



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2019 00903

(22) Data de depozit: 17/12/2019

(41) Data publicării cererii:  
30/06/2021 BOPI nr. 6/2021

(71) Solicitant:  
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE  
CHIMICO-FARMACEUTICĂ - ICCF  
BUCUREȘTI, CALEA VITAN NR.112,  
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;  
• GLOBAL RESEARCH S.R.L.,  
STR.ARGEȘULUI, NR.4A, PITEȘTI, AG, RO

(72) Inventatori:  
• BUBUEANU ELENA CORINA,  
STR.CETATEA DE BALTĂ NR.11-39, BL.31,  
SC.C, ET.2, AP.50, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• DUCU CĂTĂLIN MARIAN,  
STR.ARGEȘULUI, NR.4A, PITEȘTI, AG, RO;

• MOGA SORIN GEORGIAN,  
STR.FRAȚII GOLEȘTI, NR.108, BL.S4,  
SC.B, AP.26, PITEȘTI, AG, RO;  
• MATEI-DONCIU ROXANA,  
STR.PLT.PAZON MARIN, NR.3, BL.G14,  
SC.C, ET.2, AP.28, SECTOR 3,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• GRIGORE ALICE ELENA, BD. UVERTURII  
NR.43, BL.1, AP.131, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• PIRVU LUCIA CAMELIA, STR. BACIA  
NR. 11A, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;  
• IUKSEL RASIT, BD.DINICU GOLESCU  
NR.37, BL.4, SC.B, AP.40, SECTOR 1,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• PANTELI IRINA MINERVA,  
STR.SPĂȚARUL NICOLAE MILESCU  
NR.46-48, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO

(54) HIDROGEL ANTIINFLAMATOR CU COMPUȘI ACTIVI  
NATURALI VEGETALI

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un sistem terapeutic cu eliberare controlată cu compuși activi naturali vegetali, având acțiune antiinflamatoare. Sistemul, conform invenției, este sub formă de hidrogel, de culoare portocalie, miros aromat, cu principii active de tip oleozine din speciile vegetale *Arnica montana* și *Capsicum annum*, având

un conținut de 0,004...0,005% capsaicină, 0,003...0,004% dihidrocapsaicină și 0,001% polifenoli totali extriși în acid cafeic.

Revendicări: 1

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).



## DESCRIEREA INVENTIEI

### HIDROGEL ANTIINFLAMATOR CU COMPUSI ACTIVI NATURALI VEGETALI

Autori: Bubueanu Elena Corina, Ducu Catalin Marian, Moga Sorina Georgian, Matei-Donciu Roxana, Grigore Alice Elena, Pirvu Lucia Camelia, Iuksel Rasit, Panteli Minerva

#### Domeniul tehnic la care se refera inventia

Inventia se refera la un sistem terapeutic cu eliberare controlata cu compusi activi naturali vegetali, avand actiune antiinflamatoare, de uz uman, cu utilizare in industria farmaceutica in administrare topica, care se prezinta sub forma de hidrogel care are in compozitie oleozine din speciile vegetale *Arnica montana* (arnica) si *Capsicum annuum* (ardei iute).

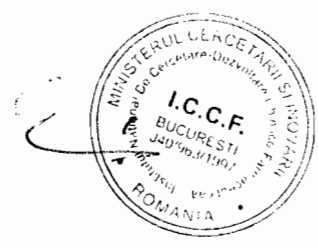
#### Stadiul tehnicii

Este cunoscut faptul ca specia *Capsicum annuum* L. are in compozitie glucide, vitamine, saruri minerale, alcaloizi. Principala clasa de compusi alcaloidici o reprezinta capsaicinoizii care, datorita proprietatilor terapeutice antiinflamatoare, antireumatice pot fi utilizati in tratamentul neuropatiei diabetice, osteoartritelor, neuroalgiei post hepatice, psoriazisului (Aneta Wesolowska et al., 2011; Rosa Tundis et al., 2011)

Este cunoscut faptul ca alcaloidul capsaicina extras din specia *Capsicum annuum* are activitate farmacologica ca antiinflamator, protector cardiovascular, benefica asupra sistemului gastrointestinal, analgezic, analgezic, antioxidant, chemoprotector, antimicrobial (Srinivasan K, 2016; Paula López et al., 2011; Natalia Riquelme and Silvia Matiacevich, 2017).

Este cunoscut faptul ca *Arnica montana* L este o planta medicinala utilizata pentru obtinerea unor extracte cu aplicatii in tratamentul hematoamelor, contuziilor, afectiunilor reumatice si a proceselor inflamatorii superficiale (G.Willuhn, 1998)

Este cunoscut faptul ca specia *Arnica montana* L contine flavonoide, sesquiterpenele lactonice ,carotenoizi, uleiuri esentiale, diterpene, cumarine, acizi fenolici, lignani si polizaharide (J.A.Douglas, et al., 2004, Kriplani P, 2017).



Brevetul **RO 129063 B1**, descrie un gel cu proprietati antiinflamatoare destinat tratamentului afectiunilor reumatismale si inflamatorii de alta origine, constituit din asocierea carbopolului 940 cu glicerina 96%, solutie NaOH 10%, solutie conservanta de nipagin, nipasol, tinctura de pastura, tinctura de ardei iute, tinctura de untul pamantului, tinctura de 25 benzoe, ulei volatil de pin si venin de albine, intr-un raport de asociere, parti in greutate, de:1:3:3:93:2...3:2...2,5:1...2,5:0,2...0,5:0,2...0,5:0,05.

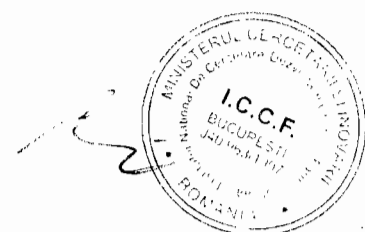
Brevetul **RO110906 B1** descrie un unguent cu actiune antiinflamatoare si analgezica ce este contituit din extract ulei de *Flos Arnicae si Folum Betulae* 20....72 parti, *Oleum Pini* 0,8....1,20 parti si baza de unguent compusa din 38,50 parti ceara, 46 parti alcool cetilic, 13 parti ulei de cocos si 2,50 parti agent de emulsificare, 26...50 parti, putandu-se adauga 50 parti in greutate extract alcoolic de *Flos Arnicae si Folium Betulae*.

Brevetul **RO121583** descrie un gel pentru intretinere corporala, cu efect anticelulitic, revulsiv, antiinflamator, vasodilatator si procedeu de obtinere a acestuia, care contine extract de iedera (*Hedera helix*), extract de castan (*Aesculum hippocastanum*), tinctura de ardei iute (*Capsicum annuum*), ulei esential de menta (*Mentha piperita*), ulei esential de levantica (*Lavandulae officinalis*), ulei esential de trandafir (*Rosa damascena*) si/sau ulei de salvie (*Salvia officinalis*), inglobate in baza de gel stabilizat si care se obtine prin succesiuna etapelor de amestecare a compusilor naturali, prin agitare.

#### Prezentarea problemei tehnice

Problema pe care o rezolva inventia consta in realizarea unui sistem terapeutic cu eliberare controlata, cu principii active de tip oleorezine din speciile vegetale *Arnica montana* (arnica) si *Capsicum annuum* (ardei iute) de uz uman, in administrare topica, fara toxicitate, cu actiune antiinflamatoare, respectiv utilizare in afectiuni articulare si musculare de tip inflamator, care se prezinta sub forma de hidrogel, de culoare portocalie, cu miros aromat si usor intepator, cu continut de capsaicina 0.004....0.005%, dihidrocapsaicina 0.003.....0.004%, si polifenoli totali exprimati in acid cafeic 0.001%.

Inventia se refera la un sistem terapeutic cu eliberare controlata, sub forma de hidrogel cu principii active de tip oleorezine din speciile vegetale *Arnica montana* (arnica) si *Capsicum annuum* (ardei iute), care consta in aceea ca este obtinut prin asocierea si omogenizarea sub vid pana la gelifiere a doua faze: Faza A – apa ultrapura, Aloe Vera 10X concentrat (*Aloe barbadensis*), carbomer 940, oleorezina de *Capsicum annum*, oleorezina de *Arnica montana*, acid ascorbic, EDTA (Acidul etilendiaminotetraacetic) intr-un raport de asociere, parti in greutate:



87,45:3:0,75:1,564:3,036:0,50:0,10 si Faza B - Twin 80, trietanolamina, provitamina B5, intr-un raport de asociere, parti in greutate: 2,50:0,1:1,00.

#### Inventia prezinta urmatoarele avantaje:

- se diversifica gama de compozitii terapeutice naturale care pot fi utilizate in administrare topica, in afectiunile articulare si musculare de tip inflamator;
- eliberarea treptata a principiilor active datorita structurii hidrogelului
- produsul este practic netoxic si nu are reactii adverse sau efecte secundare;
- se utilizeaza o materie prima naturala accesibila, regenerabila;
- tehnologia poate fi realizata pe o instalatie industrială;

#### Exemplu de realizare a inventiei.

Actiunea antiinflamatoare a hidrogelului este data de principiile active reprezentate de oleorezinele din speciile vegetale *Arnica montana* si *Capsicum annuum*.

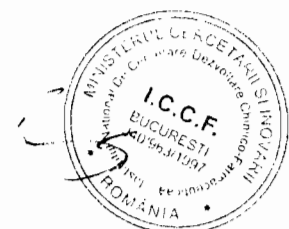
Oleoresina de *Capsicum annuum* (ardei iute) a fost obtinuta prin extractie cu solventi si se prezinta sub forma de lichid vascos, de culoare rosie-inchisa, cu miros puternic de ardei iute. S-a folosit oleorezina achizitionata de la firma LLUCH ESSENCE, S.L. (Barcelona, Spania), cu un continut de capsaicina cuprins intre 5.2-5.6%.

Oleorezina de *Arnica montana* (arnica) a fost obtinuta prin extractie cu lichide supercritice (CO<sub>2</sub>), este lipsit de solventi reziduali, saruri anorganice, metale grele. Extractul este standardizat cu ulei organic de floarea soarelui la 3.5-4.5% sesquiterpene lactonice si se prezinta sub forma de lichid vascos, de culoare inchisa, cu miros caracteristic. S-a folosit oleorezina, brand MAYAM, achizitionata de la ELEMENTAL SRL (Oradea, Romania).

Asocierea oleorezinelor cu baza de hidrogel duce la obtinea unui efect antiinflamator de pana la 4 ore de la administrare.

Se prezinta in continuare un exemplu de realizare a inventiei

Ingredient	Funcție	Procent (%)	Masa (g)
<b>Faza A</b>			
Apaultrapura	diluant	87,45	87,45
Aloe Vera 10x Concentrat ( <i>Aloe barbadensis</i> )	umectant	3,00	3,00
Carbomer 940 (carbomer)	agent de ingrosare	0,75	0,75
Extract de <i>Capsicum annuum</i>	ingredient activ	1,564	1,564
Extract de <i>Arnica Montana</i>	ingredient activ	3,036	3,036
Acid ascorbic	conservant	0,50	0,50
EDTA (Acidul etilendiaminotetraacetic)	stabilizator	0,10	0,10



<b>Faza B</b>			
Twin 80	emulsifiant	2,50	2,50
Trietanolamina	ajustant de pH	0,10	0,10
Provitamina B5 (d-pantenol, apa)	umectant	1,00	1,00

Se combina EDTA si apa. Se omogenizeaza pana se dizolva. Se adauga restul ingredientelor fazei A in ordine. Se ajusteaza pH-ul cu Trietanolamina pana la valori cuprinse intre 5-6. Se adauga restul ingredientelor fazei B si se omogenizeaza sub vid pana la gelifiere. Se regleaza pH-ul la valori cuprinse intre 5-6.

### Testari farmacotoxicologice

Hidrogelul a fost testat atat in privinta actiunii antiinflamatoare si a biocompatibilitatii prin testari ale iritatiei tegumentare, a sensibilitatii si a toxicitatii sistemice prin experimente *in vivo* cat si a citotoxicitatii in experiment *in vitro*.

Pentru hidrogelul cu principii active de tip oleorezine din speciile *Arnica montana* si *Capsicum annuum*, efectul antiinflamator a fost evidentiat pe modelul edemului acut alabei de sobolan indus cu carageenan. Administrarea a fost realizata, ca atare pe cale epicutana (local), intr-o cantitate de 0,7 ml, prin masare blanda, pentru facilitarea absorbtiei cutanate la nivelulabei posterioare drepte a animalelor. Inflamatia experimentalaa fost indusa cu solutie de carrageenan 1% in ser fiziologic (*Carrageenan from seaweed, SIGMA-ALDRICH, USA*) injectata in doza de 0,05 ml per situs subaponevrotic plantar la nivelul membrului posterior drept al sobolanilor, anterior anesteziati cu ketamina (100 mg/kg) si xilazina (5 mg/kg).

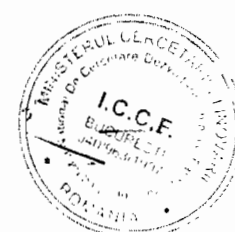
Activitatea antiinflamatoare a fost apreciata printru masurarea pletismometrica a volumului extremitatii injectate cu agentul flogistic, pe o perioada de 4 ore, la intervale de 1 ora de la injectare.

Pentru proba testata s-a determinat la 1 ora un efect precoce antiinflamator de 93% comparativ cu lotul martor si o diminuare la 4 ore (38.5%).

Din punct de vedere a biocompatibilitatii hidrogelul a fost supus urmatoarelor testari farmacotoxicologice *in vivo*:

- *testarea iritatiei tegumentare* - pe iepuri Noua Zeelanda Alb. Au fost utilizate 3 animale per proba de testat. Hidrogelul cu principii active de tip oleorezine, a fost aplicat in cantitate de 0,5 g pe o suprafata de tegument de 2 x 3 cm de pe flancul epilat in zona repartizata si apoi zona a fost acoperita cu pansament si immobilizata cu banda adeziva semiocluziva pe o durata de aproximativ 4 ore.

Dupa aceasta perioada pansamentul a fost indepartat, iar zona expusa a fost spalata cu apa distilata si demarcata vizibil. Examinarea zonei expuse prima data, test si martor, s-a realizat la 1h,



24h, 48h si 72h. Dupa perioada de observatii pentru expunerea unica, a fost reluata expunerea la o noua proba de material pe o durata de aproximativ 4 ore, dupa aceasta perioada produsul de testat a fost indepartat si tegumentul spalat cu apa distilata. Examinarea zonelor expuse, test si martor, s-a realizat la 1h si 24h, imediat inainte de expunerea urmatoare. Dupa ultima perioada de expunere zonele au fost examinate la 1h, 24, 48h si 72h.

La aproximativ o ora de la indepartarea bandajelor semiocluzive s-a facut inregistrarea reactiilor cutanate. Dupa expunere si indepartarea pansamentului, observatiile au fost repetate la intervale de 24 ore, 48 ore si 72 de ore. Inaintea celei de a doua expuneri suplimentare si dupa 24, 48, 72 de ore de la aceasta s-au efectuat observatii ale tegumentului.

Animalele au ramas sub observatie timp de inca 7 zile pentru evaluarea remisiei fenomenelor locale aparute. Rezultatele obtinute au demonstrat o iritatie tegumentara slaba pentru hidrogelul cu principii active de tip oleorezine (Indexul Cumulat de Iritatie - 0.53) in conditii de 3 expuneri.

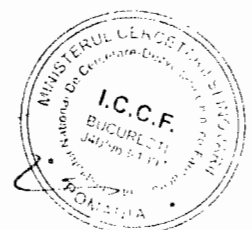
*-testarea sensibilitatii - pe cobai tineri.* Animalele au fost repartizate cate 3 pe lot pentru lotul de testat si 3 pentru lotul martor (hidrogel baza). Proba de testat, hidrogelul cu principii active de tip oleorezine, in cantitate de 0,5 g a fost pusa in contact intim cu pielea umectata si acoperita cu pansament imobilizat cu banda adeziva semiocluziva pentru aproximativ 6 ore. Dupa aceasta perioada sistemul ocluziv a fost indepartat.

Procedura aplicarii probei de testat si a probei martor (hidrogel baza) a fost repetata 3 zile succesive dintr-o saptamana. La 14 zile dupa ultima aplicare pentru „inducere”, loturile de animale au fost expuse „provocarii”. Proba de testat a fost reaplicata pe tegumentul depilat anterior cu 24 de ore, fiind metinuta in contact tegumentar timp de 6 ore. Dupa acest interval pansamentul obstructiv a fost indepartat si suprafata spalata bland cu apa distilata.

In urma observatiilor succesive au fost semnalate reactii de intensitate sub 1 conform scalei Magnusson si Klingman, la loturile tratate cu proba test si cu hidrogel baza dupa perioada de “provocare”, ceea ce se poate concluziona in faptul ca probele nu prezinta potential sensibilizant.

*- testarea toxicitatii sistemice dermale - pe iepuri Noua Zeelanda Alb.* Au fost utilizate 3 animale per proba de testat. Proba hidrogel cu principii active de tip oleorezine a fost administrata local tegumentar in cantitate de 0,5 g pe o suprafata de 2 x 3 cm de pe flancul epilat in zona repartizata, cu repetare la interval de 2 ore timp de 8 ore (total de 5 prize).

Frecventa observatiilor a fost sincrona cu aplicariile probelor in prima zi, ulterior cu 2 examinari zilnice timp de 14 zile. S-au constatat reactii la locul administrarii probelor la 24 de ore de la administrare, constand in eritem moderat fara edem. Semnele clinice mentionate au fost urmate de



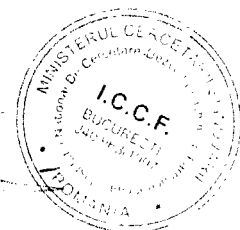
descuamare furfuracee apoi s-au remis spontan pana in a 7-a zi de urmarire. Nu au fost constatate modificari de comportament motor spontan si alimentar pe perioada de observatie de 14 zile. Curba ponderala a loturilor tratate cu proba test a fost comparabila cu cea a lotului martor. Nu s-a consemnat mortalitate.

Rezultatele au determinat faptul ca *hidrogel cu principii active de tip oleorezine* nu determina reactii sistemice toxice ca urmare a administrarii locale tegumentare acute (dispersate in 5 prize) pe parcursul a 24 ore.

*Evaluarea citotoxicitatii in vitro, respectiv evaluarea viabilitatii culturii de fibroblaste murine L929* s-a efectuat, pentru hidrogel cu amestec oleorezine, in doze 31.25; 62.5; 125; 250 si 500 $\mu$ g/ mL de prin metoda colorimetrica cu ajutorul kitului CellTiter 96® Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay (Promega, USA). Reactia se bazeaza pe capacitatea de reducere a compusului [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazoliu (MTS) la formazan, solubil in mediul de cultura. Testul MTS realizat pentru evidentierea potentialului citotoxic al hidrogelului cu principii active de tip oleorezine, in cultura de fibroblaste murine L929 a aratat viabilitatea probei depaseste 80% in cazul tuturor dozelor administrate.

#### **Aplicabilitate industrială**

Inventia poate fi aplicata pentru productia de produse naturale, cu administrarea topica, eficiente in terapiile antiinflamatorii.



## HIDROGEL ANTIINFLAMATOR CU COMPUSI ACTIVI NATURALI VEGETALI

Autori: Bubueanu Elena Corina, Ducu Catalin Marian, Moga Sorina Georgian, Matei-Donciu Roxana,  
Grigore Alice Elena, Pirvu Lucia Camelia, Iuksel Rasit, Panteli Minerva

### REVENDICARE

Sistem terapeutic cu eliberare controlata, cu principii active de tip oleozine din speciile vegetale *Arnica montana* (arnica) si *Capsicum annuum* (ardei iute) **caracterizat prin aceea ca este** constituit prin asocierea si omogenizarea sub vid pana la gelifiere a doua faze: Faza A – apa ultrapura, Aloe Vera 10X concentrat (*Aloe barbadensis*), carbomer 940, oleozina de *Capsicum annuum*, oleozina de *Arnica montana*, acid ascorbic, EDTA (Acidul etilendiaminotetraacetic) intr-un raport de asociere, parti in greutate: 87,45:3:0,75:1,564:3,036:0,50:0,10 si Faza B - Twin 80, trietanolamina, provitamina B5, intr-un raport de asociere, parti in greutate: 2,50:0,1:1,00, care se prezinta sub forma de hidrogel, de culoare portocalie, cu miros aromat si usor intepator, cu continut de capsaicina 0.004....0.005%, dihidrocapsaicina 0.003.....0.004%, si polifenoli totali exprimati in acid cafeic 0.001%.

