/www.mirabilys-magazin.ro](http://www.mirabilys-magazin.ro); <http://www.csid.ro/plante-medicinale-fitoterapice-si-gemoterapice>).

Cercetările din ultimii ani efectuate în domeniul biomaterialelor au condus la rezultate spectaculoase în ceea ce privește creșterea calității vieții populației.

În România, ca și în multe țări europene, au fost dezvoltate o serie de biomateriale destinate refacerii tisulare după accidente cu afectarea țesutului dermic, condiționate atât sub formă de membrane, cât și sub formă de creme și geluri. Piața românească abundă de astfel de produse, dintre care amintim: Cicatrizin - unguent cu tătăneasă, sunătoare, mușețel, gălbenele; unguent natural de muguri de plop; unguent cu extract de flori de nalbă. Prezenta invenție își propune realizarea unui biomaterial având în compoziția sa componente cunoscute cu efect antiinflamator, regenerativ, emolient, pe bază de chitosan și extracte de plante mai puțin investigate, cu conținut bogat în aminoacizi, polifenoli și fitosteroli.

RO 131198 B1

1 Produsul conform invenției este un material biocompatibil, higroscopic, emolient, sub
formă de gel, constituit din: chitosan cu concentrație de 50 mg/mL, carbopol în concentrație de
3 10...20 mg/mL, trietanloamină 8 mg/mL, glicerină 2,64 mg/mL și extractele de plante reunite în
proporție de 8,33% în raport la cantitatea finală a gelului.

5 Procedul de obținere a produsului conform invenției constă în amestecarea gelului de
chitosan după prealabila dizolvare a acestuia în tampon acid acetic (2M)-acetat de sodiu (1M)
7 în raport 1:1, pH = 4,5, la 40...45°C, cu soluția de carbopol în concentrație de 10 mg/mL în
diferite rapoarte molare, extractele de plante reunite și concentrate de sulfină (*Mellilotus*
9 *officinalis*), mesteacăn (*Betula verrucosa*), trei frați pătați (*Viola tricolor*), roiniță (*Mellissa*
officinalis) și crețișoară (*Alchemilla vulgaris*), cu un conținut total de aminoacizi (exprimat în acid
11 glutamic) de 0,05...0,07%, polifenoli și fitosteroli evidențiați cromatografic, soluție de etanol-
amină și glicerină. Se agită amestecul la 350 rpm, cu agitator tip Polytron, pentru o omogenizare
13 cât mai perfectă a gelului.

Invenția de față prezintă următoarele avantaje:

15 - produsul conform invenției cumulează proprietăți terapeutice antiinflamatoare și
regeneratoare puternice ale chitosanului cu cele ale principiilor active din extractele plantelor
17 studiate, permite potențarea acestor proprietăți și o bună penetrare a acestora la locul aplicării;

19 - de asemenea, substanța de bază, gelul de chitosan, cât și concentratele din plantele
adăugate sunt biocompatibile, fără să producă vreo reacție alergică la contactul cu pielea;

21 - produsul este stabil în timp, proprietățile organoleptice și de aderență nu se
modifică în timp;

23 - produsul este obținut printr-un procedeu simplu, fezabil, utilizând materii prime ieftine,
accesibile, și nu necesită aparatură și instalații complexe.

25 Se dă în continuare un exemplu nelimitative de realizare a invenției, în legătură cu
figurile. Fig. 1...3 reprezintă capacitate de întindere a gelului pentru cele trei variante de lucru
selectate.

27 **Exemplu**

29 Mod de lucru: inițial s-a preparat suspensia coloidală a biopolimerului, gelul de chitosan
1% g/v, în soluție acetică (acid acetic 2M-acetat de sodiu 1M 1:1), prin dizolvare pe baie de apă
la temperatura de 45°C și un pH final de 5,4. Separat s-a preparat gelul de carbopol în
31 concentrație 1% g/v.

33 Extractele de plante s-au obținut din plantele uscate, procurate prin rețeaua Plafar, peste
care s-a adăugat apă distilată în raport 1:13 g/v și lăsate la extracție timp de 10 zile, la
temperatura ambiantă și cu agitare ocazională. Extractele limpezi obținute prin filtrare sub vid
35 prin filtru de hârtie s-au concentrat la 1/10 din volumul inițial, cu aparat Rotavapor BUCHI, și sub
această formă au fost utilizate la prepararea gelurilor.

37 Extractele apoase obținute au prezentat următoarele proprietăți organoleptice pe baza
testelor efectuate conform prevederilor Farmacopeei Romane, Ediția a-IX-a, capitolul 2.

RO 131198 B1

Proprietățile organoleptice ale extractelor plantelor studiate

| Nr. crt. | Proba | Aspect | Culoare | Miros | Gust |
|----------|-------------------|------------------|-------------------|--|---|
| 1 | Sulfină | Ușor opalescent | Gălbui-verzui pal | Caracteristic (specific plantei) | Plăcut aromat, dulceag, tentă analgezică |
| 2 | Mesteacăn | Puțin opalescent | Galben-portocaliu | Caracteristic (specific plantei) | Aromat, dulceag, plăcut papilelor gustative |
| 3 | Crețșoară | Limpede | Maro-gălbui | Caracteristic (parfumat plăcut) | Puțin amărui, o tentă sălcie |
| 4 | Roiniță | Limpede | Galben-verde | Caracteristic (plăcut aromat) | Puțin leșios, aromat, tentă analgezică |
| 5 | Trei frați pătați | Ușor opalescent | Maro-brun | Caracteristic (specific plantei, dar se percepe și un alt miros) | Plăcut |

Aminoacizii identificați prin metoda cromatografiei în strat subțire în extractele din plantele folosite sunt prezentați în tabelul următor:

Aminoacizi identificați în extractele apoase studiate

| Nr. crt. | Aminoacizi (AA) | Rf AA | Extract apos Sulfină | Extract apos Mesteacăn | Extract apos Trei frați pătați | Extract apos Roiniță | Extract apos Crețșoară |
|----------|------------------|-------|----------------------|------------------------|--------------------------------|----------------------|------------------------|
| 1. | L-hidroxiprolina | 0,32 | + | | + | + | |
| 2. | L-arginina | 0,17 | | + | + | + | + |
| 3. | L-histidina | 0,17 | + | + | + | + | + |
| 4. | L-alanina | 0,49 | | | + | + | + |
| 5. | Valina | 0,60 | + | | + | + | + |
| 6. | L-prolina | 0,32 | + | | + | + | |
| 7. | Acid glutamic | 0,42 | + | urme | + | + | urme |
| 8. | Triptofan | 0,71 | + | | + | | |
| 9. | L-lisina | 0,14 | + | | + | | |
| 10. | L-asparagina | 0,31 | | | | | |
| 11. | L-serina | 0,36 | | + | | + | |
| 12. | Acid aspartic | 0,35 | | + | | + | + |
| 13. | L-fenilalanina | 0,68 | | | | | |
| 14. | L-tirozina | 0,68 | + | | + | | |
| 15. | L-leucina | 0,70 | | | | | |
| 16. | L-metionina | 0,56 | | | + | | + |
| 17. | L-glicina | 0,34 | | + | | | + |

RO 131198 B1

1 Conținutul de aminoacizi exprimat ca acid glutamic al extractelor de plante s-a
determinat prin metoda spectrofotometrică și este prezentat în tabelul ce urmează:

3 *Conținutul de aminoacizi (AA) exprimat în acid L-glutamic din extracte apoase*

| 5 Nr. crt. | Denumire probă | Densitatea optică (λ 530 nm) | Conținut AA (g%) |
|------------|------------------------|---------------------------------------|------------------|
| 7 1. | Sulfină | 0,107 | 0,0176 |
| 2. | Roiniță | 0,049 | 0,0080 |
| 9 3. | Mesteacăn | 0,068 | 0,0112 |
| 4. | Trei frați pătați | 0,136 | 0,0224 |
| 11 5. | Crețișoară | 0,068 | 0,0112 |
| 6. | Etalon acid L-glutamic | 0,121 | - |

13 *Gelul s-a preparat în 3 variante de lucru: Varianta 1*

| 15 Nr. crt. | Compoziție | Cantitate (mL) | Rol în formulare |
|-------------|--------------------------------------|----------------|---|
| 17 1. | Extract sulfină (tinctură) | 0,5 | agent terapeutic |
| 2. | Extract mesteacăn (tinctură) | 0,5 | agent terapeutic |
| 19 3. | Extract crețișoară (tinctură) | 0,5 | agent terapeutic |
| 4. | Extract trei frați pătați (tinctură) | 0,5 | agent terapeutic |
| 21 5. | Extract roiniță (tinctură) | 0,5 | agent terapeutic |
| 23 6. | Chitosan gel | 5,0 | agent antimicrobian, cicatrizant, antitumoral |
| 7. | Carbopol 940 gel | 10,0 | agent de creștere a viscozității |
| 25 8. | Glicerină 99% | 0,8 | agent de menținere a umidității |
| 9. | Trietanolamină 97% | 0,25 | neutralizant |
| 27 10. | Apă distilată | până la 30 | vehicul |

29 *Varianta 2*

31 S-au folosit aceleași ingrediente, aceleași cantități ca la exemplul 1, cu deosebirea că raportul molar chitosan:carbopol a fost 1:3.

33 *Varianta 3*

35 S-au folosit aceleași ingrediente, aceleași cantități ca la exemplul 1, cu deosebirea că raportul molar chitosan:carbopol a fost 1:4.

35 Caracteristicile organoleptice ale celor 3 variante de unguente sunt prezentate în tabelul următor:

RO 131198 B1

Caracteristicile organoleptice ale unguentelor

| Nr. variantă | Aspect | Consistență | Miros |
|--------------|--------------------|-------------|---------------|
| 1. | translucid | vâscoasă | caracteristic |
| 2. | translucid | vâscoasă | caracteristic |
| 3. | translucid sticlos | vâscoasă | caracteristic |

Controlul capacității de întindere, al plasticității, s-a efectuat cu metoda extensiometrică Ojeda-Arbussa, atât înainte, cât și după încorporarea substanțelor active din extractele concentrate de plante, rezultatele fiind prezentate în fig. 1...3.

Evaluarea rezultatelor obținute demonstrează buna capacitate de întindere a hidrogelurilor, care este influențată de prezența extractelor vegetale și a concentrației de carbopol.

RO 131198 B1

1

Revendicare

3

Compoziție pentru un gel antiinflamator pe bază de chitosan și extracte apoase de plante, **caracterizată prin aceea că** este constituită din 15...20% chitosan, 30...40% carbopol, 0,8% trietanolamină, 2...3% glicerină și 8,25% extracte reunite de sulfină, mesteacăn, trei frați

5

pătați, roiniță și crețișoară, având un conținut total de aminoacizi exprimat în acid glutamic de

7

0,05...0,07% și apă distilată până la 100%.

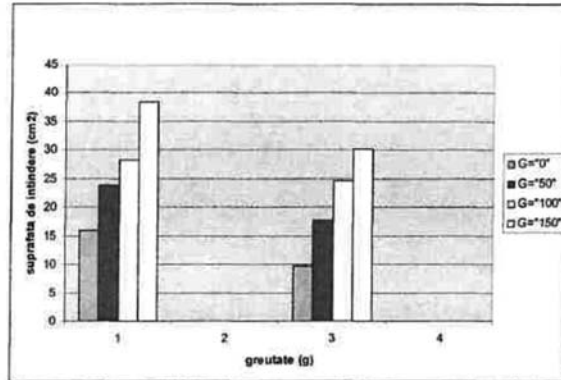


Fig. 1

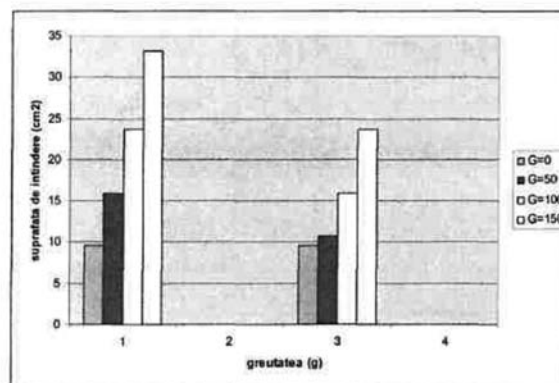


Fig. 2

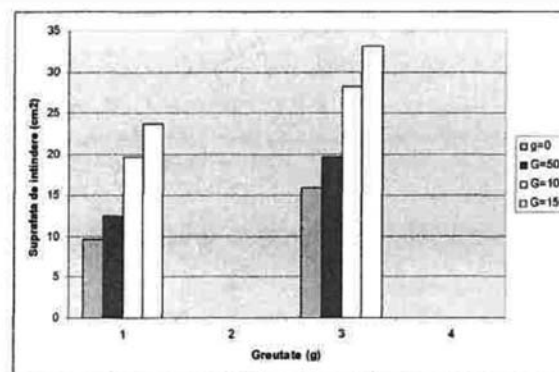


Fig. 3

