



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2023 00497**

(22) Data de depozit: **11/09/2023**

(41) Data publicării cererii:
29/03/2024 BOPI nr. **3/2024**

(71) Solicitant:
• **POP NADINA- LIANA, PIAȚA CIPARIU,**
NR.9, AP.58, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• **NAN ALEXANDRINA- EMILIA,**
STR.SOMEȘULUI, NR.5A, AP.21,
FLOREȘTI, CJ, RO

(72) Inventatori:
• **POP NADINA- LIANA, PIAȚA CIPARIU,**
NR.9, AP.58, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• **NAN ALEXANDRINA- EMILIA,**
STR.SOMEȘULUI, NR.5A, AP.21,
FLOREȘTI, CJ, RO

(54) **CREMĂ PE BAZĂ DE NANOPARTICULE MAGNETICE
FUNCȚIONALIZATE CU CAPSAICINĂ**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unei creme pe bază de nanoparticule magnetice funcționalizate cu capsaicină utilizată pentru tratamentul local al durerilor de tip neuropat. Procedeu, conform invenției, constă în etapele: prepararea nanoparticulelor magnetice (MNP) prin reacția de coprecipitare a clorurilor de Fe (II) și Fe(III) în mediu bazic, funcționalizarea MNP cu capsaicină prin adsorbția moleculei de capsaicină pe suprafața MNP, separarea magnetică a MNP-Caps

rezultate, cu spălare și uscare, amestecarea fizică cu ulei de cocos cu ultrasonare la 30°C timp de 2 h, din care rezultă crema pe bază de MNP-Caps-UC, cu proprietăți antialgice și antiinflamatoare, având o valoare a magnetizației de saturație de 18,45 emu/g.

Revendicări: 4
Figuri: 2



DESCRIEREA INVENȚIEI

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MARCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr.	a 2023 de 497
11-09-2023	
Data depozit	

CREMĂ PE BAZĂ DE NANOPARTICULE MAGNETICE FUNCȚIONALIZATE CU CAPSAICINĂ

Abstractul brevetului: În general, prezenta invenție se referă la prepararea unei creme pe bază de nanoparticule magnetice funcționalizate cu capsaicină realizată cu scopul de a induce proprietăți, în principal, antialgice și antiinflamatoare, dar și de regenerare nervoasă periferică, după o leziune nervoasă, pentru crema rezultată. Această cremă este destinată aplicării ei ca tratament conservator, local pentru durerile de orice cauză și, în special, dar nu limitativ, pentru durerile de tip neuropat.

Acest brevet are ca subiect prepararea unei creme de cocos pe bază de nanoparticule magnetice funcționalizate cu capsaicină. Datorită proprietăților antiinflamatoare și antialgice, cât și a biocompatibilității, crema pe bază de nanoparticule magnetice funcționalizate cu capsaicină este o clasă de materiale foarte promițătoare pentru utilizarea lor ca terapie pentru leziunile nervoase periferice, fără a se fi limitate doar pentru această aplicație.

Capsaicina și-a dovedit eficiența în numeroase studii referitor la proprietățile sale antialgice, antiinflamatoare și regenerative, având efecte adverse minime, fiind în general bine suportată și acceptată de către pacienți. Prezenta invenție propune combinarea proprietăților deja cunoscute ale capsaicinei cu proprietățile și efectele nanoparticulelor magnetice, respectiv acelea de a reprezenta sisteme optime de transport a diferitelor substanțe.

O nanoparticulă este o moleculă de dimensiuni cuprinse între 1–100 nm, existând numeroase tipuri de nanomateriale, printre care: nanoparticule din oxid de Fe, nanotuburi de carbon, liposomi, dendrimeri, microsferă polimerice. Unul dintre principalele avantaje ale nanoparticulelor este reprezentat de posibilitatea acestora de a fi funcționalizate cu diverse substanțe, precum medicamente sau substanțe provenite din compuși naturali și pot fi direcționate țintit la locul patologiei, fiind astfel considerate sisteme inteligente de transport și tratament.

Cercetările recente în domeniul medical s-au concentrat în ultimii ani pe studierea diverselor tipuri de nanoparticule, în combinație cu agenți terapeutici cunoscuți sau compuși naturali în curs de cercetare pentru tratamentul unei game foarte largi de patologii, de la

leziuni dermatologice, până la boli interne precum ciroza hepatică sau chiar neoplasme cerebrale.

Printre cele mai studiate nanomateriale sunt nanoparticulelor magnetice, care au fost evaluate, în principal, ca sisteme de transport a medicamentelor și ca metode de terapie țintită. Astfel, agentul medicamentos poate fi direct transportat către sediul patologiei sau leziunii, aspect care determină ca potențialele efecte adverse să fie mult reduse sau chiar absente. Nanoparticulele magnetice sunt alcătuite cel mai adesea din magnetită (Fe_3O_4), au o mobilitate bună datorită dimensiunilor reduse și posedă caracteristici specifice, precum monodispersie (aceeași dimensiune și formă), superparamagnetism, stabilitate și biocompatibilitate, care le fac sisteme de transport eficiente (1).

Funcționalizarea nanoparticulei are rolul de a face nanoparticula stabilă, non-toxică și biodegradabilă în mediul fiziologic. Funcționalizarea presupune „învelirea” nanoparticulei cu un polimer biocompatibil, transformând-o astfel într-o „particulă inteligentă”, formată dintr-un nucleu magnetic (folosit pentru direcționarea țintită a particulelor), un strat de „recunoaștere” (pe care se pot atașa receptori) și o încărcătură terapeutică (1, 2).

Nanoparticulele magnetice sunt raportate în studii de specialitate ca sisteme de transport pentru diferite medicamente încă din anul 1970, când eritrocite magnetice au fost utilizate pentru livrarea unor citostatice (3). În plus, Food and Drug Administration (FDA) din Statele Unite ale Americii (SUA) a aprobat nanoparticulele magnetice din oxid de fier ca agenți de contrast în imagistica prin rezonanță magnetică, sugerând că sunt sigure pentru uzul uman (4).

Un alt avantaj al nanoparticulelor magnetice este acela că acestea pot fi direcționate țintit spre locul leziunii sau patologiei, prin folosirea unui câmp magnetic exterior, astfel substanța activă putând fi menținută la locul de interes un timp mai îndelungat decât în situația aplicării substanței simple, fără nanoparticule magnetice.

Durerea de orice cauză și, mai ales durerea neuropată reprezintă o provocare din punct de vedere terapeutic, în special în cazul cronicizării, cu consecințe multiple asupra calității vieții pacienților. Tratamentul actual al durerii neuropate cuprinde, în principal, medicamente cu administrare sistemică, incluzând diferite antiinflamatoare nonsteroidiene sau antialgice precum gabapentin, pregabalin sau chiar antidepressive triciclice. Medicația sistemică este adesea însoțită de multiple efecte adverse, printre care cele mai frecvente sunt amețea și tulburările cognitive, în timp ce majoritatea pacienților susține o ameliorare modestă a simptomatologiei algice în urma acestor tratamente (5, 6). Având în vedere aceste

aspecte, cercetările s-au concentrat pe studierea diverselor preparate topice pentru tratamentul durerii neuropate, capsaicina fiind recomandată ca tratament de linia a doua în tratarea acestui tip de durere de către Societatea Internațională pentru Studiul Durerii (7) sau chiar pentru tratarea oricărui tip de durere de către Societatea Germană de Neurologie (8).

Capsaicina, 8-metil-N-vanilil-6-nonenamida sau $C_{18}H_{27}O_3N$, este ingredientul activ din ardeiul iute sau chilli și a fost folosită în tratamentul durerii încă din anul 400 î.Hr., fiind ulterior adusă în Europa în anii 1400 de către Columbus. Primele documentări legate de abilitatea capsaicinei de a ameliora durerea datează din anul 1850, când aceasta a fost folosită sub formă de soluție alcoolică în tratamentul durerilor dentare (9).

Mecanismul de acțiune al capsaicinei este legat de subunitatea 1 a receptorului potențial vaniloid (transient receptor potential vanilloid subfamily member 1, TRPV1), receptorul genei care codifică acțiunea capsaicinei (10). TRPV1 reprezintă, de fapt, un canal cationic non-selectiv, a cărui activare este indusă de influxul de sodiu și calciu, producând depolarizarea membranei neuronale și generarea potențialului de acțiune. TRPV1 este regăsit cu precădere la nivelul fibrelor nervoase senzitive de tip C, nociceptiv și la nivelul unor fibre nervoase de tip alfa, stimularea TRPV1 generând durere.

Canalele de tip TRPV1 se deschid, în condiții normale, la o temperatură cuprinsă între 37°C și 45°C, dar în cazul în care diverse substanțe sunt legate de respectivele canale, pragul la care acestea se deschid coboară sub 37°C sau la nivelul temperaturii fiziologice a corpului uman (11). Astfel, legarea canalelor stimulează exocitoza substanței P de la nivelul nociceptorilor, conducând la degranulare mastocitară, cu eliberarea de histamină și serotonină de la nivelul trombocitelor. Nociceptorii transmit semnalele dureroase la nivelul coarnelor dorsale medulare, de la nivelul cărora semnalele ajung la centrii nervoși, unde sunt integrate (12).

Astfel, blocarea TRPV1 prin administrarea de capsaicină în modele experimentale pe șobolani a diminuat semnificativ durerea (13). În plus, studiile au arătat că TRPV1 este implicat și în tulburările de sensibilitate periferică asociate inflamației sau leziunilor nervoase, încercând astfel să se dezvolte diverse preparate cu rol de antagoniști ai TRPV1 ca potențiale analgezice (14, 15, 16).

Primele studii care au evaluat modalitatea de acțiune a capsaicinei au arătat că aceasta a redus nivelul de răspuns al terminațiilor nervoase senzitive, iar aplicațiile repetate au produs o pierdere graduală a sensibilității, fenomen denumit „desensibilizare” (17). Astfel, analgezia indusă de capsaicină este legată de inhibarea funcționării canalului TRPV1, influxul extracelular al ionilor de calciu prin TRPV1 stimulând multiple procese

dependente de calciu, precum activarea calmodulinei și calcineurinei, conducând la diminuarea răspunsului TRPV1 la aplicațiile repetate de capsaicină (18, 19, 20). Acest răspuns redus al TRPV1 este reversibil, explicând astfel fenomenul de desensibilizare (21).

Studii ulterioare au demonstrat că dozele mici de capsaicină reduc doar răspunsurile nervoase la capsaicină, nu și la alți agenți iritanți, ceea ce produce o „desensibilizare specifică”. În schimb, la doze mari de capsaicină, răspunsurile nervoase sunt reduse atât la capsaicină, cât și la alți stimuli sau produși iritanți, reprezentând o „desensibilizare non-specifică” (22, 23). În alte studii, desensibilizarea a fost împărțită în două tipuri: de scurtă durată, respectiv de lungă durată în funcție de doza de capsaicină administrată, durata tratamentului, reversibilitatea efectelor și mecanismele biologice implicate. Astfel, s-a constatat că o doză redusă de capsaicină produce o desensibilizare de scurtă durată, întrucât efectele aplicării durează doar câteva ore și se datorează, cel mai probabil, deficitului funcțional al aferențelor nervoase primare, fără a fi prezente modificări structurale. În cazul administrării unor doze mari de capsaicină, efectele pot dura chiar și câteva luni, desensibilizarea pe termen lung producându-se prin ablația structurală a terminațiilor aferente. Aceste modificări nu sunt separate foarte strict în realitate, deoarece dozele crescute de capsaicină pot produce inițial un deficit funcțional, urmat ulterior de ablația structurală, în timp ce efectele aplicațiilor repetate de doze mici de capsaicină se pot cumula în timp, producând astfel o desensibilizare de lungă durată (24).

Desensibilizarea specifică post administrare topică de capsaicină se crede că este, cel mai probabil, datorată desensibilizării TRPV1. Desensibilizarea de scurtă durată pare a fi mediată de inhibarea canalelor ionice neuronale ca urmare a activării TRPV1 de către capsaicină. Desensibilizarea de lungă durată pare să fie calciu-dependentă și realizată prin ablația terminațiilor nervoase aferente produsă de TRPV1 (25).

Studiile pe oameni au arătat că dozele mari de capsaicină au redus densitatea fibrelor nervoase epidermale cu până la 80% (26, 27), însă efectele pe termen lung ale capsaicinei asupra somesteziei nu sunt încă foarte bine elucidate. Fibrele nervoase epidermale sunt alcătuite din nociceptori peptidergici și non-peptidergici de tip TRPV1. În cazul unei leziuni nervoase periferice parțiale, se produce o degenerare preferențială a aferențelor non-peptidergice, reducându-se astfel densitatea fibrelor nervoase epidermale. Inflamația și degenerarea walleriană subsecvente vor sensibiliza aferențele peptidergice rămase intacte, acestea din urmă fiind sensibile la aplicarea capsaicinei, care va începe să determine ablația aferențelor terminale din prima zi de administrare, producând astfel analgezie. În plus, capsaicina stimulează regenerarea aferențelor degenerate într-un interval de timp de 8

săptămâni în modelele experimentale realizate pe șoareci, moment în care durerea neuropată reappare, putându-se utiliza din nou capsaicina pentru ameliorarea durerii. În schimb, în cazul în care neuropatia este severă sau cronică, densitatea fibrelor nervoase epidermale se va reduce progresiv, iar administrarea topică de capsaicină nu va mai fi capabilă să genereze analgezie.

Administrarea injectabilă sistemică, precum și administrarea intratecală de capsaicină la șobolani a redus cu până la 50% cantitatea de substanță P de la nivelul coarnelor posterioare ale măduvei spinării, fără a degenera aferențele primare (28, 29). Acest fenomen nu explică în totalitate analgezia indusă de capsaicină, tratamentul cu capsaicină stimulând în același timp și eliberarea de somatostatina, neuropeptidă anti-noicieptivă, de la nivelul neuronilor TRPV1 (30, 31). Acest proces explică faptul că la pacienții cu dureri lombare joase, după aplicarea topică de capsaicină reducerea durerii este însoțită de o creștere plasmatică a somatostatinei (32).

Capsaicina pare să producă efecte inclusiv la nivel mitocondrial, contribuind la ablația terminațiilor nociceptive. Studiile au relevat că injectarea intradermică de capsaicină 1% la nivelul labei posterioare la șobolani induce inflamație axonală și reducerea densității fibrelor nervoase în termen de 7 zile. Injectarea capsaicinei mobilizează mitocondriile la nivelul periferiei terminațiilor axonale, ceea ce poate conduce la o acumulare mitocondrială la acest nivel, furnizând energie și menținând homeostazia calciului la locul injectării capsaicinei (9). Cu toate acestea, disfuncția mitocondrială la nivelul locului de injectare a capsaicinei pare să contribuie la degenerarea axonală (9).

Administrarea capsaicinei activează circuitele cerebrale într-un studiu pe șobolani în care s-a folosit imagistica prin rezonanță magnetică funcțională. Rezultatele au arătat că tratamentul cu capsaicină a activat circuitele implicate în percepția durerii senzoriale, incluzând girusul cingulat anterior, amigdala, nucleul parabrahial și cortexul somatosenzitiv (9).

Așadar, capsaicina a fost studiată intens în tratamentul local al durerii, fiind aplicată sub formă de geluri, creme, spray sau plasturi. Studiile au arătat o bună eficacitate analgezică a plasturilor cu capsaicină în concentrație de 8%, o singură aplicație de 60 de minute fiind capabilă să inducă analgezie ce durează până la trei luni. Aplicațiile locale de capsaicină s-au dovedit a avea o absorbție sistemică limitată, cu un timp de înjumătățire de aproximativ 1,6 ore (33). De asemenea, capsaicina aplicată topic nu interacționează cu enzimele hepatice ale citocromului P450 și, astfel, nu afectează metabolismul altor medicamente, putând fi administrată în combinație cu alte analgezice.

Studiile medicale privind evaluarea eficacității aplicațiilor topice de capsaicină au relevat că o singură aplicație pe zi ameliorează durerea neuropată asociată HIV sau nevralgia post-herpetică după doar trei zile de tratament, efect menținut pentru o perioadă de aproximativ cinci luni (34). De asemenea, capsaicina s-a dovedit mai eficace decât pregabalin în tratamentul durerii din leziunile nervoase periferice, în special în ceea ce privește durerea de tip mecanic (35, 36). În tratamentul durerii asociate neuropatiei diabetice, plasturii cu capsaicină 8% au avut rezultate similare privind reducerea durerii cu preparate sistemice precum pregabalin, gabapentin sau duloxetina, însă fără a produce efectele adverse specifice medicației sistemice (amețeli, somnolență) (37). Capsaicina a redus durerea spontană și durerea de tip mecanic în neuropatia periferică indusă de chimioterapie, precum și durerea de tip „membru fantomă” (38, 39).

În cazul neuropatiilor periferice, efectele antialgice ale plasturilor cu capsaicină 8% durează aproximativ 12 săptămâni, tratamentul necesitând a fi reluat după acest interval de timp, dacă durerea persistă (40). Se consideră că aferențele peptidergice denervate de către capsaicină se regenerează în timp, studii electrofiziologice arătând că potențialele evocate se reduc la 2 ore după aplicarea topică a capsaicinei, dar acestea reapar după 2 zile (41).

La anumiți pacienți cu neuropatie periferică dureroasă, nociceptorii de tip C sunt hiperexcitabili, ceea ce determină hiperalgezie mecanică și durere spontană cu caracter de arsură (42). Acest tip de pacienți prezintă reacții vasoactive induse de capsaicină mult mai puternice decât pacienții cu neuropatie periferică non-dureroasă sau cei sănătoși (43). Aceste fenomene ar putea fi explicate de faptul că nociceptorii de tip C stimulează răspunsul axonal reflex, asociat cu durerea cu caracter de arsură și hiperalgezia secundară (44), sugerând posibilitatea existenței unui subtip de aferențe TRPV1 hiperexcitabile, care contribuie la menținerea durerii cronice în neuropatia periferică, însă această teorie nu a fost pe deplin demonstrată.

Plasturii cu capsaicină 8% au fost aprobați de către FDA (Food and Drug Administration) din Statele Unite ale Americii în 2009 pentru tratamentul durerii neuropate din nevralgia post-herpetică, iar, în 2020, pentru tratamentul durerii din neuropatia periferică diabetică, în timp ce în Uniunea Europeană plasturii sunt aprobați în tratamentul oricărui tip de durere neuropată, singular sau în combinație cu altă medicație analgezică.

Pe lângă indicațiile capsacinei în tratamentul durerii neuropate, studii au raportat capacitatea acesteia de a ameliora durerea produsă de artroza genunchiului. Un review sistematic a arătat eficacitatea capsacinei aplicate sub formă de cremă, zilnic, de 4 ori/zi în reducerea durerii asociate artrozei (45). Alte studii au raportat ameliorarea durerii în artroza

de genunchi post injecții intraarticulare cu capsaicină, efect care a durat până la 24 de săptămâni. Inhibarea TRPV1 ameliorează durerea asociată artrozei genunchiului, precum și echilibrul în mers în modelele experimentale realizate pe șobolani (46). Injecțiile intraarticulare cu agoniști ai TRPV1 precum capsaicina au redus inflamația, durerea asociată urcatului scării și au îmbunătățit distribuția greutatei pe membrele inferioare, prin ablația aferențelor terminale ale TRPV1 existente la nivelul genunchilor (9).

Efectele adverse raportate ale aplicărilor locale de capsaicină sunt modeste și includ, în principal, reacții dermice locale de tip iritație, prurit, eritem, durere sau creșteri tranzitorii ale presiunii arteriale (9). Studii în domeniu au ridicat problema administrării repetate a capsaicinei din cauza unui potențial efect cancerigen, care s-a dovedit a fi produs de impuritățile din diferitele extracte de capsaicină (9), alte studii raportând chiar efecte antineoplazice ale capsaicinei (47). De asemenea, capsaicina ameliorează durerea din neuropatia periferică a pacienților neoplazici sau durerea post leziune de măduva spinării sau post mastectomie (48).

Capsaicina pare să încetinească activitatea neoplazică, creșterea, angiogeneza și metastazarea celulelor tumorale, însă capacitatea capsaicinei de a deveni un veritabil medicament antineoplazic este discutabilă din cauza solubilității reduse a acesteia, a timpului de înjumătățire scurt (aproximativ 12 minute în sânge), precum și a efectelor adverse, cele mai frecvente fiind greața, vărsăturile, diareea, durerile abdominale. Având în vedere aceste aspecte, au fost concepute și studiate diverse substanțe și modalități de încapsulare a capsaicinei, pentru a îi spori solubilitatea și contracara efectele adverse. Combinațiile care implică o eliberare lentă a capsaicinei s-au dovedit a avea activitate anti-tumorală în studiile pe culturi celulare și modele experimentale pe șobolani, având capacitatea de a distruge celulele canceroase, cu efecte adverse minime pe celulele normale. Diverse combinații au fost capabile să elibereze simultan atât capsaicina, cât și agentul chimioterapeutic, potențând astfel capacitatea anti-tumorală a acestuia din urmă (49).

Capsaicina a fost studiată în combinație cu diverse tipuri de nanoparticule în tratamentul diferitelor patologii, precum și ca sistem de transport al substanțelor medicamentoase, cu rezultate promițătoare. Astfel, capsaicina a fost folosită ca mediu bio-reducător în formarea nanoparticulelor din argint, confirmată prin FTIR (Fourier-transform infrared spectroscopy - spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier), nanoparticulele formate având dimensiuni între 20-30nm. Nanoparticulele din argint încărcate cu capsaicină s-au dovedit a fi biocompatibile, putând fi utilizate ca sisteme de transport a diverselor substanțe medicamentoase (50).

Un alt studiu a evaluat caracteristicile fizico-chimice și farmacologice ale nanoparticulelor magnetice funcționalizate cu capsaicină preparate printr-o reacție de coprecipitare ca sisteme de transport, *in vitro*, iar ulterior folosind un model experimental de inflamație la șobolani. Rezultatele au arătat că nanoparticulele au avut dimensiuni cuprinse între 10 și 20 nm și au redus inflamația indusă la nivelul labei posterioare a șobolanilor, precum și durerea resimțită de aceștia, fără a produce reacții adverse sistemice (51).

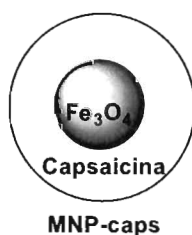
Nanoparticulele încărcate cu capsaicină au fost studiate și din perspectiva gradului de absorbție în urma administrării orale, la șobolani masculi, în doză de 35mg/kg, la care s-a analizat și aspectul mucoasei gastrice prin microscopie electronică. Nanoparticulele cu capsaicină utilizate au avut diametrul de aproximativ 83nm, concentrația maximă plasmatică observându-se la aproximativ 4 ore post administrare, o parte a nanoparticulelor fiind detectabilă în ser chiar și la 36 de ore de la administrare. Studiile histologice au relevat o reducere a gradului de iritație a mucoasei gastrice a nanoparticulelor cu capsaicină comparativ cu preparatul de capsaicină simplă administrat, sugerând o mai bună tolerabilitate a capsaicinei atunci când aceasta este legată de nanoparticule (52).

Cercetările în domeniu au studiat potențialul terapeutic al nanoparticulelor cu capsaicină în tratamentul diverselor tipuri de neoplasme. Nanoparticulele lipidice funcționalizate cu capsaicină s-au dovedit a fi biocompatibile și cu o bună stabilitate în tratamentul carcinomului hepatocelular. Mai mult, nanoparticulele funcționalizate cu capsaicină par a fi stabile în circulație pentru o perioadă de până la trei zile și au demonstrat activitate antitumorală importantă (53).

Capsaicina a fost studiată în combinație cu diverse tipuri de nanoparticule pentru aplicații topice. O astfel de combinație este reprezentată de către nanoparticulele lipidice încărcate cu capsaicină, concepute în vederea îmbunătățirii permeabilității capsaicinei, alături de obținerea efectelor antialgice și antiinflamatorii, asociind o iritație dermică locală minimă. Nanoparticulele lipidice funcționalizate cu capsaicină aplicate sub formă de gel au stimulat gradul de absorbție epidermală a capsaicinei, aceasta rămânând o perioadă mai îndelungată de timp la locul aplicării, fără a produce efecte citotoxice semnificative. Studiile *in vivo* au demonstrat că nanoparticulele lipidice funcționalizate cu capsaicină au ameliorat pragul dureros și gradul inflamației, prin reducerea nivelurilor de prostaglandină E2 la nivelul țesuturilor comparativ cu crema cu capsaicină simplă. Mai mult, iritațiile de la nivelul pielii produse de capsaicină au fost mult reduse în cazul nanoparticulelor lipidice funcționalizate cu capsaicină, acestea putând reprezenta veritabile sisteme de transport în terapia topică cu capsaicină (54).

Nanoparticulele lipidice par a fi capabile să încapsuleze o cantitate relativ crescută de capsaicină (0.25%), iar eliberarea capsaicinei din nanoparticule la nivelul tegumentelor este prelungită față de eliberarea capsaicinei simple. De asemenea, nanoparticulele lipidice încărcate cu capsaicină stimulează penetrarea transdermică a capsaicinei, ceea ce determină o reducere a gradului de iritație dermică asociat aplicării locale de capsaicină (55).

Capsaicina în combinație cu nanoparticule lipidice a fost studiată inclusiv în tratamentul local al psoriazisului. Rezultatele au arătat o acumulare crescută a capsaicinei la nivelul tuturor straturilor dermice, nanoparticulele lipidice reprezentând sisteme de transport eficiente a capsaicinei în terapia topică a psoriazisului (56).



Formula 1

Obiectivul prezentei invenții este acela de a obține prepararea unei creme de ulei de cocos pe bază de nanoparticule magnetice funcționalizate cu capsaicină. Această cremă este preparată prin sinteza în prealabil a nanoparticulelor magnetice care mai apoi sunt funcționalizate cu capsaicină și înglobate în uleiul de cocos.

Explicarea pe scurt a schemelor și figurilor:

Schema 1: Sinteza nanoparticulelor magnetice funcționalizate cu capsaicină.

Schema 2: Prepararea cremei pe bază de nanoparticule magnetice funcționalizate cu capsaicină.

Figura 1: Spectroscopia FTIR pentru nanoparticulele magnetice, nanoparticule magnetice funcționalizate cu capsaicină și a cremei finale. În spectrul FTIR al nanoparticulelor magnetice funcționalizate cu capsaicină **MNP-caps** se pot observa atât benziile de adsorbție ale părții organice caracteristice capsaicinei cât și benziile specifice părții anorganice atribuite oxidului de fier. Astfel la valoarea lungimii de undă de 2848 și 2917cm⁻¹ sunt prezente benziile de adsorbție atribuite grupărilor metil din lanțul atașat inelului benzenic. La valoarea lungimii de undă de 1620cm⁻¹ este vizibilă banda de adsorbție caracteristică legăturii amidice OC-NH iar la valoarea de 1412cm⁻¹ apare banda de adsorbție specifică legăturii C=C din inelul benzenic al capsaicinei. Iar banda de adsorbție specifică legăturii Fe-O apare despicată cu două vârfuri la 561 respectiv la 637cm⁻¹.

Despicarea benzii dată de gruparea Fe-O se datorează legării pe suprafața nanoparticulelor de oxid de fier a moleculei de capsaicină. În spectrul FTIR al cremei cu nanoparticule magnetice funcționalizate cu capsaicină **MNP-caps-UC** se vede clar apariția unor noi benzi de adsorbție care sunt atribuite moleculelor din uleiul de cocos. Astfel benziile aflate la valorile lungimii de undă de 2855, respectiv 2924 cm^{-1} caracteristice grupărilor -CH₂- sunt mult mai intense datorită contribuțiilor aduse de lanțurile alchil prezente în moleculele uleiului de cocos. Iar apariția benzii de adsorbție intensă, de la valoarea lungimii de undă 1742 cm^{-1} este specifică legăturii C=O din grupările carboxil și esterice ale uleiului de cocos, bandă care lipsește din spectrul FTIR al MNP-caps. Iar banda de adsorbție specifică legăturii Fe-O apare tot despicat cu vârfuri la valorile lungimii de undă de 581 respectiv 637 cm^{-1} , intensitatea benzii este mult mai puțin intensă decât în cazul MNP-caps datorită faptului că nanoparticulele de oxid de fier sunt foarte acoperite, iar semnalul dat este foarte slab.

Figura 2: Microscopia electronică în transmisie (TEM) pentru nanoparticulele magnetice având suprafață modificată cu capsaicină **MNP-caps** care fac obiectul acestui brevet. Imaginea de microscopie a nanoparticulelor magnetice, demonstrează formarea de nanoparticule individuale bine dispersate cu dimensiunea medie de 10-14nm, fără formare de agregate.

Figura 3: Comportarea magnetizării în funcție de câmpul magnetic aplicat la temperatura camerei pentru nanoparticulele magnetice **MNP-Caps** și **MNP-Caps-UC**. Magnetizarea are comportare superparamagnetică și valoarea de saturație pentru nanoparticulele acoperite cu capsaicină **MNP-Caps** este de 65.2emu/g iar pentru crema pe bază de nanoparticulele magnetice funcționalizate cu capsaicină este de 18.45emu/g. Valorile magnetizației de saturație pentru **MNP-Caps-UC** se modifică drastic datorită înglobării nanoparticulelor magnetice în uleiul de cocos.

Prepararea cremei cu nanoparticule magnetice funcționalizate cu capsaicină folosită ca și cremă antiinflamatoare, se realizează în trei pași de reacție. În primă fază are loc prepararea nanoparticulelor magnetice prin reacția de coprecipitare a clorurilor de Fe(II) și Fe(III) în mediul bazic iar apoi aceste MNP sintetizate adsorbția capsaicinei pe suprafața nanoparticulelor magnetice, după procesul de adsorbție acestea sunt de asemenea separate, spălate și uscate. Ultimul pas în prepararea cremei este amestecarea fizică a nanoparticulelor magnetice funcționalizate cu capsaicină cu ulei de cocos.

Se prezintă în continuare un exemplu concret nelimitativ, de realizare a invenției.

Exemplul 1. Într-un balon de 100ml se dizolvă în 30ml apă 0.5g capsaicină și se dispersează 1g nanoparticule magnetice **MNP**, suspensia este lasată la temperatura camerei timp de 24 de ore, sub agitare magnetică. După terminarea reacției, nanostructurile magnetice **MNP-Caps** rezultate sunt separate magnetic din masa de reacție și apoi spălate succesiv cu apă și acetonă iar apoi sunt uscate în etuva la temperatura de 60°C. Într-un pahar berzelius de 50ml se pun 9g ulei de cocos și 0.9g nanoparticule magnetice, care se ultrasonează la 30°C timp de două ore pentru a asigura omogenitatea cremei de **MNP-caps-UC** preparate.

Referințe bibliografice:

1. Assa F, Jafarizadeh-Malmiri H, Ajamein H, et al. Chitosan magnetic nanoparticles for drug delivery Systems. *Crit Rev Biotechnol.* 2016;1-19.
2. Chomoucka J, Drbohlavova J, Huska D, et al. Magnetic nanoparticles and targeted drug delivering. *Pharmacol Res.* 2010;62:144–149.
3. Zimmermann U, Pilwat G. Organ specific application of drugs by means of cellular capsule systems. *J Biosci.* 1976;31:732–736.
4. Nichols JW, Bae YH. EPR: evidence and fallacy. *J Control Release.* 2014;190:451–464.
5. Bannister K, Sachau J, Baron R, Dickenson AH. Neuropathic pain: mechanism-based therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2020;60:257-274. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010818-021524.
6. Finnerup NB, Attal N, Haroutounian S, McNicol E, Baron R, Dworkin RH, et al. Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol.* 2015;14(2):162-73. doi: 10.1016/S1474-4422(14)70251-0.
7. Pickering G, Martin E, Tiberghien F, Delorme C, Mick G. Localized neuropathic pain: an expert consensus on local treatments. *Drug Des Devel Ther.* 2017;11:2709-2718. doi: 10.2147/DDDT.S142630.
8. Baron R, Binder A, Attal N, Casale R, Dickenson AH, Treede RD. Neuropathic low back pain in clinical practice. *Eur J Pain.* 2016;20(6):861-73. doi: 10.1002/ejp.838.
9. Vipin Arora, James N. Campbell, Man-Kyo Chung. Fight fire with fire: Neurobiology of capsaicin-induced analgesia for chronic pain. *Pharmacology&Therapeutics.* 2021;220: 107743.

10. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*. 1997;389(6653):816-24. doi: 10.1038/39807.
11. Spicarová D, Paleček J. The role of spinal cord vanilloid (TRPV1) receptors in pain modulation. *Physiol Res*. 2008;57(3):69-S77. doi: 10.33549/physiolres.931601.
12. Alawi K, Keeble J. The paradoxical role of the transient receptor potential vanilloid 1 receptor in inflammation. *Pharmacol Ther*. 2010;125(2):181-95. doi: 10.1016/j.pharmthera.2009.10.005.
13. Caterina MJ, Leffler A, Malmberg AB, Martin WJ, Trafton J, Petersen-Zeitz KR, et al. Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. *Science*. 2000;288(5464):306-13. doi: 10.1126/science.288.5464.306.
14. Brederson JD, Kym PR, Szallasi A. Targeting TRP channels for pain relief. *Eur J Pharmacol*. 2013;716(1-3):61-76.
15. Chung HY, Lee EK, Choi YJ, Kim JM, Kim DH, Zou Y, et. Molecular inflammation as an underlying mechanism of the aging process and age-related diseases. *J Dent Res*. 2011;90(7):830-40.
16. Szallasi A, Sheta M. Targeting TRPV1 for pain relief: limits, losers and laurels. *Expert Opin Investig Drugs*. 2012;21(9):1351-69. doi: 10.1517/13543784.2012.704021.
17. Jancsó G, Sántha P. The foundation of sensory pharmacology: Nicholas (Miklós) Jancsó and the Szeged contribution. *Temperature (Austin)*. 2015;2(2):152-7.
18. Wang S, Joseph J, Ro JY, Chung MK. Modality-specific mechanisms of protein kinase C-induced hypersensitivity of TRPV1: S800 is a polymodal sensitization site. *Pain*. 2015;156(5):931-941.
19. Koplas PA, Rosenberg RL, Oxford GS. The role of calcium in the desensitization of capsaicin responses in rat dorsal root ganglion neurons. *J Neurosci*. 1997;17(10):3525-37.
20. Numazaki M, Tominaga T, Takeuchi K, Murayama N, Toyooka H, Tominaga M. Structural determinant of TRPV1 desensitization interacts with calmodulin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(13):8002-6.
21. Vyklický L, Nováková-Toušová K, Benedikt J, Samad A, Touška F, Vlachová V. Calcium-Dependent Desensitization of Vanilloid Receptor TRPV1: A Mechanism Possibly Involved in Analgesia Induced by Topical Application of Capsaicin. *Physiol. Res*. 2008;57:59–68.
22. Szolcsányi J, Pintér E. Transient receptor potential vanilloid 1 as a therapeutic target in analgesia. *Expert Opin Ther Targets*. 2013;(6):641-57.

23. Holzer P. Capsaicin: cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacol Rev.* 1991;43(2):143-201.
24. Chanda S, Bashir M, Babbar S, Koganti A, Bley K. In vitro hepatic and skin metabolism of capsaicin. *Drug Metab Dispos.* 2008;36(4):670-5.
25. Chung MK, Campbell JN. Use of Capsaicin to Treat Pain: Mechanistic and Therapeutic Considerations. *Pharmaceuticals (Basel).* 2016;9(4):66.
26. Polydefkis M, Hauer P, Sheth S, Sirdofsky M, Griffin JW, McArthur JC. The time course of epidermal nerve fibre regeneration: studies in normal controls and in people with diabetes, with and without neuropathy. *Brain.* 2004;127:1606-15.
27. Simone DA, Nolano M, Johnson T, Wendelschafer-Crabb G, Kennedy WR. Intradermal injection of capsaicin in humans produces degeneration and subsequent reinnervation of epidermal nerve fibers: correlation with sensory function. *J Neurosci.* 1998;18(21):8947-59.
28. Jessell TM, Iversen LL, Cuello AC. Capsaicin-induced depletion of substance P from primary sensory neurones. *Brain Res.* 1978;152(1):183-8.
29. Yaksh TL, Farb DH, Leeman SE, Jessell TM. Intrathecal capsaicin depletes substance P in the rat spinal cord and produces prolonged thermal analgesia. *Science.* 1979;206(4417):481-3.
30. Helyes Z, Szabó A, Németh J, Jakab B, Pintér E, Bánvölgyi A, et al. Antiinflammatory and analgesic effects of somatostatin released from capsaicin-sensitive sensory nerve terminals in a Freund's adjuvant-induced chronic arthritis model in the rat. *Arthritis Rheum.* 2004;50(5):1677-85. doi: 10.1002/art.20184.
31. Szolcsányi J, Helyes Z, Oroszi G, Németh J, Pintér E. Release of somatostatin and its role in the mediation of the anti-inflammatory effect induced by antidromic stimulation of sensory fibres of rat sciatic nerve. *Br J Pharmacol.* 1998;123(5):936-42.
32. Horvath S, Erhart W, Brosch M, Ammerpohl O, von Schönfels W, Ahrens M, et al. Obesity accelerates epigenetic aging of human liver. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014;111(43):15538-43.
33. Babbar S, Marier JF, Mouksassi MS, Beliveau M, Vanhove GF, Chanda S, Bley K. Pharmacokinetic analysis of capsaicin after topical administration of a high-concentration capsaicin patch to patients with peripheral neuropathic pain. *Ther Drug Monit.* 2009;31(4):502-10.
34. Mou J, Paillard F, Turnbull B, Trudeau J, Stoker M, Katz NP. Qutenza (capsaicin) 8% patch onset and duration of response and effects of multiple treatments in neuropathic pain patients. *Clin J Pain.* 2014;30(4):286-94.

35. Kennedy WR, Vanhove GF, Lu S, Tobias J, Bley KR, Walk D, et al. a randomized, controlled, open-label study of the long-term effects of ngx-4010, a high-concentration capsaicin patch, on epidermal nerve fiber density and sensory function in healthy volunteers. *The Journal of Pain*. 2010;579-587.
36. Moller AT, Feldt-Rasmussen U, Rasmussen ÅK, Sommer C, Hasholt L, Bach FW, et al. Small-fibre neuropathy in female Fabry patients: Reduced allodynia and skin blood flow after topical capsaicin. *Journal of the Peripheral Nervous System*. 2006;11(2):119–125.
37. van Nooten F, Treur M, Pantiri K, Stoker M, Charokopou M. Capsaicin 8% Patch Versus Oral Neuropathic Pain Medications for the Treatment of Painful Diabetic Peripheral Neuropathy: A Systematic Literature Review and Network Meta-analysis. *Clin Ther*. 2017;39(4):787-803.e18.
38. Anand P, Elsaifa E, Privitera R, Naidoo K, Yiangou Y, Donatien P, Gabra H, Wasan H, Kenny L, Rahemtulla A, Misra P. Rational treatment of chemotherapy-induced peripheral neuropathy with capsaicin 8% patch: from pain relief towards disease modification. *J Pain Res*. 2019;12:2039-2052.
39. Privitera R, Birch R, Sinisi M, Mihaylov IR, Leech R, Anand P. Capsaicin 8% patch treatment for amputation stump and phantom limb pain: a clinical and functional MRI study. *Journal of Pain Research*. 2017;10:1623–34.
40. Mou J, Paillard F, Turnbull B, Trudeau J, Stoker M, Katz NP. Efficacy of Qutenza® (capsaicin) 8% patch for neuropathic pain: a meta-analysis of the Qutenza Clinical Trials Database. *Pain*. 2013;154(9):1632-1639.
41. Papagianni A, Siedler G, Sommer C, Üçeyler N. Capsaicin 8% patch reversibly reduces A-delta fiber evoked potential amplitudes. *Pain Rep*. 2018;3(2):e644.
42. Ochoa JL, Campero M, Serra J, Bostock H. Hyperexcitable polymodal and insensitive nociceptors in painful human neuropathy. *Muscle Nerve*. 2005;32(4):459-72. doi: 10.1002/mus.20367.
43. Forstenpointner J, Naleschinski D, Wasner G, Hüllemann P, Binder A, Baron R. Sensitized vasoactive C-nociceptors: key fibers in peripheral neuropathic pain. *Pain Rep*. 2019;4(1):e709.
44. Sauerstein K, Liebelt J, Namer B, Schmidt R, Rukwied R, Schmelz M. Low-frequency stimulation of silent nociceptors induces secondary mechanical hyperalgesia in human skin. *Neuroscience*. 2018;387:4-12.
45. Laslett LL, Jones G. Capsaicin for osteoarthritis pain. *Prog Drug Res*. 2014;68:277-91.

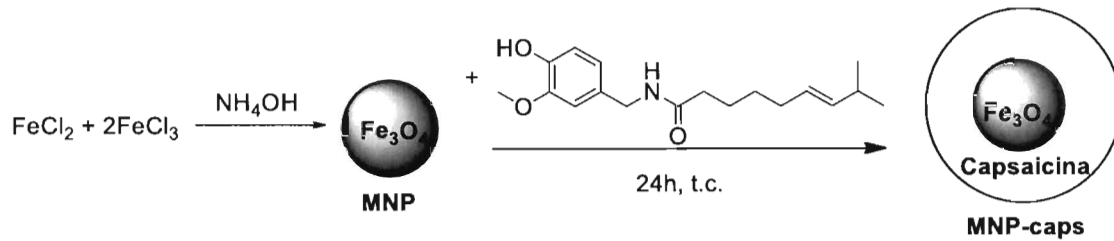
46. Barton NJ, McQueen DS, Thomson D, Gauldie SD, Wilson AW, Salter DM, et al. Attenuation of experimental arthritis in TRPV1R knockout mice. *Experimental and Molecular Pathology*. 2006;81(2):166–170.
47. Bley K, Boorman G, Mohammad B, McKenzie D, Babbar S. A comprehensive review of the carcinogenic and anticarcinogenic potential of capsaicin. In *Toxicologic Pathology*. 2012;847–873.
48. Peppin JF, Pappagallo M. Capsaicinoids in the treatment of neuropathic pain: a review. *Ther Adv Neurol Disord*. 2014;7(1):22–32.
49. Merritt JC, Richbart SD, Moles EG, Cox AJ, Brown KC, Miles SL, et al. Anti-cancer activity of sustained release capsaicin formulations. *Pharmacology & Therapeutics*. 2022;238:108177.
50. Amruthraj NJ, Preetam RJP, Lebel A. Capsaicin-capped silver nanoparticles: its kinetics, characterization and biocompatibility assay, *Applied Nanoscience*. 2015;(5):403-409. *Applied Nanoscience volume 5, pages403–409 (2015)*.
51. Baskaran M, Baskaran P, Arulsamy N, Baskaran T. Preparation and evaluation of plga-coated capsaicin magnetic nanoparticles, *Pharm Res*. 2017;34(6):1255-1263.
52. Peng Wei, Jiang Xin-yi, Zhu Yuan, Omari-Siaw E, Deng Wen-wen, Yu Jiang-nan, Xu Xi-ming, Zhang Wei-ming, Oral delivery of capsaicin using MPEG-PCL nanoparticles, *Acta Pharmacologica Sinica*. 2015;36:139–148.
53. Kunjiappan S, Sankaranarayanan M, Kumar Banoth K, Pavadai P, Babkiewicz E, Maszczyk P, et al. Capsaicin-loaded solid lipid nanoparticles: design, biodistribution, in silico modeling and in vitro cytotoxicity evaluation, *Nanotechnology*. 2021;32(9):095101.
54. Wang XR, Gao SQ, Niu XQ, Li LJ, Ying XY, Hu ZJ, Ga JQ. Capsaicin-loaded nanolipoidal carriers for topical application: design, characterization, and in vitro/in vivo evaluation. *Int J Nanomedicine*. 2017;12:3881–3898.
55. Phunsuk Anantaworasakul, Wantida Chaiyana, Bozena B. Michniak-Kohn, Wandee Rungseevijitprapa, Chadarat Ampasavate, Enhanced Transdermal Delivery of Concentrated Capsaicin from Chili Extract-Loaded Lipid Nanoparticles with Reduced Skin Irritation. *Pharmaceutics*. 2020;12(5):463.
56. Agrawal Udit, Gupta Madhu, Vyas S.P. Capsaicin delivery into the skin with lipidic nanoparticles for the treatment of psoriasis. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 2015;43:33–39.

REVENDICĂRI

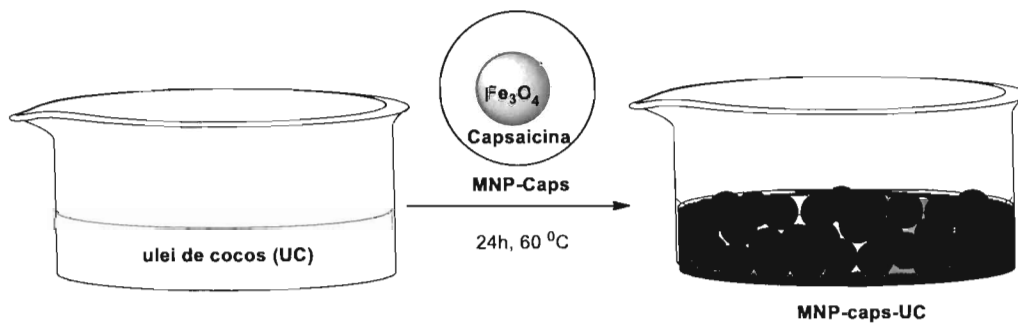
CREMĂ PE BAZĂ DE NANOPARTICULE MAGNETICE FUNCȚIONALIZATE CU
CAPSAICINĂ

1. Nanoparticule magnetice funcționalizate cu capsaicină, **caracterizate prin aceea că**, au valori ridicate ale magnetizării de saturație 65.2 emu/g și conțin în structura lor, dimensiunea determinată din microscopia de transmisie fiind cuprinsă între 10-14 nm.
2. Cremă de ulei de cocos pe bază de nanoparticule magnetice funcționalizate cu capsaicină, **caracterizate prin aceea că**, are valoarea magnetizării de saturație de 18.45 emu/g.
3. Metodă de preparare a cremei de ulei de cocos pe bază de nanoparticule magnetice funcționalizate cu capsaicină, **caracterizată prin aceea că**, are loc prin ultrasonarea nanoparticulelor magnetice funcționalizate cu capsaicină în uleiul de cocos la temperatura de 30°C timp de două ore.
4. Tipul de patologie pentru care poate fi utilizată crema de ulei de cocos pe bază de nanoparticule magnetice funcționalizate cu capsaicină, **caracterizată prin aceea că** această cremă poate fi folosită în terapia locală a durerilor de orice cauză.

DESENE
CREMĂ PE BAZĂ DE NANOPARTICULE MAGNETICE FUNCȚIONALIZATE CU
CAPSAICINĂ



Schema 1



Schema 2

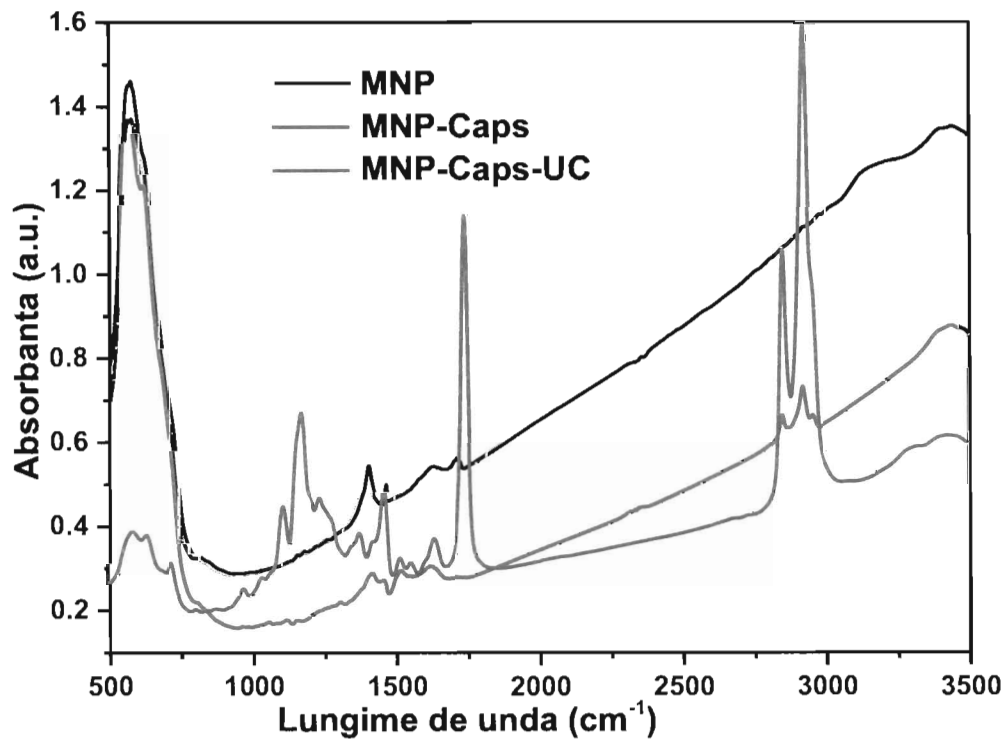


Figura 1

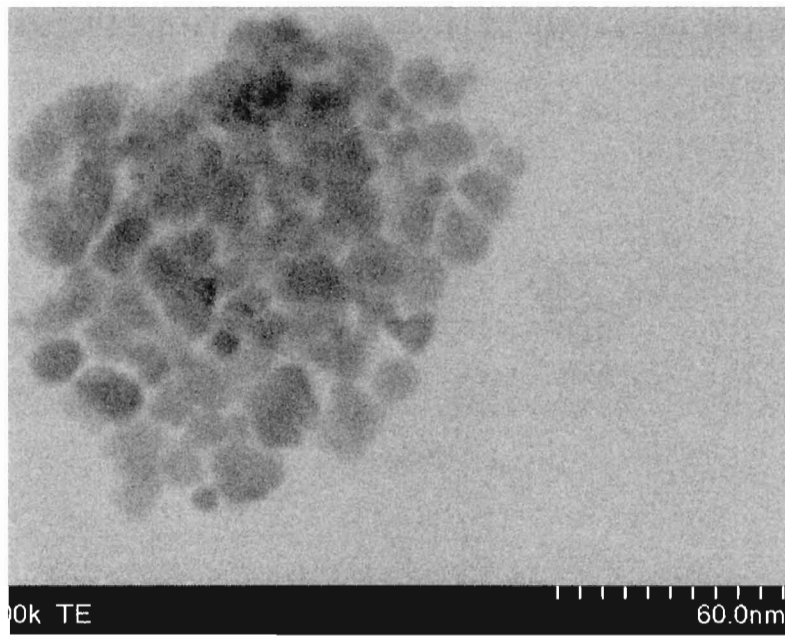


Figura 2

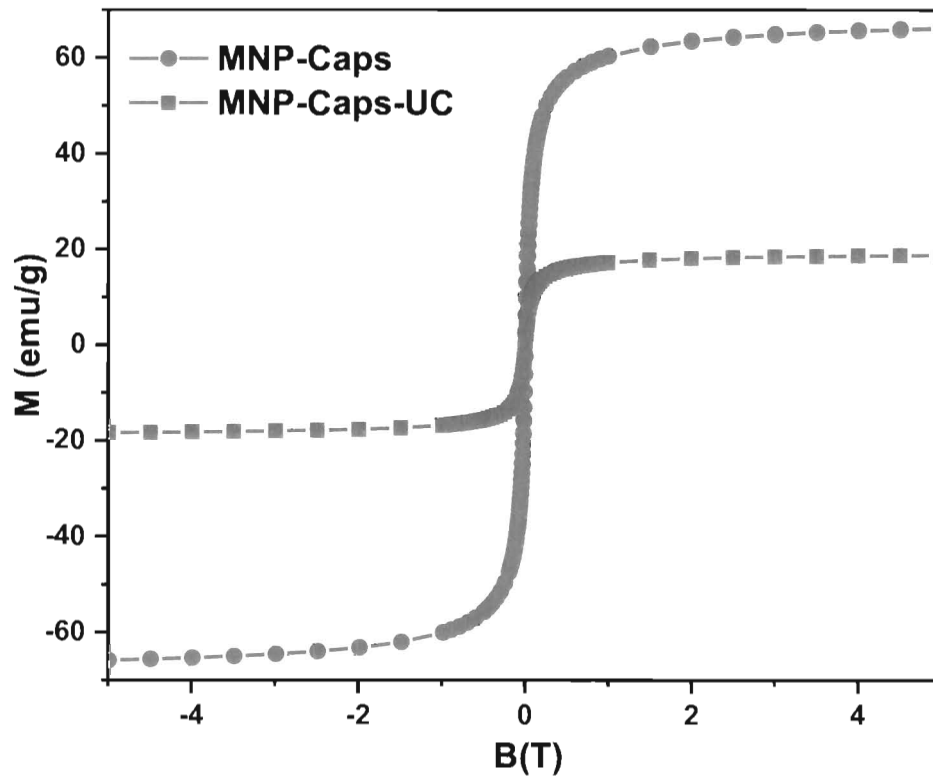


Figura 3