



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2020 00306

(22) Data de depozit: 02/06/2020

(41) Data publicării cererii:
30/12/2021 BOPI nr. 12/2021

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE TEXTILE
PIELĂRIE SUCURSALA INSTITUTUL DE
CERCETĂRI PIELĂRIE ÎNCĂLȚĂMINTE,
STR. ION MINULESCU NR. 93, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• MARIN MARIA MINODORA,
SAT PĂUȘEȘTI - OTĂSĂU, COMUNA
PĂUȘEȘTI, VL, RO;

• ALBU KAYA MĂDĂLINA GEORGIANA,
BD.TINERETULUI, NR.21, BL.Z6, SC.1,
ET.7, AP.48, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,
RO;
• BUMBENECI GEORGETA,
STR.LT.ILIE CÂMPEANU NR.3, BL.15A,
SC.2, AP.16, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B,
RO;
• GHEORGHE COARA,
STR. CAP. PETRE MIȘCĂ, NR.4, BL.M16,
SC.1, ET.8, AP.35, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO

(54) **PROCEDEU DE OBȚINERE A COLAGENULUI HIDROLIZAT
UTILIZAT LA PREPARAREA PRODUSELOR COSMETICE
ȘI ÎN MEDICINĂ CA AGENT ACTIV PENTRU REGENERAREA
ȚESUTURILOR**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a colagenului hidrolizat utilizat la prepararea produselor cosmetice și în medicină ca agent activ pentru regenerarea țesuturilor. Procedeu, conform invenției, constă în etapele de tratament al unor piei de vițel selectate cu respectarea măsurilor de siguranță privind agenții transmisibili, cu oxid de calciu timp de 2...4 h, decacifiere și spălare în mediu puternic alcalinizat timp de 18...24 h, tratarea pieilor gonflante cu acizi organici pentru reglarea

pH, hidroliza la temperatura de 100...120°C timp de 4...8h, urmate de decantare, filtrare, concentrare, uscare prin atomizare/lifilizare și sterilizare, rezultând colagen hidrolizat sub formă de pulbere, de puritate ridicată, având un conținut de 88...90% substanță uscată și o masă moleculară de 5000...40000 Da.

Revendicări: 2



24

Procedeu de obtinere a colagenului hidrolizat utilizat la prepararea produselor cosmetice si in medicina ca agent activ pentru regenerarea tesuturilor

Domeniul tehnic in care poate fi folosita inventia:

Inventia se refera la procedeul de obtinere a colagenului hidrolizat utilizat la prepararea produselor cosmetice si in medicina ca agent active pentru regenerarea tesuturilor.

Descrierea stadiului actual:

Colagenul este principala proteina din tesuturile conjunctive (piele, os, tendon, membrane bazale), constituind aproximativ o treime din totalul proteinelor corpului. Acesta este format prin polimerizarea a 20 de aminoacizi, avand o structura conformationala specifica de triplu helix. Principalii aminoacizi din compozitia colagenului sunt: glicina (aproximativ 33% din totalul aminoacizilor), prolina si hidroxiprolina (circa 22%), ultimul fiind specific numai pentru molecula de colagen. Colagenul este un biomaterial important pentru aplicatiile biomedicale datorita caracteristicilor speciale, ca biodegradabilitate si antigenicitate scazuta, acesta fiind perceput ca un constituent al organismului si nu ca un material strain. Ca biomaterial, colagenul este intalnit sub diverse forme: solutii acide sau neutre, matrici, hidrogeluri, membrane, tuburi, fibre, proteze colagenate.

Colagenul hidrolizat reprezinta un amestec polidispers format din: polipeptide (numarul de aminoacizi din catena este mai mare de 10), peptide (numarul de aminoacizi din catena este cuprins intre 4-10), oligopeptide (numarul maxim al aminoacizilor din catena este 3), aminoacizi liberi, intr-un anumit procent determinat si de gradul de hidrolizare, utilizat, in special, ca substanta biologic activa in produse farmaceutice, alimentare, cosmetice si biostimulatoare pentru animale si plante (prin doparea hidrolizatelor cu microelemente).

Datorita proprietatilor si caracteristicilor cum ar fi viscozitate foarte reduca in solutii apoase, miros neutru, solubilitate, dispersabilitate, alergenicitate scazuta, colagenul hidrolizat ofera aptitudini remarcabile pentru utilizarea in preparatele pentru piele si par, in forme de dozare solida a medicamentelor si in numeroase produse alimentare.

Vanzarile de suplimentele alimentare in pietele cheie ale lumii vizeaza arii ale sanatatii cum ar fi: domeniul cardiovascular, boli gastro-intestinale, boli urologice, afectiuni ale oaselor si anti-imbatranirea pielii. Piata suplimentelor alimentare detine o pozitie importanta la nivel mondial, cu 38% pe piata din Japonia, 31% in SUA si 29% in Europa. Sectorul bauturilor vandute ca suplimente alimentare detine aproximativ 12.5% din piata la nivel international. Colagenul hidrolizat este unul dintre ingredientele remarcabile utilizate in industria suplimentelor alimentare, acesta continand 8 din cei 9 aminoacizi esentiali, plus glicina si

prolina. Concentratia prolinei din colagenul hidrolizat este de 20 de ori mai mare comparativ cu alte produse alimentare bogate in proteine. In corpul oamenilor si al animalelor 25% din cantitatea de proteina se gaseste sub forma de colagen. Din cauza scaderii sintezei de colagen din corp, cererea de colagen la nivelul pielii, parului si al tesuturilor osoase creste odata cu avansarea in varsta.

Unele studii au evidentiat ca 10 g/zi de colagen hidrolizat administrat pe cale orala duce la scaderea durerilor de la nivelul incheieturilor, reduce ridurile si imbunatateste calitatea pielii. Alte studii au sugerat ca un regim alimentar imbogatit cu colagen hidrolizat poate imbunatati productia de colagen la nivel sistemului osos, poate reduce durerea pentru pacientii cu osteoartrita la nivelul soldului sau al genunchiului, atunci cand concentratia in sange a hidroxiprolinei creste si de asemenea poate preveni osteoporoza.

Astfel colagenul hidrolizat din piele bovina reprezinta un candidat ideal utilizat in prepararea produselor cosmetice si in medicina ca agent activ pentru multiple forme farmaceutice cu efect epitelizant si de stimulare a capacitatii de regenerare a colagenului din derma, mucoase, cartilagii si oase.

Brevetul CA2854856 (A) descrie o metoda de obtinere a colagenului hidrolizat cu o masa moleculara sub 3500 Da si utilizarea acestuia pentru prevenirea si tratarea celulitei.

O alta metoda de obtinere a colagenului hidrolizat este descrisa in brevetul CN103209678 (A), unde este obtinut un colagen hidrolizat obtinut prin hidroliza enzimatica a dermei porcine si atomizat utilizat pentru imbunatatirea sanatatii unghiilor, pielii si a parului.

Brevetul US10364283 (A) descrie o metoda de obtinere a colagenului hidrolizat cu aplicatii medicale din oase prin tratamente enzimaice, folosind endoproteaze neutre.

Brevetul US2020078435 (A) prezinta o metoda pentru obtinerea unui colagen hidrolizat din gelatina, prin digestie enzimatica, cu masa moleculara mica utilizat pentru reducerea durerilor articulare.

In brevetul CN107531775 (A) este descris un colagen hidrolizat cu capacitatea de a preveni caderea parului si pentru hidratarea pielii, obtinut prin utilizarea unei colagenaze specifice pentru a produce o cantitate predominanta de tripeptide de colagen.

O alta metoda de obtinere a colagenului hidrolizat utilizat in suplimente alimentare este prezentata in brevetul CN104768566 (A), acesta este produs din gelatina osoasa bovina prin hidroliza enzimatica.

Brevetul RO 00111787 prezinta un procedeu de obtinere a colagenului hidrolizat din derma bovina, tratata cu NH_4Cl 1 M, hidrolizat intr-un vas sub presiune si temperatura, ce este obtinut sub forma de pulbere prin atomizare.

Brevetele descrise mai sus prezinta metode de obtinere a colagenului hidrolizat din diverse tesuturi (a caror calitate nu este atent controlata), utilizand atat enzime, cat si acizi si baze, ce au dezavantajul de a obtine un produs greu de purificat, etapa esentiala in aplicatiile medicale. Inventia propusa inlatura dezavantajele enuntate prin aceea ca procesul tehnologic, conform inventiei, permite eliminarea sau inactivarea agentilor transmisibil gasiti in tesuturile procesate.

Problema tehnica

Problema tehnica pe care o rezolva inventia consta in procedeul de obtinere colagenului hidrolizat utilizat la prepararea produselor cosmetice si in medicina ca agent active pentru instilatiile urologice, avand ca scop imbunatatirea calitatii vietii a persoanelor cu probleme cosmetice si medicale.

Solutia tehnica

Procedeul de obtinere a colagenului hidrolizat din derma bovina, utilizat la prepararea produselor cosmetice si in medicina ca agent active pentru instilatiile urologice, conform inventiei, consta in aceea ca tehnologia este una laborioasa si se porneste de la piele bovina selectata cu rigurozitate ca o masura de siguranta pentru transmiterea prionilor BSE (al encefalopatiei spongiforme). Se selecteaza piele de vitel de categoria 15-20 Kg, provenita de la vitei sub 3 ani. In vederea inactivarii sau eliminarii agentilor transmisibili sunt luate in considerare masuri de siguranta si de supraveghere sanitar - veterinara a bovinelor. Astfel aprovizionarea se face numai din abatoare avizate de catre ANSVSA care indeplinesc cerintele reglementarii CE. Luand in considerare faptul ca acumularea conditiilor de infectare decurge de-a lungul unei perioade de incubatie de cativa ani, selectarea animalelor tinere si sanatoase fiind primul factor de reducere a riscului, alaturi de un proces tehnologic care permite eliminarea sau inactivarea agentilor transmisibil de la nivelul tesuturilor procesate. Viteii sunt sacrificati cu socuri electrice metoda folosita pentru a mentine creierul intact si pentru a evita contaminarea cu tesuturi cu risc crescut. Apoi sunt exanguizati, creierul si sira spinarii sunt lasate intacte pana carcasa este jupuita. Pieile (materia prima) astfel decorporalizate sunt imediat refrigerate si sunt transportate la sectia unde producatorul o intrebuinteaza. Intreg procesul tehnologic se desfasoara in spatii special amejate, curate si cu echipament tehnologic corespunzator. Depozitarea se face in lazi frigorifice speciale.

Astfel, în vederea obținerii colagenului hidrolizat, materia primă este spălată în recipiente cu capacități de 5 ori mai mare decât cantitatea de piele și se face cu apă distilată la temperaturi de 20 ... 24°C pe perioada de 8 ... 10 h.

După spălare se efectuează operații specifice deparării cu oxid de calciu (2 ... 4% raportat la flota totală) pentru 24 ... 48 h.

Urmează un tratament de spălare într-un mediu puternic alcalinizat (pH 10-14) pe o perioadă de 18 ... 24h, având control asupra gradului de gonflare.

Pielea gonflată este scursă pentru a măsura cantitativ apă absorbită, iar pentru reglarea pH-ului este trecută prin flote diferite de acizi organici (tartric și lactic).

Următoarea etapă este cea de hidroliză propriu-zisă la 100 ... 120°C pentru 4 ... 8h, obținându-se o soluție de colagen hidrolizat având pH-ul de 4,5 ... 6,5. După hidroliză se efectuează decantarea, filtrarea și concentrarea în vederea uscării produsului prin atomizare/liofilizarea. Produsul rezultat sub formă de pulbere fină este sterilizat, ambalat și depozitat corespunzător.

În final se obține un colagenul hidrolizat, cu un conținut de substanță uscată de 88 ... 90%, cu un conținut ridicat de azot total 16 ... 18%, azot aminic de 0,5 ... 1,8%, masă moleculară de 5000 ... 40000 Da, cenușă 1 ... 2,5% și grăsimea trebuie să fie nedetectabilă la analiză calitativă și cantitativă.

Avantajele invenției în raport cu stadiul tehnicii

Aplicarea invenției conduce la următoarele avantaje:

- luând în considerare faptul că acumularea condițiilor de infectare decurge de-a lungul unei perioade de incubare de câțiva ani, selectarea animalelor tinere și sănatoase fiind primul factor de reducere a riscului, se selectează pielea de vitel de categoria 15-20 Kg, provenită de la vitei sub 3 ani;
- un proces tehnologic care permite eliminarea sau inactivarea agenților transmisibili găsiți în tesuturile procesate;
- liofilizarea este metoda de condiționare a produselor farmaceutice cea mai sigură din punct de vedere fizico-chimic și microbiologic, uscarea nedepășind 35 ... 38°C;
- atomizarea prezintă avantajul de a fi o metodă eficientă, din punct de vedere al costurilor, pentru obținerea colagenului hidrolizat sub formă de pulbere;
- hidrolizatele obținute prin atomizare/liofilizare prezintă avantajul de a fi stabile fizico-chimic și microbiologic în mediul uscat și se îndrează în termene largi de valabilitate de peste 2 ... 3 ani.

Descrierea detaliata a inventiei:

Procedeul de obtinere, conform inventiei, consta in supunerea pielii bovine unui tratament de deparare cu oxid de calciu (2 ... 4% raportat la flota totala) pe o perioada de 24 ... 48 h, iar apoi este supusa unui proces de spalare intr-un mediu puternic alcalinizat (pH 10 ... 14) pentru 18 ... 24h, avand control asupra gradului de gonflare. Pielea gonflata este scursa, iar pentru reglarea pH-ului este trecuta prin flote diferite de acizi organici (tartric si lactic). Urmatoarea etapa este cea de hidroliza (100 ... 125°C) pentru 4 ... 8h, obtinandu-se o solutie de colagen hidrolizat avand pH-ul de 4,5 ... 6,5. Dupa hidroliza se face decantarea, filtrarea, concentrarea, in vederea uscarii prin atomizare/liofizarea. Produsul rezultat este sterilizat, ambalat si depozitat. Colagenul hidrolizat, conform inventiei, are un continut de substanta uscata de 88 ... 90%, azot total de 16 ... 18%, azot aminic de 0,5 ... 1,8%, masa moleculara de 5000 ... 40000 Da, cenusa 1 ... 2.5% si grasimea trebuie sa fie nedetectabila la analiza calitativa si cantitativa.

Inventia este explicata in detaliu prin urmatoarele exemple:

Exemplul 1

In aceasta inventie materia prima – pielea bovina – este spalata in recipienti cu capacitati de 5 ori mai mare decat cantitatea de piele si se face cu apa distilata pe perioada de 8 ... 10 h.

Dupa spalare urmeaza un tratament de deparare cu oxid de calciu (2 ... 4% raportat la flota totala) pe o perioada de 24 ... 48 h, urmat de spalare intr-un mediu puternic alcalinizat (pH 10 ... 14) pentru 18 ... 24h, avand control asupra gradului de gonflare. Pielea gonflata este scursa pentru a masura cantitativ apa absorbita, iar pentru reglarea pH-ului este trecuta prin flote de acid tartric (1... 10%). Urmatoarea etapa este cea de hidroliza (100 ... 120°C) pentru 4 ... 8h, obtinandu-se o solutie de colagen hidrolizat avand pH-ul de 4,5 ... 6,5. Dupa hidroliza se face decantarea, filtrarea, concentrarea, atomizare pentru obtinerea produsului final sub forma de pulbere, sterilizarea, ambalarea si depozidarea.

Exemplul 2

Procedeul de obtinere a fost similar cu cel descris in Exemplul 1, exceptand procesul de atomizare care fost inlocuit cu cel de liofizare.

Exemplul 3

Procedeul de obtinere a fost similar cu cel descris in Exemplul 2, exceptand agentul pentru reglarea pH-ului, acidul tartric, fiind inlocuit cu acid lactic (1 ... 10%).

Exemplul 4

Procedeul de obtinere a fost similar cu cel descris in Exemplul 1, exceptand neutralizarea cu acizi, reglarea pH-ului fiind obtinuta prin supunerea materiei prime unui nou proces de dializa in apa ultrapura pentru 2 ... 4h.

REVENDICARI

1. Procedeul de obtinere a colagenului hidrolizat utilizat la prepararea produselor cosmetice si in medicina ca agent activ pentru regenerarea tesuturilor, **caracterizat prin aceea ca**, materia prima – piele bovina provenita doar de la vitei sub 3 ani, este supusa unui tratament de deparare cu oxid de calciu (2 ... 4% raportat la flota totala) timp de 2 ... 4h, urmat de o spalare intr-un mediu puternic alcalinizat (pH 10 ... 14) pentru 18 ... 24h, avand control asupra gradului de gonflare, apoi pielea gonflata este scursa, iar pentru reglarea pH-ului este trecuta prin flote diferite de acizi organici (tartric si lactic), respectiv supusa unui proces de dializa, urmand etapa de hidroliza (100 ... 120°C) pentru 4 ... 8h, in vederea obtinerii unei solutii de colagen hidrolizat avand pH-ul de 4,5 ... 6,5, dupa se efectueaza decantarea, filtrarea, concentrarea, uscarea prin atomizare/liofizarea, sterilizarea, ambalarea si depozidarea.

2. Procedeul de obtinere definit in revendicarea 1, **caracterizat prin aceea ca**, colagenul hidrolizat rezultat sub forma de pulbere, de puritate ridicata, are un continut de substanta uscata de 88...90%, azot total de 16...18%, azot aminic de 0,5 ... 1,8%, masa moleculara de 5000 ... 40000 Da, cenusa 1 ... 2.5% si grasimea trebuie sa fie nedetectabila la analiza calitativa si cantitativa.