



(12)

BREVET DE INVENȚIE

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

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

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

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

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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Invenția de față prezintă următoarele avantaje:

- 15 - produsul conform invenției cumulează proprietăți terapeutice antiinflamatoare și
regeneratoare puternice ale chitosanului cu cele ale principiilor active din extractele plantelor
17 studiate, permite potențarea acestor proprietăți și o bună penetrare a acestora la locul aplicării;
- de asemenea, substanța de bază, gelul de chitosan, cât și concentratele din plantele
19 adăugate sunt biocompatibile, fără să producă vreo reacție alergică la contactul cu pielea;
- produsul este stabil în timp, proprietățile organoleptice și de aderență nu se
21 modifică în timp;
- produsul este obținut printr-un procedeu simplu, fezabil, utilizând materii prime ieftine,
23 accesibile, și nu necesită aparatură și instalații complexe.

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

27 Exemplu

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

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

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

RO 131198 B1

Proprietățile organoleptice ale extractelor plantelor studiate

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

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

Aminoacizi identificați în extractele apoase studiate

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

RO 131198 B1

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

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

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

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

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

Varianta 2

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

Varianta 3

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

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

Caracteristicile organoleptice ale unguentelor

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

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

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

RO 131198 B1

1

Revendicare

3

Compoziție pentru un gel antiinflamator pe bază de chitosan și extracte apoase de plante, **caracterizată prin aceea că** este constituită din 15...20% chitosan, 30...40% carbopol, 0,8% trietanolamină, 2...3% glicerină și 8,25% extracte reunite de sulfină, mesteacăn, trei frați pătați, roiniță și crețșoară, având un conținut total de aminoacizi exprimat în acid glutamic de 0,05...0,07% și apă distilată până la 100%.

5

7

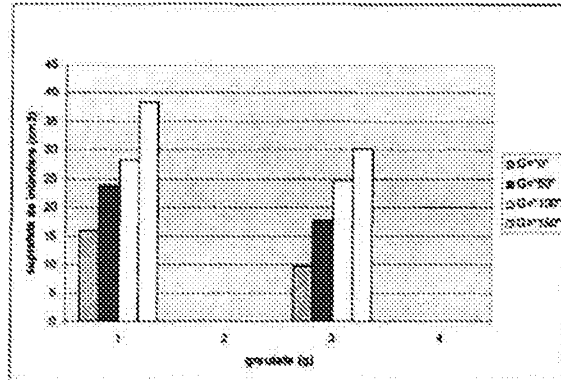


Fig. 1

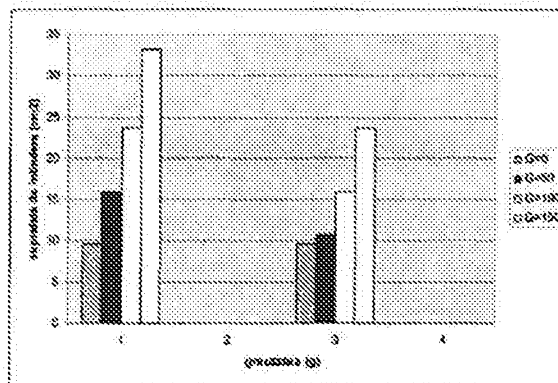


Fig. 2

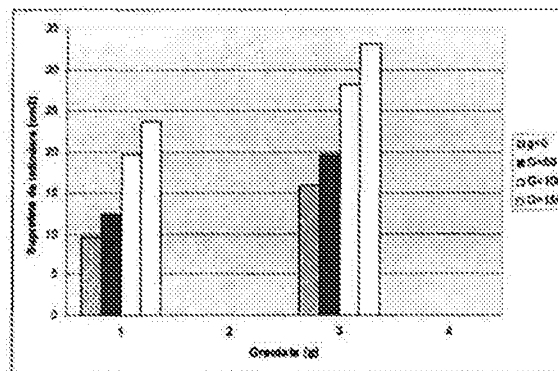


Fig. 3

