



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2017 00621

(22) Data de depozit: 07/09/2017

(41) Data publicării cererii:
30/07/2018 BOPI nr. 7/2018

(71) Solicitant:

- INSTITUTUL DE CHIMIE
MACROMOLECULARĂ "PETRU PONI" DIN
IAȘI, ALEEA GRIGORE GHICA VODĂ
NR.41 A, IAȘI, IS, RO;
- UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI
FARMACIE "GRIGORE T. POPA" DIN IAȘI,
STR.UNIVERSITĂȚII NR.16, IAȘI, IS, RO;
- UNIVERSITATEA TEHNICĂ "GHEORGHE
ASACHI" DIN IAȘI, STR. PROF. DR. DOC.
DIMITRIE MANGERON NR. 67, IAȘI, IS, RO;
- A&B PHARM CORPORATION SA,
BAHNA, BROȘTENI, NT, RO

(72) Inventatori:

- TAMBA BOGDAN IONEL,
STR.MARAMUREȘ NR.8, ROMAN, NT, RO;

- ANCUCEANU VIOREL ROBERT,
STR. MOȚOC NR.2, BL.P3, SC.3, ET.4,
AP.72, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;
- HARABAGIU VALERIA,
STR.PETRU CULIANU, NR.17,
SAȚ VALEA LUPULUI,
COMUNA VALEA LUPULUI, IS, RO;
- PEPTU CRISTIAN, X, ZAPODENI, VS, RO;
- ROTARU RĂZVAN, STR.STEJAR NR.83,
IAȘI, IS, RO;
- PEPTU CĂTĂLINA ANIȘOARA,
SAT MOIMEȘTI, COM POPRICANI, IS, RO;
- STAN CORNELIU SERGIU, STR. ȚUȚORA
NR.7C, BL.E3, SC.C, ET.3, AP.16, IAȘI, IS,
RO;
- LEON-CONSTANTIN MARIA
MAGDALENA, STR. ALISTAIR NR.2, IAȘI,
IS, RO;
- ALEXA-STRATULAT TEODORA,
STR.ANASTASIE PANU NR.17,
BL.GHICA VODĂ NR.2B, AP.27, IAȘI, IS,
RO

(54) COMPLEX AL LIDOCAINEI ÎN DERIVAT ESTERIFICAT
DE BETA-CICLODEXTRINĂ CU UTILIZARE ÎN TERAPIA
TRANSDERMALĂ A DURERII

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui sistem complex pe bază de lidocaină și derivat esterificat de beta-ciclodextrină cu utilizare în terapia transdermală a durerii. Procedeu, conform invenției, constă în încorporarea lidocainei în lipozomi prin încapsulare, în derivați de ciclodextrine drept complecși de incluziune sau în combinații între lipozomi și ciclodextrine modificate cu secvențe oligoesterice, care este apoi introdusă într-o matrice de gel polimeric de tip chitosan,

poloxamer, polisiloxani modificați, ca atare, sau în combinație, din care rezultă un sistem complex cu eliberare controlată a lidocainei cu efect anestezic rapid în intervalul 0...20 min, urmat de menținerea efectului analgezic până la 100 min, demonstrat prin curba de eliberare *in vitro*.

Revendicări: 5
Figuri: 12

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).



84

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI
Cerere de brevet de invenție
Nr. a 2017 0621
Data depozit 07-09-2017

DESCRIEREA INVENȚIEI
COMPLEX AL LIDOCAINEI ÎN DERIVAT ESTERIFICAT DE β -CICLODEXTRINĂ
CU UTILIZARE ÎN TERAPIA TRANSDERMALĂ A DURERII

Invenția se referă la noi sisteme complexe pe bază de lidocaină și derivat de ciclodextrină esterificată cu proprietăți analgezice, precum și la procedee de obținere a acestora. Sistemele complexe obținute prin încorporarea lidocainei în lipozomi prin încapsulare, în derivați de ciclodextrine drept complecși de incluziune sau în combinații inovative între lipozomi și complecși de incluziune cu ciclodextrine modificate cu secvențe oligoesterice, sunt o abordare de realizare a sistemelor de eliberare controlată, ușor adaptabilă în configurațiile de funcționare ale terapiei durerii. Formele de încapsulare ale lidocainei sunt incluse apoi în matrici polimerice sub formă de geluri pe bază de: chitosan, poloxamer, polixiloxani modificați, ca și componente singulare sau în combinații. Introducerea complexului de lidocaina în aceste formulări conferă ansamblului creat proprietățile peliculozene și raportul hidrofil-hidrofob adecvat pentru eliberarea controlată, eficiență și susținută. Utilizarea complecșilor de incluziune în sisteme de tip rezervor facilitează transferul substanței prin tegument, îmbunătățind astfel, profilul farmacocinetic la nivelul pielii. Formulările astfel sintetizate întrunesc criteriile chimice, fizice, tehnologice și biomedicale necesare unei utilizări de succes în domeniul terapiei transdermale a durerii.

Se cunosc o serie de analgezice topice cu aplicare locală de suprafață sub forma de gel, crema, spray, pansament, picături, etc. folosite în funcție de procedura de urmat [1]. Primul produs disponibil comercial a fost TAC (Trad Analgesic Cocktail), o combinație de tetracaina, adrenalina (epinefrina) și cocaina, folosit în analgezia dilacerațiilor (față și scalp) [2]. Ulterior, lidocaina a înlocuit cocaina, rezultând astfel, produsul LET (lidocaina, epinefrina și tetracaina), alternativa TAC cu o toxicitate scăzută și un cost redus [3]. În prezent, singurul anestezic local disponibil mondial pentru tegumentul integru este EMLA (Eutectic Mixture of Local Anesthetics) [4] comercializată sub formă de emulsie 5% care conține un amestec eutectic de lidocaină/prilocaină în cantități egale. Întrucât, absorbția la nivelul pielii a produselor topice este foarte variabilă, iar preparatele disponibile sunt absorbite superficial prin pielea intactă, penetrarea a fost îmbunătățită prin utilizarea amestecurilor eutectice (se topesc la temperaturi mai joase comparativ cu cele ale componentelor individuale), preparatelor lipozomale (lidocaina încapsulată lipozomal: Ela-



Max disponibilă în SUA), plasturilor percutanați (plasturele percutanate cu lidocaina/tetracaina: Synera) [5] sau prin aplicarea stratificată secvențială (lidocaină topică cu epinefrina: TLE) [6]. Iontoforeza poate fi, de asemenea aplicată, dar procedura este costisitoare și poate produce disconfort datorită senzației electrice.

Agenții anestezici locali fac parte din clasa aminoamidelor și cuprind compuși precum: lidocaina, bupivacaina, prilocaina, mepivacaina și etidocaina. Lidocaina (LID) este anestezicul local cel mai frecvent utilizat datorită eficienței și rapidității de acțiune, lipsei toxicității și sensibilității. Lidocaina blochează canalele de sodiu voltaj dependente, oprește descărcările ectopice ale fibrelor aferente fine, încetinește sensibilizarea nociceptivă periferică și hiperexcitabilitatea centrală. Lidocaina este disponibilă în multiple forme de administrare, de exemplu, plasturii cu 5% (Lidoderm®, Endo Pharmaceuticals Inc.) pentru tratamentul nevralgiei postterpetice și a altor sindroame neuropatice focale (mononeuropatii, nevralgii intercostale și durere postamputație) în care tratamentul tradițional cu antidepressive triciclice, anticonvulsivante și opioizi eșuează [7]. Mai multe studii farmacocinetice au demonstrat că absorbția sistemică a plasturelui cu lidocaina la adulții sănătoși este minimă când se aplică până la 4 unități în 12-24 ore; rata de absorbție este mai joasă la pacienții cu nevralgie postterpetică care beneficiază de un plasture cu lidocaina pură sau combinată cu alți agenți. Nu au fost observate interacțiuni cu alte medicamente și utilizarea acestora nu duce la pierderea senzorială beta-mediată la locul de aplicare [5]. Anestezicele topice, de exemplu, unguent compus din lidocaină 5%, hidroclorură de pramoxina 1% cu acetat de hidrocortizon 1%, spray de lignocaina alcoolică 5%, gel de lignocaină 1-5% și cincocaina 2%, au fost studiate pentru ameliorarea durerii perineale după naștere vaginală. Totuși, dovezile eficienței și ale efectelor pe termen lung au fost neconcludente.

În ultimii ani, administrarea de agenți adjuvanți împreună cu anestezicul local, cum ar fi, epinefrina, clonidina și dexametazona a fost raportată ca o modalitate viabilă de prelungire a acțiunii anestezicelor. O altă măsură, implică utilizarea matricelor de eliberare, cum ar fi lipozomii, microemulsii, microsferile, microcristalele, hidrogelurile reticulate și/sau termosensibile, nanogelurile termosensibile, nanoparticulele, soluțiile apoase de polimeri, matricele polimerice de tip lichid sau solid, filmele bioadezive, rețelele polimerice interpenetrante, particulele de tip lipidă-proteină-zahăr, polimeri pe bază de dimeri ai acizilor grași și granulele ceramice [8].



Conform literaturii de specialitate dezvoltarea sistemelor pe bază de anestezici locali reprezintă un domeniu cu potențial de dezvoltare semnificativ, datorită complexității acestora, cu aspecte încă neelucidate.

Sistemele cu eliberare controlată sunt dispozitive capabile să încorporeze și livreze organismului uman o anumită cantitate de substanță activă, în scopul obținerii unui efect terapeutic crescut prin controlul ratei și timpului de eliberare, precum și locul de acțiune. Obiectivul principal al sistemelor cu eliberare controlată este menținerea unei concentrații constante a compusului biologic activ, care ar trebui să fie între concentrația minimă efectivă și cea toxică pe o perioadă lungă de timp.

În dezvoltarea sistemelor de administrare percutanată există o serie de factori care modulează cinetica de eliberare a compusului biologic activ încapsulat într-un vehicul de eliberare controlată, cum ar fi: structura chimică a moleculei imobilizate, tipul rețelei polimerice care realizează vehiculul, aditivii utilizați pentru obținerea sistemului și posibilele interacțiuni chimice [9]. Astfel, datorită standardelor clinice crescute, pentru ca un sistem cu eliberare controlată să fie viabil, trebuie să respecte cerințele de selectivitate, biodisponibilitate, biodegradabilitate, toxicitate redusă, bioactivitate crescută, timp prelungit de acțiune și costuri reduse.

Lipozomii, cele mai utilizate sisteme cu eliberare controlată, sunt vezicule lipidice care încadrează pe deplin un volum apos. Aceste particule coloidale sunt constituite în mod obișnuit din fosfolipide cu sau fără aditivi și sunt formate din straturi concentrice biomoleculare, capabile să încapsuleze medicamente. Lipozomii acționează prin penetrarea epidermei, transportând medicamentul prin straturile pielii în circulația periferică. Pentru a crește gradul de utilizare a acestora, literatura relatează folosirea unei varietăți de polimeri, cei mai utilizați fiind poli-(etilen glicol) (PEG), poli-(N-vinil-piroidonă) (PVP), poli-(vinil alcool) (PVA), polioxazolin (Pox) sau poli-(acid acrilic) (PAA).

Polimerii folosiți în sistemele de administrare percutanată trebuie să fie biocompatibili și compatibili chimic cu medicamentul și alte componente ale sistemului, precum stimulatorii de penetrare, să asigure o livrare eficientă și constantă a medicamentului pe toata durata perioadei de administrare și de valabilitate a preparatului [10].

Chitosanul, derivatul diacetilat al chitinei, are numeroase proprietăți precum biocompatibilitatea, biodegradabilitatea, nontoxicitatea și activitatea antimicrobiană. Chitosanul are proprietățile necesare pentru a fi folosit drept excipient farmaceutic, fiind



utilizat în studiile de eliberare controlată și țintită a majorității claselor de molecule bioactive. Aceste proprietăți fac din chitosan unul dintre cei mai promițători biopolimeri în ingineria tisulară, prepararea pansamentelor pentru plăgi, terapie genică și transport de medicamente [11]. În ultimii ani au fost întreprinse eforturi considerabile pentru a îmbunătăți proprietățile tehnice ale chitosanului prin derivare. De exemplu, hidrogelurile chitosan-laurat și chitosan-miristat îmbunătățesc difuzia medicamentului liofilizat la nivelul pielii în raport cu hidrogelurile chitosan-palmitat și chitosan-stearat. Acest fapt poate fi explicat prin interacțiunea hidrogelurilor cu stratul cornos, crescând astfel, solubilitatea medicamentului la nivelul pielii [12].

Polisiloxanii, sunt polimeri sintetici intens studiați pentru aplicații biomedicale. Oligodimetilsiloxani (ODMS) substituiți cu 2-pirolidona la un capăt al lanțului, au dovedit abilități de potențator al penetrării transdermice. Activitatea de potențare este influențată de lungimea catenei macromoleculare siloxanice și de structura chimică a grupărilor finale. Raportul între lanțul hidrofob și gruparea finală polară este de asemenea un factor decisiv pentru activitatea de potențare a penetrării medicamentelor [13].

Poloxamerii, sunt copolimerii tribloc poli(etilen oxid-propilen oxid) (PEO-PPO-PEO), cunoscuți și sub numele de Pluronic®, cu proprietăți tensioactive, utilizați pe scară largă în sistemele farmaceutice. Soluțiile apoase concentrate de Pluronic prezintă două tranziții de fază termo-reversibile odată cu creșterea temperaturii: tranziția sol-gel și gel-sol. Hidrogelurile pe bază de Pluronic prezintă o vâscozitate considerabilă, o rigiditate parțială și o oarecare persistență în timp, datorită împachetării în structuri micelare ordonate și întrepătrunderilor intermicelare. Încapsularea lidocainei în nanoparticulele biodegradabile de Pluronic F-127- policaprolactona determină, de exemplu, anestezie de infiltrație prelungită la șobolani fără toxicitate severă, indicând o posibilă cale de dezvoltare a unor anestezice locale persistente în timp [14, 15]. Unguentele cu conținut de lidocaină sau pentamidă pe bază de Pluronic F-127 aplicate topic pe pielea de porc s-au dovedit a produce efecte benefice [16].

Fezabilitatea strategiilor de eliberare bazate pe geluri de poloxamer este limitată de dizolvarea relativ rapidă în condiții fiziologice. Au fost explorate diverse soluții pentru depășirea acestui inconvenient, concentrându-se pe îmbunătățirea rezistenței, adeziunii și timpului de permanență a sistemelor poloxamerice, fie prin modificarea structurilor lor, fie



prin încorporarea substanțelor polimerice mucoadezive precum chitosanul care prezintă o bună biocompatibilitate și biodegradare [17-20].

Ciclodextrinele (CD) sunt utilizate în special pentru îmbunătățirea solubilității în apă și a stabilității medicamentelor. Ciclodextrinele de relevanță farmaceutică conțin 6, 7 sau 8 molecule de dextroza (α -, β -, γ -ciclodextrină) legate într-o configurație 1,4 pentru a forma inele de diferite diametre sau derivați de β -ciclodextrină cu solubilitate crescută în apă, cum este hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β -CD). Moleculele ciclice au un exterior hidrofил și o cavitate lipofilă în care moleculele organice cu dimensiuni corespunzătoare pot fi incluse pentru a forma complecși de incluziune necovalenți, cu solubilitate crescută în medii apoase. Un studiu de literatură recent [21] analizează influența concentrației CD asupra capacității de penetrare transdermală a complecșilor CD-medicament. Penetrarea scade cu creșterea concentrației CD. Îmbunătățirea penetrării pielii de către ciclodextrine a fost atribuită, de asemenea, și extracției lipidelor din stratul cornos [22].

Conceptul asocierii CD-urilor cu lipozomi constă în încapsularea complexului de incluziune CD-medicament în lipozomi, combinând astfel avantajele oferite de CD (creșterea solubilității medicamentelor), și de lipozomi (acțiunea țintită a medicamentelor și creșterea permeabilității) într-un singur sistem, evitând astfel problemele asociate cu fiecare sistem în parte [23-26]. De exemplu, complexarea ketoprofenului cu CD a crescut solubilitatea medicamentului, și a îmbunătățit stabilitatea încapsulării în faza apoasă internă a veziculei, conferind un control mai bun al eliberării acestuia fără a modifica proprietățile de permeabilitate prin piele [27]. O abordare diferită implică încorporarea medicamentelor lipozomale în gelul F127, crescând astfel, cantitatea de medicament încorporat și eliberarea lentă a medicamentului în comparație cu gelul pur. De aceea, un sistem conținând atât F127, cât și lipozom este de mare interes pentru a combina proprietățile de termogelificare ale F127 și abilitățile transportoare ale lipozomului. În primul rând, viteza dorită de eliberare a medicamentului din această formula de gel lipozomal ar putea fi obținută prin încorporarea unei cantități optime de lipozomi conținută în gel, în loc de creșterea concentrației F127. Lipozomul poate reprezenta nu numai un mod de a crește încărcătura medicamentelor lipofice în geluri, dar poate și acționa ca un rezervor pentru eliberarea lentă și constantă a medicamentului [28, 29].

Caracterul hidrofил/hidrofob al sistemele de administrare percutanată determină o variație a structurii și a procentului polimerilor în compoziția peliculelor, pentru un control



eficient al caracteristicile de eliberare a medicamentului. Prezența hidroxi-propyl- β -ciclodextrinei (HP β -CD) în gelurile de poloxamer afectează atât temperaturile de gelificare și micelizare cât și elasticitatea probelor finale prin schimbarea deosebită a microstructurii probelor gelificate. Această influență reciprocă a deschis calea explorării câtorva sisteme poloxamer 407/HP β -CD pentru a crea diverse sisteme de administrare percutanată, care reunes bine cunoscutele proprietăți ale ciclodextrinei și comportamentul de termogelificare al poloxamerului [30-32].

Printre aceste opțiuni, sistemul de administrare pe bază de lipozomi Exparel®, lipozom multivezicular pe bază de bupivacaină, a fost aprobat pentru uz uman. Concluziile studiului pe modelul șobolan au dovedit eficiența sistemului: durata de acțiune de blocare a nervului sciatic a fost aproximativ dublă (4 ore, față de 2 ore cu bupivacaina), datorită eliberării susținute a bupivacainei din lipozomi [8].

Cele mai relevante studii pentru prezenta invenție sunt prezentate în continuare. Abdelkader și alții [33] au sintetizat hidrogeluri cu potențiale aplicații analgezice în rănilor traumatiche, compuse din alcool polivinilic reticulat cu anioni de tetrahidroxiborat și diferite concentrații de lidocaină clorurată. Rezultatele obținute au arătat că hidrogelurile nu induc un efect anestezic rapid datorită gradului redus de încorporare și cineticii de eliberare scăzute. Anirudhan și alții [34] au obținut un nou plasture transdermal pe bază de lidocaină dispersată uniform într-o matrice polimerică complexă ce conține acid hialuronic legat covalent cu 3-(dimetilamino)-1-propilamină și chitosan grefat cu glicidil metacrilat și butil metacrilat. Studiile de eliberare *in vitro* au arătat posibilitatea utilizării acestui dispozitiv medical doar la pH 5,5 cu o cinetică de eliberare de până la 56% în primele 12 ore, urmat de un platou până la 24 ore. Un studiu mai recent dezvoltă un anestezic local injectabil sub formă de gel pentru managementul durerii post-operatorii, bazat pe lidocaină și un amestec de poliamină-b- poli(etilen glicol)-b-poliamină cu radicali nitroxidici legați de lanțurile de poliamine prin interacțiuni electrostatice sub forma miceliilor. Efectul îndelungat și accentuat rezultat în urma studiilor *in vivo* au demonstrat eficiența sistemului [35]. Un complex de lidocaină și ioni multivalenți a fost sintetizat în scopul obținerii unui sistem anestezic cu efect prelungit. Rezultatele experimentelor *in vitro* și *in vivo* au indicat faptul că acest complex facilitează eliberarea prelungită a lidocainei chiar și fără adjuvanți, asigurând astfel blocarea nervului pentru o durată lungă de acțiune (>14 ore) fără o creștere suplimentară a neurotoxicității [8].



În ciuda rezultatelor promițătoare privind prelungirea duratei anesteziei prin utilizarea adjuvanților și matricilor de eliberare, anumite obstacole trebuie să fie depășite înainte ca acești agenți să fie aplicați pe scară largă. Astfel de obstacole includ durata insuficientă de acțiune și faptul că efectele anestezicului nu sunt reproductibile datorită diferitelor tipare de eliberare cu fiecare lot de fabricație.

Principalele dezavantaje ale analgezicelor topice complexe pe baza de lidocaină raportate până în prezent limitează succesul terapeutic prin:

- eficiența variabilă (în funcție de doză și timp);
- efecte sistemice și deteriorarea cognitivă;
- toxicitatea variabilă pe o perioadă lungă de timp;
- impermeabilitatea percutanată redusă datorată variabilității absorbției produselor topice;
- durata scăzută de acțiune și necesitatea administrării dozelor repetate, care pot produce infecții, dureri musculare, etc.

Cele mai asemănătoare sisteme complexe pe bază de anestezice locale pentru terapia transdermală a durerii au fost realizate astfel:

- anestezic local cu efect pronunțat și durată extinsă de acțiune compus din lidocaină (2-5% în soluție salină) sau bupivacaina (0,5-0,75% în soluție salină) complexat cu 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina (grad de substituție 40% și concentrație de 0,02-10%) [36];
- soluții apoase pe bază de anestezice locale de tipul, lidocainei, bupivacainei, dibucainei sau tetracainei (sub formă de acid sau sare, concentrație cuprinsă în 0,02-0,05%) complexate cu: ciclodextrina sau derivați ai acesteia și acidul salicilic, încorporat cu scopul îmbunătățirii efectului anestezic pe o perioadă îndelungată de timp [37];
- complex bazat pe incluziunea benzocainei în γ -ciclodextrină în vederea formulării unui anestezic local pentru ameliorarea durerii de suprafață [38].

Problema tehnică pe care își propune să o rezolve invenția este obținerea unor sisteme complexe derivate pe bază de lidocaină cu proprietăți analgezice, care să permită îmbunătățirea compliancei pacienților față de tratamentul medical prin ameliorarea durerii, cu mai puține efecte adverse asupra sistemului nervos central și un regim medicamentos minim, eficientizarea dozei medicamentelor între siguranță și eficiență prin terapie medicamentoasă individualizată, precum și posibilitatea administrării controlate.

Soluția problemei tehnice constă în dezvoltarea unor formulări medicamentoase bazate pe combinarea unei multitudini de potențiatori de penetrare (ciclodextrine modificate cu



secvențe oligoesterice, lipozomi, polisiloxani funcționalizați) capabili să crească biodisponibilitatea și difuzivitatea lidocainei în straturile pielii prin mecanisme diferite. Lidocaina este încapsulată inițial în lipozomi, derivați de ciclodextrine drept complecși de incluziune și, de asemenea, într-o combinație inovativă între lipozomi și complecșii de incluziune, care apoi este introdusă într-o matrice de gel polimeric (chitosan, polixiloxani, poloxamer) proiectată în mod specific pentru a asigura echilibrul hidrofil/hidrofob adecvat și aderența la piele. Întreg ansamblu va fi capabil să livreze transdermal compusul analgezic într-o manieră eficientă și susținută. Noutatea invenției constă în utilizarea ciclodextrinelor modificate cu oligoesteri pentru încapsularea lidocainei, tehnica neutilizată în acest scop până la momentul actual.

Principalele avantaje ale invenției propuse sunt:

- eliberarea controlată a lidocainei („burst effect”- efect anestezic pronunțat în intervalul 0-20 minute urmat de eliberare controlată până la 100 minute, demonstrat prin curba de eliberare *in vitro*) și administrarea nedureroasă a diverselor preparate medicamentoase (geluri);
- capacitate îmbunătățită de încorporare a lidocainei (încapsulare în lipozomi și CD);
- toxicitate redusă datorită compușilor de formare a vehiculelor (screening animale utilizate în studiu);
- timp rapid și îndelungat de acțiune comparativ cu compusul de bază (eliberare *in vitro*, efect analgezic/anestezic determinat prin stimulare nociceptivă cu ajutorul testelor: placa încinsă, placa rece și algezimetric);
- costuri reduse de utilizare la scară largă (materiale de sinteză cu cost redus);
- metode inovative, ușor adaptabile de încapsulare a lidocainei.

Conform invenției, etapa inițială de obținere a sistemelor complexe pe bază de lidocaină implică încorporarea medicamentului în lipozomi, în derivați de ciclodextrine (complecși de incluziune) și într-o combinație între lipozomi și complecșii de incluziune. Acești compuși reprezintă baza compoziției formulărilor farmaceutice care să permită aderența la piele, transportul controlat și nontoxicitatea, în condițiile difuziei locale a principiului activ.

Descrierea procedeelelor de încorporare a lidocainei:

- **sisteme complexe de tip CDLA-LID:**



Inițial, compusul CD a fost modificat cu secvențe de oligoesteri alifatici grefați pe grupări hidroxil prin reacția de oligomerizare de tip deschidere de ciclu a lactidei inițiată de β -ciclodextrină, cu un raport molar de unități de lactida/ciclodextrină de 3, obținând astfel, ciclodextrină modificată cu unități de oligolactidă (CDLA) cu mase moleculare de 1566 g/mol. Reacția de oligomerizare a fost demonstrată prin analiza spectrelor ^1H RMN și ESI-MS (Figurile 1, 2). Se observa ca ciclodextrina a fost funcționalizată cu un număr variabil de unități de lactidă de la 1 (2 unități de acid lactic) [$1296 = 1134(\text{CD}) + 144(\text{LA}) + 18(\text{NH}_4^+)$] la 6 (12 unități de acid lactic) [$2016 = 1134 + 144 \cdot 6 + 18$]. Astfel, lungimea medie a lanțurilor de oligolactidă este de 6 unități de acid lactic.

Prepararea complexelor CDLA-LID implică optimizarea procedurii de amestecare mecanică, și anume, malaxare în sistem deschis și măcinare în moara cu bile în sistem închis. Conform rezultatelor obținute, procedeul de malaxare în sistem deschis a fost considerat optim, deoarece, măcinarea în moara cu bile în sistem închis nu a permis evaporarea succesivă a solvenților în timpul amestecării, astfel, au apărut complicații suplimentare la faza de separare a complexelor, iar produsele rezultate au constat în amestecuri de complexe CDLA-LID și componenți liberi.

Într-o procedură experimentală tipică, soluțiile de CDLA ($M=1566$ g/mol; 173,3 g în amestec de 200 mL etanol de uz farmaceutic și 66,7 mL apă distilată) și LID ($M=234,34$ g/mol; 26,7 g în 135 mL etanol) au fost preparate în două vase separate, prin agitare (agitator ancora, 200 rot/min) timp de 10 minute. Soluția de LID a fost apoi adăugată încet timp de 10 min, sub agitare continuă peste soluția de CDLA. Amestecul a fost transferat într-un malaxor cu capacitatea de 1 L și malaxat timp de 2 ore la temperatura de 25°C , în sistem deschis. După aproximativ 30 min de malaxare, soluția devine lăptoasă și la sfârșitul perioadei de malaxare capătă aspect de pastă semisolidă prin pierderea progresivă a solvenților. A urmat uscarea acesteia în etuva de vid (0,1 mm Hg) la 40°C , timp de 6 ore care a condus la formarea unei pulberi fine de complex CDLA-LID, cu un randament de 98% datorat hidrolizei parțiale a CDLA în timpul procesului de complexare și pierderii prin evaporare a unei cantități din acidul lactic astfel format, pe parcursul procesului de uscare. Parametrii luați în considerare, și anume, timpul de malaxare, temperatura și perioada de uscare sub vacuum, pentru realizarea cu succes a procesului de obținere a complexelor CDLA-LID au fost optimizați în urma testelor efectuate.



Compoziția CDLA/LID a fost dovedită la nivel molecular prin spectrometrie RMN (Figura 3) și prin fragmentare MS/MS (Figurile 4A și 4B). Astfel, în spectrul RMN sunt vizibile picurile de rezonanță ale tuturor componentelor, iar din spectrul MS/MS se observă că fragmentarea ionului părinte cu $m/z=1657$ [$1657=1134(\text{CD})+144*2(\text{LA})234(\text{LID})+1(\text{H}^+)$] conduce la apariția unui fragment având masa LID [$235=234(\text{LID})+1(\text{H}^+)$] confirmând includerea LID în CDLA.

Solubilitatea LID în apă crește considerabil în prezența CDLA, după cum se poate observa din diagrama de solubilitate din Figura 5A. De asemenea, stoechiometria de complexare a fost determinată ca fiind 1:1 după cum rezultă din figura 5B construită cu ajutorul curbei de etalonare (dependența absorbantei UV a LID de concentrația LID în apă, $R^2=0.999$). Constanta de stabilitate a complexelor de incluziune a fost determinată ca fiind $\sim 1,8*10^5 \text{ M}^{-1}$.

- sisteme complexe de tip LID- lipozomi și CDLA-LID- lipozomi

Complexii de incluziune CDLA-LID au fost încorporați în sisteme de tip rezervor (lipozomi). Două tipuri de lipozomi, unilamelari mici (SUV) și cu vezicule multilamelare (MLV) au fost obținuți și utilizați datorită simplității și reproductibilității procedeelelor de preparare prin hidratarea filmelor lipidice urmată de sonicare sau extrudare. În faza apasă a ambelor tipuri de lipozomi s-au dispersat complexii de incluziune de tip CDLA-LID, dovedind dependența de încapsulare a complexilor în funcție de tipul de lipozomi utilizați. Drept lipide s-au utilizat atât fosfolipidele (fosfatidil colina) precum și combinații între fosfolipide și colesterol, acesta din urmă fiind introdus cu scopul principal de a îmbunătăți stabilitatea lipozomilor în timp. Atât lipozomii obținuți cât și sistemele complexe de tip lipozomi/ciclodextrină-lidocaină au fost caracterizați fizico-chimic, demonstrând fezabilitatea procedurii de obținere. Forma și lamelaritatea au fost determinate prin tehnici de microscopie SEM evidențiind un diametru mediu de $2,150 \mu\text{m}$ pentru lipozomii MLV (Figura 6).

Într-o primă etapă, lipozomii multilamelari (MLV) au fost preparați prin metoda hidratării filmelor lipidice subțiri. Pentru aceasta, 100 mg de lipide (60 mg fosfolipide (PC (fosfatidil colina) sau DSPC (1,2-distearoil-sn-glicerol 3-fosfocolina) și 40 mg colesterol (Chol) se dizolvă în 10 mL amestec cloroform/metanol (2/1, v/v), puritate 99,5%). Amestecul de solvenți este apoi evaporat sub vacuum dintr-un balon cu fundul rotund cuplat la un evaporator până când se formează un film subțire de lipide. Filmul lipidic este apoi hidratat cu un anumit volum de soluție tampon fosfat sau cu soluție de LID sau CDLA-LID (10 mL



soluție de LID-CDLA de concentrație 52,5 mg/mL). Hidratarea filmului lipidic se realizează la o temperatură de 25°C în cazul utilizării PC sau de 60°C pentru DSPC. După completa hidratare, în timpul căreia se formează lipozomii, suspensia de lipozomi este apoi supusă ultrasonării pe o baie de ultrasonare timp de 30 de minute pentru eliminarea agregatelor. Lipozomii MLV sunt apoi purificați prin cicluri repetate de centrifugare/spălare.

Lipozomii (SUV) au fost preparați prin ultrasonarea suspensiei de lipozomi de tip MLV cu ajutorul unei sonde de sonicare timp de 1-2 cicluri până când suspensia devine complet transparentă. Suspensia de lipozomi SUV a fost apoi centrifugată la 15 000 rpm timp de 10-15 minute cu scopul precipitării fragmentelor de titan rezultate prin desprinderea din sonda de ultrasonare din cauza intensității mari utilizate. În final lipozomii au fost incubați timp de 1-2 ore la o temperatură peste temperatura de tranziție termică (25°C pentru PC și 60°C pentru DSPC) pentru normalizarea defectelor structurale din membranele lipozomale. Separarea lipozomilor de LID neincapsulată a fost realizată prin centrifugare în cazul MLV (3 cicluri la 15 000 rpm timp de 40 minute) și prin cromatografia de excludere a masei moleculare (SEC) utilizând o coloană de 1x30cm Sephadex G-50 eluată cu soluție tampon fosfat, pH 7,4. Lipozomii au fost apoi stocați la o temperatură de 4°C înainte de utilizare.

Lipozomii au fost studiați din punct de vedere al dimensiunii și al distribuției dimensionale iar rezultatele considerate optime sunt prezentate în Tabelul 1. Datorită solubilității complexului CDLA- LID în apa și distribuției acestuia în interiorul compartimentului apos al lipozomilor, nu există variații de dimensiune între lipozomii simpli și cei încărcăți. Studiile de morfologie au fost efectuate doar pe lipozomii de tip MLV, lipozomii de tip SUV nu au putut fi analizați prin microscopie electronică de baleiaj din cauza instabilității acestora. Figurile 6 și 7 compara morfologia lipozomilor MLV puri și încărcăți cu CDLA-LID.

Tabelul 1. Distribuția dimensională a lipozomilor

Compoziția în lipide	Diametrul mediu (nm)	
	Lipozomi SUV	Lipozomi MLV
PC-Chol	112 (\pm 5,6)	2250 (\pm 45,8)
DSPC-Chol	132 (\pm 6,3)	3347 (\pm 73,2)

În continuare sunt prezentate 3 exemple de aplicare a invenției în vederea obținerii formulărilor farmaceutice cu proprietăți analgezice pe bază de complecși ai lidocainei și ciclodextrinei:



Exemplul 1: Sisteme lichide de complecsi CDLA-LID integrate într-un gel de chitosan

Administrarea transdermală și efectuarea studiilor de analiză preclinică, implică integrarea complexilor CDLA-LID în geluri pe bază de chitosan. Studiile preliminare au luat în considerare obținerea de preparate sub forma de solutie. LID și CDLA-LID au fost dizolvați în soluții cu pH acid de 2% chitosan (Chi, viscozitate Brookfield, 200 000 cPs; grad de deacetilare de aproximativ 80%) și 2% acid lactic. Au fost preparate soluții cu LID în concentrații de până la 5%. S-a constatat o disoluție totală a LID precum și a complexilor de tip CDLA.

Exemplul 2: Sisteme solide de complex CDLA-LID integrate în gel de chitosan (CHI/CDLA-LID)

Administrarea transdermală a complexilor CDLA-LID presupune încorporarea acestora într-o formulare farmaceutică care să permită aderența la piele în condițiile difuziei locale a principiului activ și stabilitatea la stocare a preparatului. Procesul de obținere a unui produs final în stare solidă implică dispersarea a 200 g complex CDLA-LID prin agitare (agitator ancora, 300 rot/min), timp de 10 min, la temperatura camerei în 540 g soluție apoasă 2% chitosan și 2% acid lactic. Dispersia vâscoasă obținută se supune imediat procesului de liofilizare (presiune, 0.045 mbar; temperatura, -50°C; timp 24 ore).

Produsul obținut sub formă de pulbere fină, albă se stochează la temperatura camerei, ferit de contactul cu aerul atmosferic. Testat după 12 luni, a demonstrat faptul că CDLA-LID își păstrează integritatea structurală în urma condiționării în chitosan, în stare uscată. Metoda de condiționare menționată permite obținerea rapidă a unui gel prin simpla mixare cu o cantitate prestabilită de apă.

Aceste sisteme au fost testate, *in vitro* pentru determinarea eficienței de eliberare a lidocainei, prin membrană de dializă utilizând un dispozitiv de tip Franz Cell. Cinetica de eliberare rapidă de până la 20 minute și menținerea efectului analgezic mai mult de 100 minute sunt prezentate în Figura 8 comparativ cu produsul comercial EMLA (cremă sub formă de emulsie ulei (amestec eutectic de lidocaina bază și prilocaină în proporții egale) în apă în raport de 1:1).

Exemplul 3: Sisteme complexe de tip CDLA-LID integrate în geluri PCP (poloxamer-chitosan-polixilosan)

O prima etapă este reprezentată de prepararea gelurilor poloxamer-chitosan (Pol/Chi) și poloxamer-chitosan-polisiloxan (Pol/Chi/PSi) pentru a beneficia de modificarea morfologiei și fluidității gelului cu temperatura, indusă de prezența poloxamerului și de creșterea capacității de transport transdermic a principiului activ din gel, proprietate furnizată de polisiloxan. Cele două tipuri de geluri au fost obținute folosind diferite rapoarte masice între componentele poloxamer, chitosan și polisiloxan (Tabel 2). Inițial au fost obținute două soluții: o soluție apoasă 25% de poloxamer (Pol) (Pluronic F127) și o soluție 2% chitosan (Chi), (vâscozitate Brookfield, 200000 cPs, grad de deacetilare 76 %) în amestec apos: 2% acid lactic, pH 4. Cele două soluții se răcesc la temperatura de 5°C, se amestecă pe baie de gheață prin agitare magnetică (300 rot/min) timp de o oră și sunt apoi liofilizate. Pentru obținerea gelurilor poloxamer-chitosan-polisiloxan, în faza de amestecare se adaugă și polisiloxanul (PSi cu masa moleculară $M_n = 1260$ g/mol) în cantitate de 1% față de chitosan.

Tabelul 2. Compoziția și aspectul gelurilor POL/CHI și POL/CHI/PSi

Cod probă	Raport masic Pol/Chi(substanța uscata)	Aspect	
		La $t > 6^\circ\text{C}$	La $t < 6^\circ\text{C}$
Pol/Chi _a	60/1	Fluid	gel
Pol/Chi _b	30/1	Fluid	Fluid vâscos
Pol /Chi _c	20/1	Fluid	Fluid vâscos
Pol /Chi _d	15/1	Fluid	Fluid vâscos
Pol /Chi _e	10/1	Fluid	Fluid vâscos
Pol /Chi/PSi _a	60/1	Fluid	Gel
Pol /Chi/PSi _b	30/1	Fluid	Gel
Pol /Chi/PSi _c	20/1	Fluid	Gel
Pol /Chi/PSi _d	15/1	Fluid vâscos	Fluid vâscos
Pol /Chi/PSi _e	10/1	Fluid vâscos	Fluid vâscos

După studiul de optimizare a formulării gelurilor de tip PCP, a urmat etapa de preparare gelurilor PCP încărcate cu diverse formulări ale lidocainei (compusul CDLA-LID). Studiile de obținere a acestor tipuri de geluri a fost bazat pe cantitatea maximă de CDLA-LID ce poate fi solubilizată în soluțiile de Pol/Chi și Pol/Chi/PSi (Tabelul 3). Se observa o



creșterea a cantității de complex CDLA-LID ce poate fi solubilizată în gel odată cu scăderea conținutului în poloxamer.

Așa cum se observă din datele Tabelului 2, probele Pol/Chi își păstrează capacitatea de gelificare la temperaturi scăzute doar pentru rapoarte poloxamer/chitosan de 60/1. Descreșterea acestui raport în favoarea chitosanului determină pierderea acestei proprietăți. Tehnica SEM evidențiază faptul că gelurile Pol/Chi sunt poroase (Figura 9), iar dimensiunea porilor variază în funcție de raportul Pol/Chi.

Adăugarea de cantități foarte mici de polisiloxan hidrofob conduce la lărgirea domeniului de concentrații în care sensibilitatea la temperatura a gelului este păstrată (până la rapoarte poloxamer/chitosan de 20/1). Introducerea de polisiloxan accentuează segregarea în microfaze a amestecului și modifică suplimentar porozitatea gelurilor (Figura 10). Este evidentă micșorarea porilor aproximativ hexagonali caracteristici chitosanului, în special la gelurile cu conținut mai mic de chitosan.

Tabelul 3. Compoziția gelurilor POL/CHI și POL/CHI/PSi încărcate cu CDLA-LID

Cod proba	Cantitate maxima de CDLA-LID (g/g, gel)
Pol/Chi _a	0.238
Pol/Chi _b	0.197
Pol/Chi _c	0.183
Pol/Chi _d	0.467
Pol/Chi _e	0.470
Pol/Chi/PSi _a	0.567
Pol/Chi/PSi _b	0.688
Pol/Chi/PSi _c	0.751

Exemplul 4: Sisteme complexe de tip lipozomi MLV încărcăți cu CDLA-LID integrați într-un gel de chitosan (Chi/MLV-CDLA-LID)

Într-o procedură experimentală tipică, etapa de preparare a complexului multiplu implică amestecarea lipozomilor MLV încărcăți cu CDLA-LID (9,7 mg) cu 1 mL soluție 2% de Chi dizolvat în acid lactic (2%). Aceste sisteme au fost testate, *in vitro* pentru determinarea eficienței de eliberare a lidocainei, prin membrană de dializă utilizând un dispozitiv de tip Franz Cell. Cinetica de eliberare rapidă de până la 20 minute și menținerea efectului analgezic



mai mult de 100 minute sunt prezentate în Figura 8 comparativ cu produsul comercial EMLA (cremă sub formă de emulsie ulei (amestec eutectic de lidocaina bază și prilocaină în proporții egale) în apă în raport de 1:1) care nu prezintă efect "burst" și are o eficiență mai mică de eliberare la 100 minute.

Analizând eficiența de eliberare a celor trei formulări testate *in vitro* observăm superioritatea în condițiile date ale formulărilor LID pe bază de complecși și/sau lipozomi față de produsul comercial EMLA.

Demonstrarea utilizării derivaților de **CDLA-LID** în terapia transdermală a durerii

Teste farmacodinamice pe animale

Efectele derivaților de CDLA-LID (CDLA-LID 2,5%, CDLA-LID-lipozomi, Chi/CDLA-LID și Chi/MLV-CDLA-LID) comparativ cu gelul de lidocaină de 2,5% și crema EMLA (componenți: lidocaina 2,5% și prilocaină 2,5%) au fost studiate la diferite intervale de timp utilizând șobolani Wistar, adulți, cu o greutate asemănătoare, ținută în aceleași condiții de lumină și umiditate, hrană și apă. Toate experimentele au efectuate în acord cu normele de etică în vigoare, conform recomandărilor Comisiei Europene privind realizarea studiilor preclinice cu produse medicamentoase, normelor și protocoalele analitice, farmacotoxicologice și clinice referitoare la testarea medicamentelor (Ordin 906/25.07.2006), Comisiei de Etică a Asociației Internaționale pentru Studiul Durerii (IASP), și pe baza avizului din partea Comisiei de Etică a Universității de Medicină și Farmacie Gr.T. Popa, Iași.

Studiile *in vivo* au fost efectuate pe pielea șobolanilor fără păr, îndepărtat prin combinația de ras și aplicare de cremă epilatoare. Inițial s-a dezvoltat modelul de hiperalgezie inflamatorie cu carrageenan conform literaturii de specialitate [40], urmată de etapa de administrare a gelurilor/cremei la nivelul pielii depilate din regiunea toracică posterioară timp 1 minut în fiecare oră timp de 4 ore. Efectul anestezic al compuşilor testați comparativ cu crema comercială EMLA a fost determinat prin stimulare nociceptivă cu ajutorul testelor: placă încinsă (Hot Plate), placă rece (Cold Plate) și algezimetric. Șobolanilor le-a fost testat răspunsul la aceste teste la momentul bazal, la 30 minute după aplicarea cremei/gelului la nivelul labei posterioare drepte, la 1 ora și din ora în ora până la 4 ore. Concluziile testelor *in vivo* efectuate demonstrează efectul analgezic al compuşilor derivați de CDLA-LID, cu precădere compusul Chi/CDLA-LID și Chi/MLV-CDLA-LID comparativ cu EMLA. La testarea algezimetrică, complexul Chi/CDLA-LID intra în acțiune lent până la 15 minute de la administrare și are efect maxim în intervalul 15-30 de minute, apoi efectul se diminuează



dar nu dispare nici măcar la 2 ore (Figura 11), efect net superior raportat la efectul cremei EMLA. Rezultatele obținute la analgezimetru au fost verificate și prin testul Cold Plate, unde efectul Chi/CDLA-LID este semnificativ mai mare decât al cremei EMLA la 30 de minute de la administrare, apoi efectul este diminuat, iar la o oră este similar cu al cremei EMLA și apoi regresează (Figura 12). Testarea la Hot Plate la 5 minute după administrare evidențiază un efect semnificativ mai mare al gelului Chi/CDLA-LID decât al cremei EMLA (Figura 12), efect ce se păstrează semnificativ la testarea de la 15 minute, 30 de minute și la fel ca la testul precedent a avut efect similar cremei EMLA la o oră de la administrare, efectul scăzând spre 2 ore. Din punct de vedere anatomopatologic, modificările constatate în fragmentele recoltate (șobolanii au fost eutanasiați conform eticii în vigoare) de la lotul căruia s-a administrat Chi/CDLA-LID sunt similare lotului testat cu EMLA. Comportări similare cu gelul Chi/CDLA-LID au fost constatare și pentru formulările lipozomale Chi/MLV-CDLA-LID, superioare produsului comercial EMLA (Figura 12).

Bibliografie

- [1] L. Brannon-Peppas, *Polymers in Controlled Drug Delivery, Medical Plastics and Biomaterials Magazine*, 1997.
- [2] Pagina web: <http://en.wikipedia.org/wiki/Lidocaine/prilocaine>
- [3] R.F. Wolff, *Acta Neurol. Scand.*, 2011, 123(5), 295-309.
- [4] S.Kundu, *Am. Fam. Physician.*, 2002, 66, 99-102.
- [5] K.Miller, *AANA J.*, 2001, 69, 185-187.
- [6] S.S. Davis, *L. Illum, Int. J. Pharm.*, 176, 1998, 1-8.
- [7] R.M.Ottenbrite, K.Park, T.Okano, *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook*, 1st Ed., Springer, 2010.
- [8] Y.J. Jang, J.H. Lee, T.B. Seo, S.H. Oh, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2017, 115, 113-121
- [9] A.F. Rogobete, M. Dragomirescu, O.H. Bedreag, D. Sandesc, C.A. Cradigati, M. Sarandan, M. Papurica, S.E. Popovici, C. Vernic, G. Preda, *Trends Anaesth. Crit. Care*, 2016, 9, 27-34.
- [10] C. Valenta, B.G. Auner, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 58, 2004, 279-289.
- [11] T. Aoyagi, R. Tadenuma, Y. Nagase, *Macromol. Chem. Phys.*, 1996, 197, 677-686.
- [12] J.J. Escobar-Chavez, M. Lopez-Cervantes, A. Naik, Y.N.Kalia, D.Quintanar-Guerrero, A. Ganem-Quintanar, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 2006, 9, 339-345.
- [13] C. He, S.W. Kim, D.S. Lee, *J. Controlled Release*, 2008, 127, 189-207.



- [14] E. Fishbeine, Y. Meshulam, R.Sahar, S. Chapman, H. Liani, I. Barnes, A. Amir, *J. Appl. Toxicol.*, 2000, 1, 133-136.
- [15] T.Gratieri, G.M. Gelfuso, E.M. Rocha, V.H. Sarmento, O. de Freitas, R.F.V. Lopez, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2010, 75, 186-193.
- [16] G.Niu, F.Du, L.Song, H.Zhang, J.Yang, H.Cao, Y.Zheng, Z.Yang, G.Wang, H.Yang, S.Zhu, *J. Control. Release*, 2009, 138, 49-56.
- [17] A. Sosnik, D. Cohn, J.S. San Roman, G.A. Abraham, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 2003, 14, 227-239.
- [18] T. Ur-Rehman, *Int. J. Pharma.*, 2011, 409, 19-29.
- [19] R. New, *Liposomes. A Practical Approach*, Oxford University Press, 1990.
- [20] T.Loftsson, P. Jarho, M. Másson, T. Järvinen, *Expert Opinion on Drug Delivery*, 2005, 2(2), 335-351.
- [21] B. McCormack, G. Gregoriadis, *Int. J. Pharm.*, 1994, 112, 249-258.
- [22] B. McCormack, G.J. Gregoriadis, *Drug Target.*, 1994, 2, 449-454.
- [23] H. Chen, J. Gao, F. Wang, W. Liang, *Drug Delivery*, 14 (4), 201-208.
- [24] G. Ragnoa, E. Cione, A. Garofalo, G. Genchi, G. Ioele, A. Risoli, A. Spagnoletta, *Int. J. Pharm.*, 2003, 265, 125-132.
- [25] F. Maestrelli, M.L. González-Rodríguez, A.M. Rabasco, P. Mura, *Int. J. Pharm.*, 2005, 298 (1), 55-67.
- [26] N. Shufang, W.L. Hsiao, P. Weisan, *Int. J. Nanomed.*, 2011, 6, 151-166.
- [27] M.T. Popescu, S. Mourtas, G. Pampalakis, S.G. Antimisiaris, C. Tsitsilianis, *Biomacromolecules*, 2011, 12, 3023-3030.
- [28] M. Bonacucina, M.F. Spina, M. Cespi, S. Pucciarelli, M. Angeletti, G.F. Palmieri, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2007, 3 (2), 115-122.
- [29] L. Nogueiras-Nieto, C. Alvarez-Lorenzo, I. Sandez-Macho, A. Concheiro, F.J. Otero-Espinar, *J. Phys. Chem. B*, 2009, 113, 2773-2782.
- [30] F. Castiglione, M. Valero, C.A. Dreiss, A. Mele, *J. Phys. Chem. B*, 2011, 115, 9005-9013.
- [31] F. van de Manakker, T. Vermonden, C.F. van Nostrum, W.E. Hennink, *Biomacromolecules*, 2009, 10, 3157-3175.
- [32] C. Peptu, A. Nicolescu, C.A. Peptu, V. Harabagiu, B.C. Simionescu, M. Kowalczyk, *J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem.*, 2010, 48, 5581-5592.



- [33] D.H. Abdelkader, M.A. Osman, S.A. El-Gizawy, A.M. Faheem, P.A. McCarron, *Int. J. Pharm.*, 2016, 500, 326–335.
- [34] T.S. Anirudhan, S.S. Nair, Anoop S. Nair, *Carbohydr. Polym.*, 2016, 152, 687–698.
- [35] Y. Nagasaki, Y. Mizukoshi, Z. Gao, C.P. Feliciano, K. Chang, H. Sekiyama, H. Kimura, *Acta Biomaterialia*, 2017, 57, 127–135.
- [36] F.M. Borgbjerg, Local Anaesthetic preparation, WO 95/05198, 1995.
- [37] Hiji, Yasutake, Aqueous local anesthetic solution, EP 0 838 225 A2, 1997.
- [38] J.P. Moldenhauer, New inclusion complexes of benzocaine in gamma-cyclodextrin, useful as non-volatile local anesthetics, e.g. for alleviating surface pain, DE10033059 A1, 2000.
- [39] E. Kalaycioglu, L. Toppare, Y. Yagci, V. Harabagiu, M. Pinteala, R. Ardelean, B.C. Simionescu, *Synth. Metals*, 1998, 97(1), 7-12.
- [40] H. Wheeler-Aceto, A. Cowan, *Psychopharmacology*, 1991, 104(1), 35-44.

Descrierea figurilor

Figura 1: Spectrul ^1H RMN al compusului CDLA

Figura 2: Spectrul ESI-MS al compusului CDLA

Figura 3. Spectrele ^1H -RMN ale LID, CDLA și CDLA-LID

Figura 4. Spectrul ESI MS/MS în care se observă fragmentarea ionului părinte cu $m/z=1657$ al sistemului complex CDLA/LID

Figura 5. A: Diagrama de solubilitate a LID în prezența CDLA; B: Diagrama Job a sistemului CDLA- LID

Figura 6. Imagine SEM a lipozomilor MLV

Figura 7. Microfotografii SEM ale lipozomilor de tip MLV încărcăți cu CDLA-LID

Figura 8. Eficiența de eliberare a lidocainei *in vitro*

Figura 9. Morfologia gelurilor Pol/Chi

Figura 10. Morfologia gelurilor Pol/Chi/Psi

Figura 11. Teste algezimetrice pe EMLA și Chi/CDP-LID

Figura 12. Studiu comparativ pe sobolani tratați cu derivați CDLA-LID la testele Hot plate și Cold plate



REVENDICĂRI

1. Formule medicamentoase bazate pe combinarea unor compuși derivați capabili să respecte cerințele de selectivitate, biodisponibilitate, biodegradabilitate, toxicitate redusă, bioactivitate crescută, timp prelungit de acțiune și costuri reduse, caracterizate prin aceea că: se obțin prin încorporarea unor derivați ai ciclodextrinei (α , β , γ , preferabil β) și lidocainei în matrici polimerice în diferite rapoarte și combinații ale componentelor.

2. Procedeu de preparare a complexelor pe bază de lidocaina și ciclodextrină (α , β , γ , preferabil β) esterificată caracterizat prin aceea că: implică într-o primă etapă modificarea ciclodextrinei (α , β , γ , preferabil β) cu secvențe de oligoesteri prin reacția de deschidere de ciclu a lactidei inițiată de ciclodextrină (α , β , γ , preferabil β), cu formarea unui produs ce conține un număr de unități de lactidă (număr cuprins între 1-21, sau un număr variabil de unități de lactidă înșiruite, cu o valoare optimă cuprinsă între 1-4), urmată de incluziunea lidocainei prin procedeul de malaxare în sistem deschis cu stoechiometria de complexare cuprinsă în domeniul 0,5-1,5, cu o valoare optima de 1:1; având ca rezultat creșterea solubilității lidocainei, a biodisponibilității, și reducerea toxicității la o valoare situată sub pragul legal stabilit în cazul utilizării ca sistem de eliberare transdermală a medicamentelor, cu uz extern.

3. Procedeu de preparare a complexelor multipli cu lipozomi și complecși de incluziune a lidocainei în ciclodextrine modificate (α , β , γ , preferabil β) cu secvențe oligoesterice, caracterizați prin aceea că: implică într-o primă etapă formarea lipozomilor unilamelari/multilamelari pe bază de fosfolipide singulare sau în combinații, de tipul glicerofosfolipidelor (fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilinozitol, cardiolipinele) și sfingofosfolipidelor și/sau colesterol, și/sau derivații acestora, urmată de hidratarea cu o soluție de lidocaină încorporată în derivat al ciclodextrinei după procedeul revendicării (2) în raport molar cuprins în domeniul 0,5-1,5, optim de 1:1, având ca rezultat față de revendicarea (1) creșterea permeabilității prin piele.

4. Procedeu de condiționare a sistemelor complexe ciclodextrină (α , β , γ , preferabil β) esterificată cu unități de lactidă-lidocaină revendicat la punctul (2) și (3) în diverse sisteme polimere (chitosan (masă moleculară cuprinsă între 50 000-400 000 Da, vâscozitate cuprinsă între 20-2000 cP sau <100 mPa.s, grad de deacetilare cuprins între 75-85% sau derivați ai chitosanului, preferabil vâscozitate de 200 cP și grad de acetilare de 76%), acid lactic,



poloxamer (număr variabil de unități de polipropilen-glicol și polietilen-glicol, masă moleculară cuprinsă între 1 900-15 000 Da, optim Pluronic F127)-chitosan (masă moleculară cuprinsă între 50 000-400 000 Da, vâscozitate cuprinsă între 20-2000 cP sau <100 mPa.s, grad de deacetilare cuprins între 75-85%, sau derivați ai chitosanului) cu diferite rapoarte masice (între 80/1 și 5/1) și poloxamer (număr variabil de unități de polipropilen-glicol și polietilen-glicol, masă moleculară cuprinsă între 1900-15 000 Da, optim Pluronic F127)-chitosan (masă moleculară cuprinsă între 50 000-400 000 Da, vâscozitate cuprinsă între 20-2000 cP sau <100 mPa.s, grad de deacetilare cuprins între 75-85%, sau derivați ai chitosanului, preferabil vâscozitate de 200 cP și grad de deacetilare de 76%) cu diferite rapoarte masice (între 80/1 și 5/1)-polixilosan (derivați cu masa moleculară cuprinsă între 1 000-2 500 Da, optim 1 260 Da, funcționalizat cu grupări aminopropilice terminale) în raport cu chitosanul de la 0,5-1,5%, având ca rezultat îmbunătățirea stabilității în timp, creșterea adezivității pe tegument.

5. Formule medicamentoase bazate pe combinarea unor sisteme similare celor revendicate la punctele (2), (3), (4) în diverse combinații (ciclodextrină esterificată (α , β , γ , preferabil β) cu unități de lactidă-lidocaină, chitosan, acid lactic, poloxamer, polisiloxan, fosfolipide, colesterol).



1

DESENE

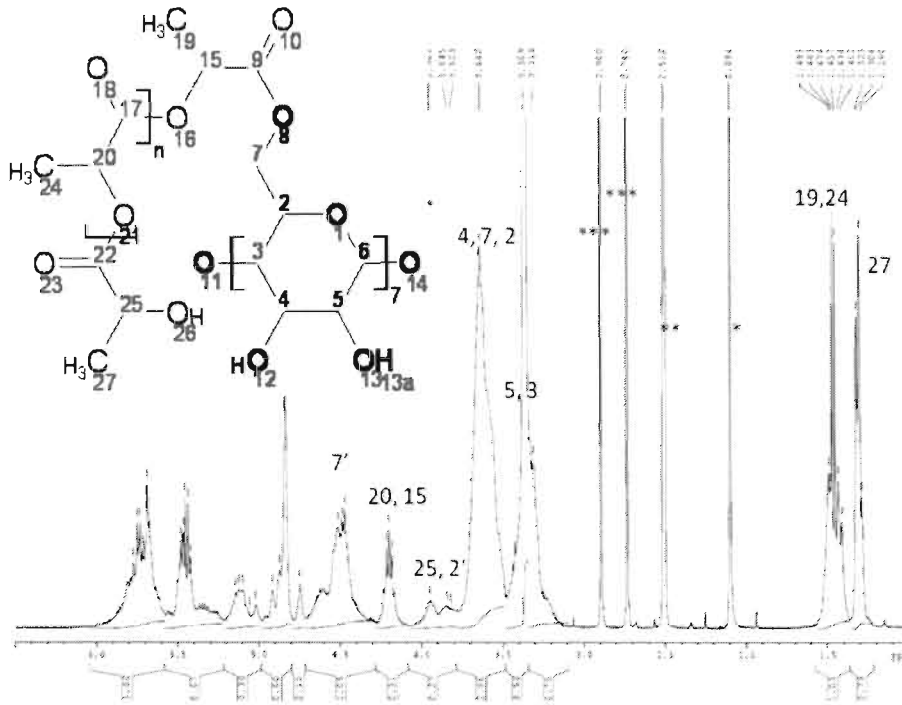


Figura 1

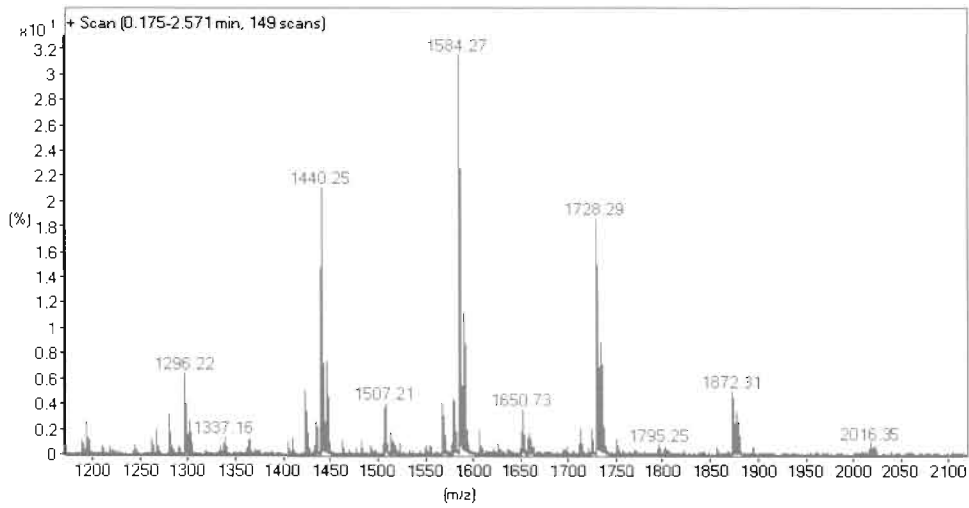


Figura 2



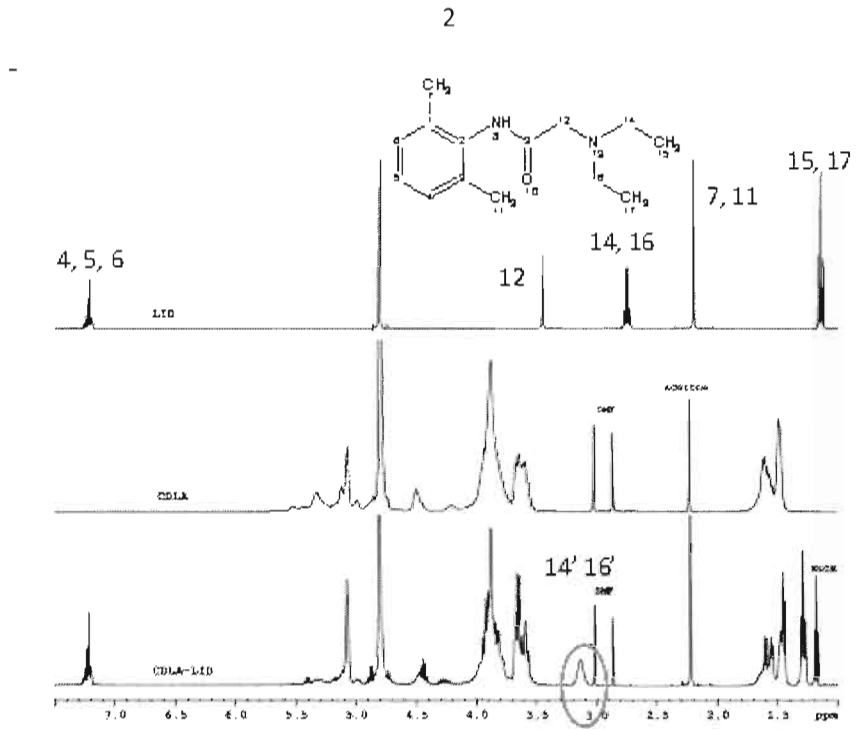


Figura 3

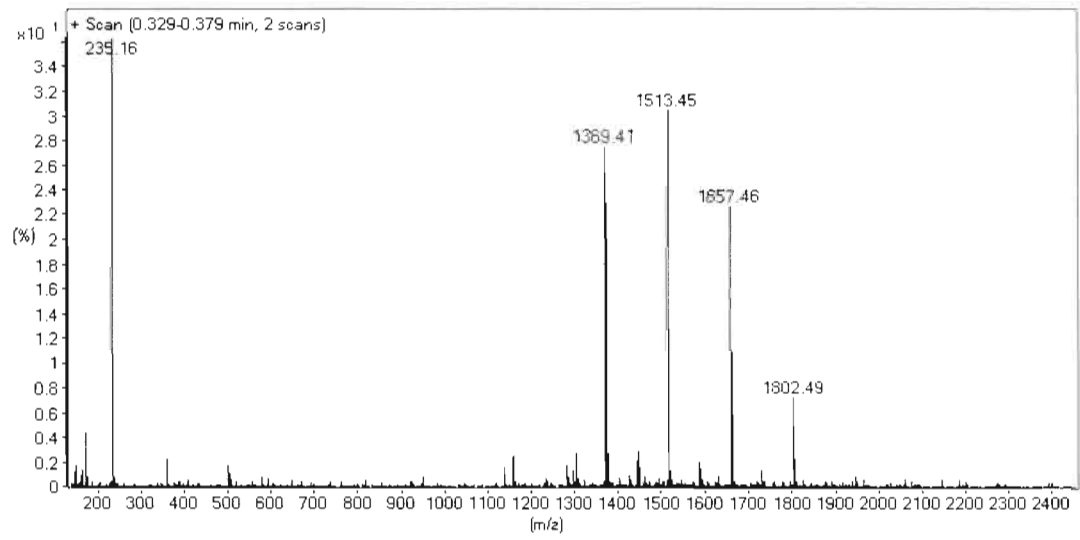


Figura 4A



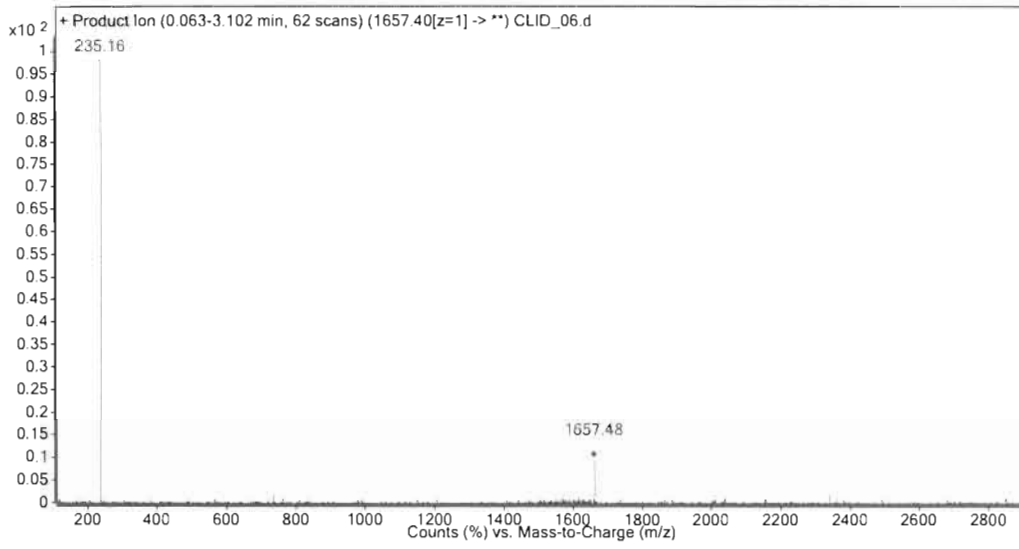


Figura 4B

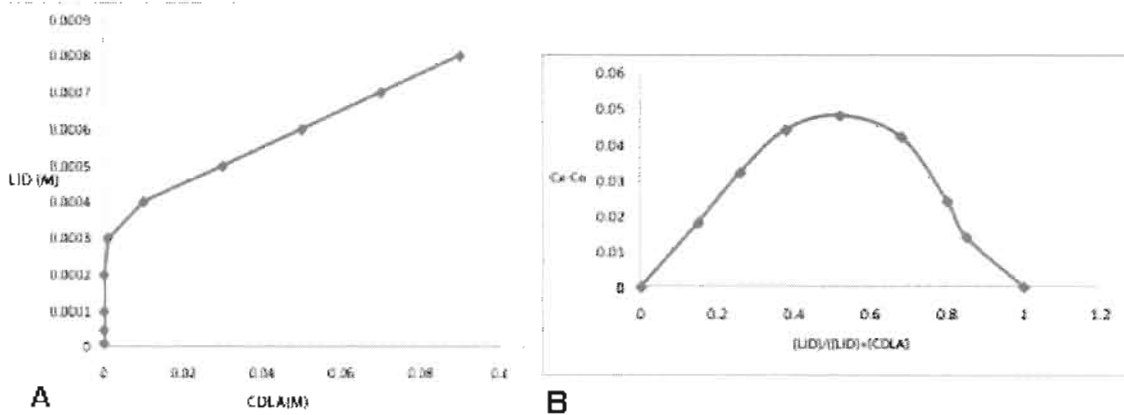


Figura 5

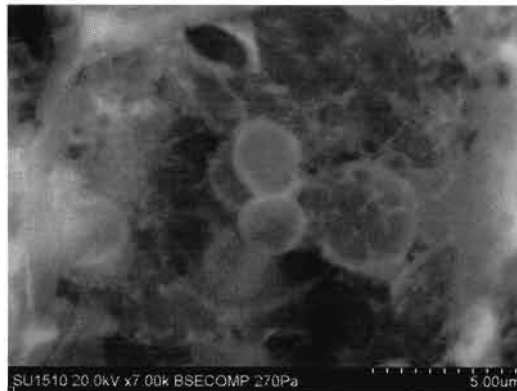


Figura 6



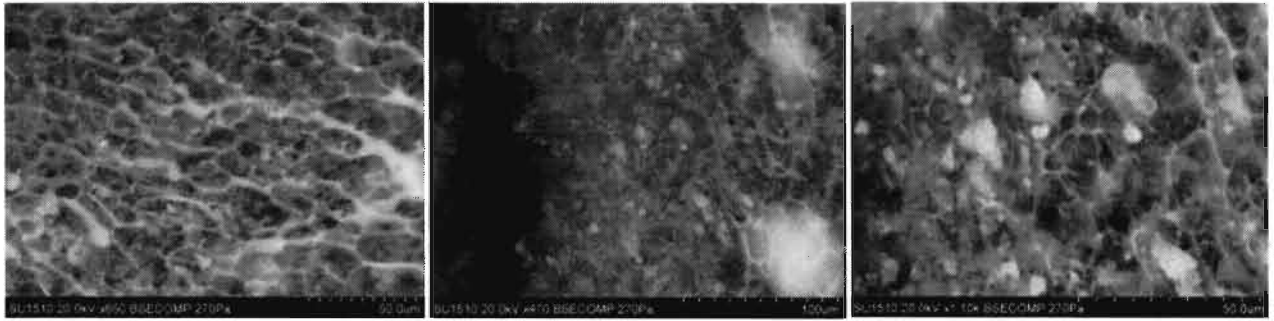


Figura 7

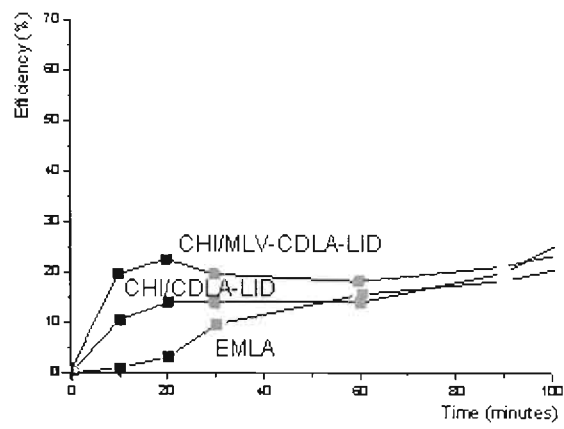


Figura 8



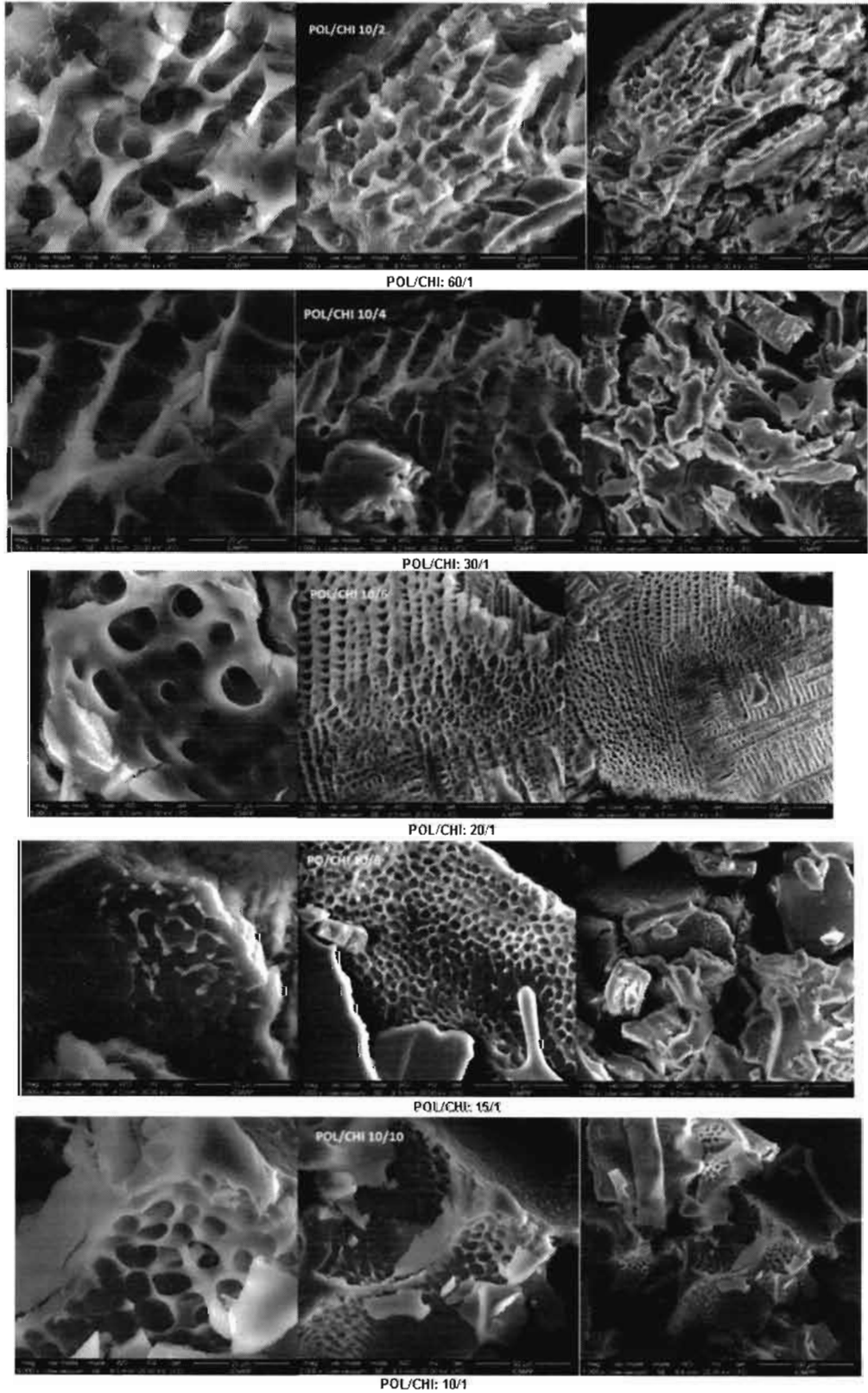


Figura 9.

A handwritten signature is present over a circular stamp. The stamp contains text that is partially obscured but appears to include 'UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO' and 'INSTITUTO DE QUÍMICA'.

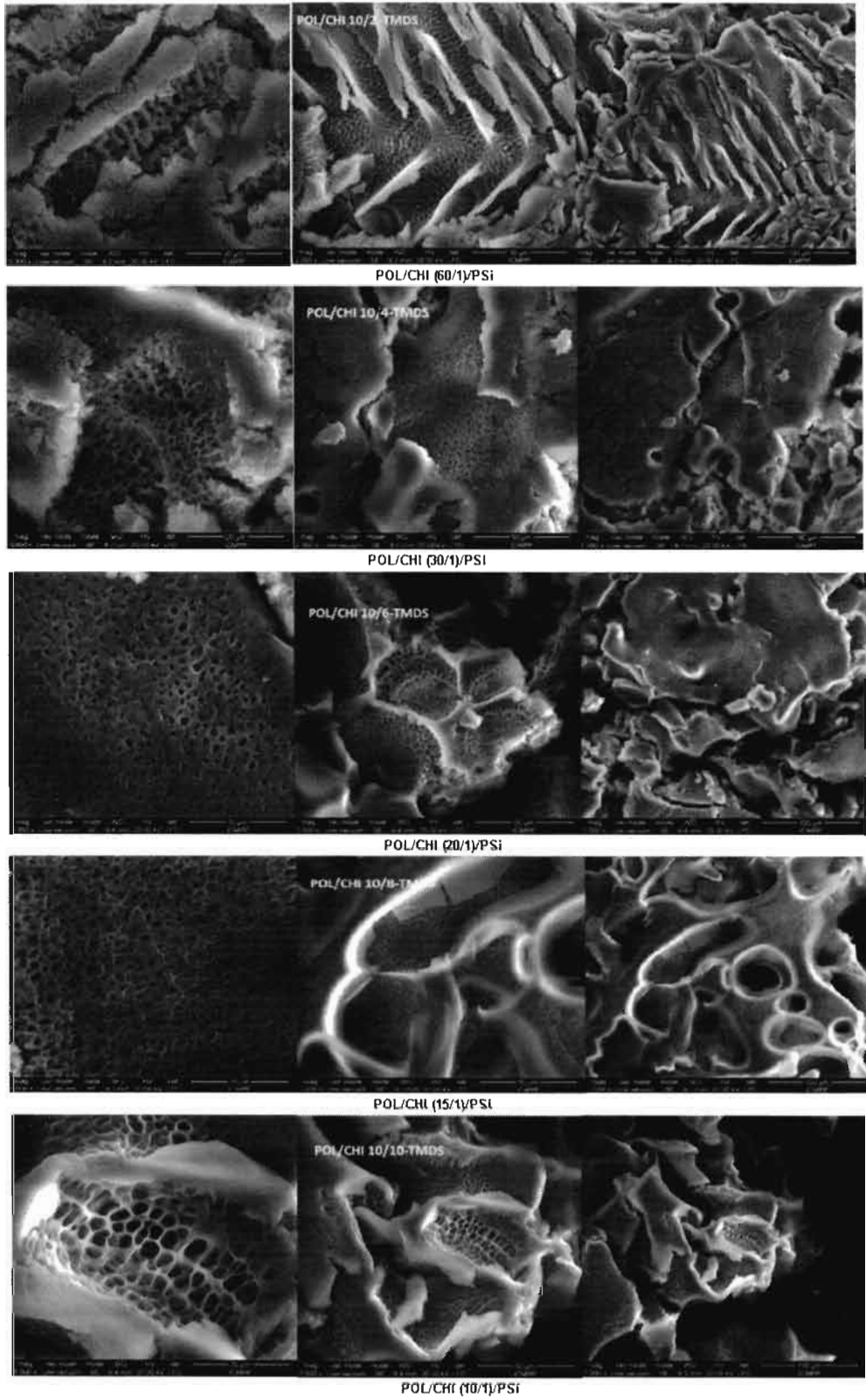


Figura 10.



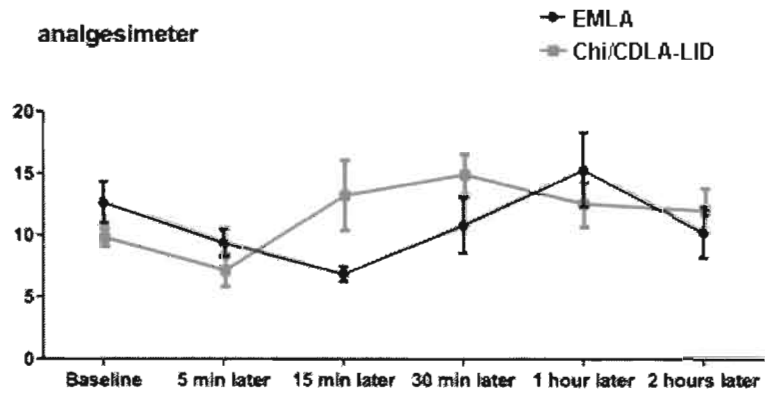


Figura 11.

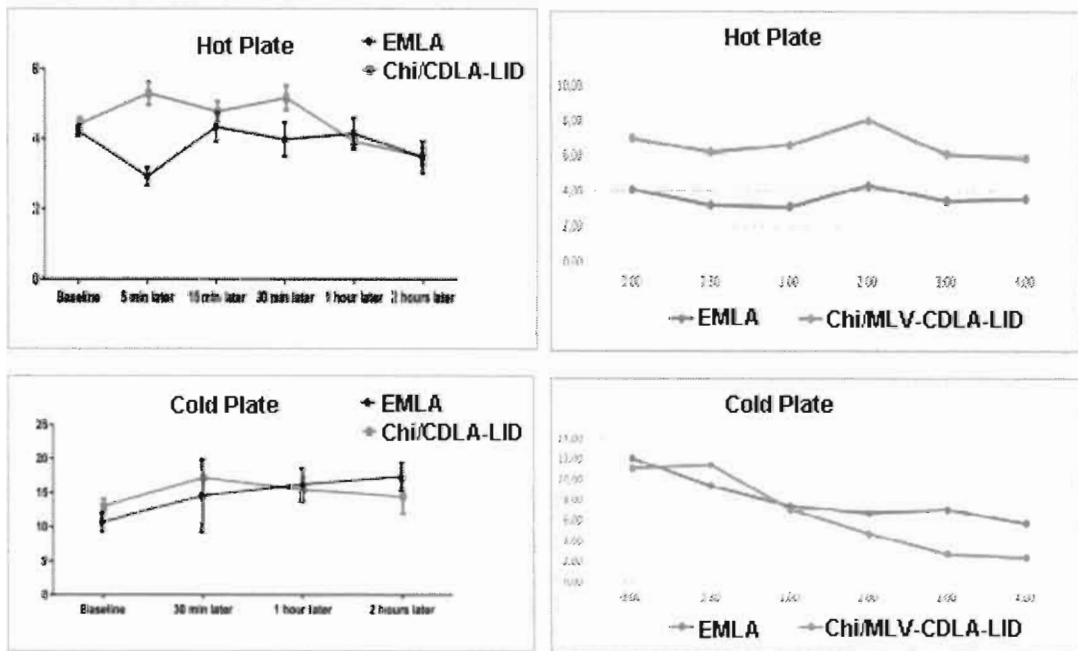


Figura 12.

