



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2009 00636**

(22) Data de depozit: **13.08.2009**

(41) Data publicării cererii:

29.04.2011

BOPI nr. 4/2011

(71) Solicitant:

• **INSTITUTUL DE CHIMIE
MACROMOLECULARA "PETRU PONI"**
IAȘI, ALEEA GRIGORE GHICA VODA
NR.41 - A, IAȘI, IS, RO

(72) Inventatori:

• **OPREA ANA MARIA,**

STR. ȘTEFAN CEL MARE NR.94, BL.B2,
SC.D, ET.2, AP.8, VASLUI, VASLUI, RO;

• **VASILE CORNELIA, STR. PANTELIMON**
NR. 29, BL. 308, SC. A, ET. 3, AP. 12, IAȘI,
IS, RO;

• **CIOLACU DIANA,**
ALEEA TRANDAFIRILOR NR.11, IAȘI, IS,
RO

(54) **PROCEDEU ȘI COMPOZIȚIE PENTRU OBTINEREA DE NOI
HIDROGELURI PE BAZĂ DE XANTAN ȘI CONDROITIN
SULFAT**

(57) Rezumat:

Prezenta invenție se referă la hidrogeluri pe bază de xantan și condroitin sulfat, destinate confectionării de materiale cu proprietăți biomedicale pentru eliberarea controlată a codeinei, obținute prin reticularea sub agitare a 90...50% xantan și 10...50% condroitin sulfat cu 2,143 ml de epiclorhidrină, la 80°C, timp de 8 h,

hidrogelul rezultat după izolare prezentând un grad maxim de umflare de 7157,17, fiind supraabsorbant.

Revendicări: 4

Figuri: 1





PROCEDEU SI COMPOZITIE PENTRU OBTINEREA DE NOI HIDROGELURI PE BAZA DE XANTAN SI CONDROITIN SULFAT

Invenția de față se referă la un procedeu de obținere și la compoziția unor hidrogeluri pe bază de amestecuri de materiale polimerice de tip polizaharide naturale, cum ar fi xantanul și condroitin sulfatul.

Valorificarea proprietăților speciale ale condroitin sulfatului au ca rezultat o multitudine de direcții de utilizare, cum ar fi în domeniul biomedical în scopul ameliorării durerilor articulare (șolduri și genunchi) asociate cu osteoartrita [1-4].

O trăsătură caracteristică a polizaharidelor o reprezintă abilitatea acestora de a forma geluri în anumite condiții de concentrație, temperatură și tărie ionică. De asemenea, realizarea gelurilor chiar și la concentrații foarte mici reprezintă una dintre cele mai importante proprietăți funcționale ale acestora. Formarea structurilor tridimensionale oferă o cale de creștere a stabilității chimice și mecanice a sistemului.

Amestecurile de polizaharide obținute din surse naturale și gelurile binare pot fi utilizate ca modele pentru structuri celulare complexe.

Datorită proprietăților pe care le posedă unele hidrogeluri polizaharidice, acestea au fost introduse în domeniul materialelor inteligente cu posibile aplicații în realizarea sistemelor de eliberare controlată a principiilor biologice active.

Condroitin sulfatul (GAG) este utilizat în suplimentele alimentare unde acționează în scopul reparării și menținerii tesuturilor articulare, în special la persoanele în vârstă. Este un glicozaminoglican secretat de celulele cartilaginose numite *condrocite*, fiind esențial în mecanismele de creștere, nutriție și refacere a cartilajelor. Este alcătuit din unități dizaharidice repetitive, una dintre monozaharide fiind întotdeauna fie N-acetilglucozamina sau N-acetilgalactozamina, iar celaltă este, în cele mai multe cazuri, acidul uronic. Una dintre grupările hidroxil, ale segmentului amino, este esterificată cu sulfat ceea ce determină apariția

A.M. Oprea
1008 1

unei densități crescute de sarcini negative, acest comportament favorizând o atracție electrostatică cu apa, ceea ce conferă cartilajelor elasticitate și fluiditate.

Condroitin sulfatul poate fi extras din trahei și omoplați de origine bovină, cartilaje de rechini, etc. Tipul de țesut cartilaginos folosit, vârsta animalului și condițiile de prelucrare pot afecta cantitatea de condroitin sulfat obținută [5]. Joacă un rol important în procesul de vindecare a rănilor. Hidrogelurile pe bază de condroitin sulfat accelerează vindecarea mucoasei sinonazale până la sfârșitul celei de a patra zile a experimentului [6]. Studii recente utilizează CS ca biomaterial pentru refacerea cartilajelor [7], inginerie tisulară [8] și eliberarea factorilor de creștere [9]. Condroitin sulfatul poate fi utilizat în diferite forme de tipul matrici tridimensionale [10] și geluri [11, 12]. Poate fi degradat de bacterii anaerobe de tip *Bacterioides thetaiotaomicron* și *B. ovatus*, localizate în intestinul gros [13]. Această caracteristică sugerează posibilitatea utilizării condroitin sulfatului în aplicațiile de eliberare la țintă a medicamentelor la nivelul colonului, condroitin sulfatul putând fi, astfel, considerat medicament cu acțiune anti-osteoartritică.

Administrat pe cale orală, condroitin sulfatul reduce durerile pacienților care suferă de osteoartrită [14] pe perioade lungi de timp, în comparație cu acțiunea diclofenacului de sodiu [15-17]. Deoarece este puternic solubil în apă, utilizarea sa în formă solidă, în condiții fiziologice, este limitată, folosirea condroitin sulfatului în sistemele de eliberare controlată fiind, în continuare, controversată [18-21].

Xantanul este o polizaharidă extracelulară naturală și un important biopolimer industrial. Acesta nu formează geluri în soluții apoase. Pentru a forma hidrogeluri, alături de xantan trebuie aduse în soluție și alte polizaharide [22]. S-a găsit totuși că xantanul formează hidrogeluri dacă soluțiile apoase sunt răcite lent la temperaturi mai mari decât cele caracteristice [23, 24].

Caracterul biocompatibil al xantanului face posibilă utilizarea acestuia în medicină și farmacie ca excipient pentru tablete sau ca înlocuitor de plasmă sanguină. Datorită vitezei mici de dizolvare și degradare este un suport bun pentru eliberare controlată de principii active [25].

Scopul invenției de față este obținerea de noi hidrogeluri ce conțin xantan și condroitin sulfat, în ideea de a combina caracteristicile unice ale celor doi polimeri naturali și de a obține materiale cu proprietăți biomedicale.

Proprietățile biomedicale ale hidrogelurilor pe bază de xantan/condroitin sulfat au fost evidențiate prin testarea lor ca matrici pentru eliberarea controlată a unor medicamente ca alcaloizi, reprezentativă fiind codeina. Codeina, numită și metilmorfină, este un alcaloid

Am Of ...
Im
De

natural din opiu. Are proprietăți analgezice mult mai slabe decât morfina, dar este mai avantajoasă decât aceasta în privința acțiunii antitusive și antidiareice. Este indicată în: tuse fără expectorație. În prezent codeina se folosește doar la cazurile rebele și foarte grave ca diaree, dureri moderate sau severe.

Încărcarea cu medicament a hidrogelurilor a fost realizată prin amestecarea medicamentului utilizat cu hidrogelul sub formă de pudră, utilizând ca mediu de eliberare serul fiziologic. Peste amestecul hidrogel-medicament se adaugă o anumită cantitate de ser, fiind lăsat la umflat la temperatura camerei timp în care medicamentul pătrunde în structura hidrogelului. Probele încărcate cu medicament sunt uscate prin liofilizare folosind un dispozitiv de tip Labconco Freezone. Studiul de eliberare a fost realizat folosind un spectrofotometru de tip UV-VIS HP 8450A, concentrația codeinei în mediul de eliberare fiind determinată la o lungime de undă de 284 nm.

Din curbele de eliberare obținute (figura 1), se evidențiază faptul că procentul de codeină eliberată crește o dată cu creșterea cantității de condroitin sulfat în compoziția hidrogelurilor. Astfel, la hidrogelul de compoziție 90/10 X/GAG se observă un procent de codeină eliberată de aproximativ 34% iar pentru compoziția cu cantitatea cea mai mare de condroitin sulfat, 50/50 X/GAG, un procent de aproximativ 43% într-un interval de 24 de ore.

Procedeul de obținere a hidrogelurilor pe bază de xantan și condroitin sulfat, conform invenției, *constă în aceea că* xantanul și condroitin sulfatul se reticulează cu epiclорhidrină, adăugată sub agitare energetică, continuă, timp de 5-10 min. și menținută apoi la o temperatură de 80°C, timp de 8 h. Gelurile astfel obținute, au fost spălate repetat cu apă distilată fierbinte și cu apă distilată rece, în scopul îndepărtării totale a epiclорhidrinei din sistem. După spălare, gelurile au fost înghețate timp de 2 ore, după care au fost uscate timp de 10 ore, prin liofilizare cu ajutorul unui sistem LABCONCO FreeZone.

Invenția prezintă avantajul că se obțin hidrogeluri cu proprietăți speciale, pe bază de xantan/condroitin sulfat, hidrogeluri ce se pot utiliza în diferite ramuri ale industriei farmaceutice, cosmetice și alimentare.

În continuare se dau 5 exemple de realizare a invenției, cu referire și la datele prezentate în Tabelul 1, unde sunt date caracteristicile de umflare ale hidrogelurilor pe bază de xantan și condroitin sulfat.

Exemplul 1

Într-un pahar Berzelius se amestecă 0,45 g xantan și 0,05 g condroitin sulfat cu 6,725 ml apă distilată. Se omogenizează amestecul și se adaugă 0,625 g NaOH, după care se amestecă din nou și se adaugă 2,1431 ml epiclорhidrină (EPCI), urmată de omogenizarea amestecului.

1.0001...
1m11
3
232

Acesta se întinde între două plăci de sticlă și se supune reacției de reticulare prin încălzire timp de 8 ore, la o temperatură de 80°C. Se obține un gel de culoare alb-gălbui având un grad maxim de umflare de 3150,62 %.

Exemplul 2

Se procedează ca în exemplul 1, dar folosind un amestec cu următoarea compoziție: 0,40 g xantan și 0,1 g condroitin sulfat. Se obține un gel alb-gălbui cu un grad maxim de umflare mai mare decât cel obținut în exemplul 1, de 3709,71 %.

Exemplul 3

Se procedează ca în exemplul 1, dar folosind un amestec cu următoarea compoziție: 0,35 g xantan și 0,15 g condroitin sulfat. Hidrogelul obținut este mai deschis la culoare și are o capacitate de umflare de 4494,60 %.

Exemplul 4

Se procedează ca în exemplul 1, dar se variază raportul dintre componenți, utilizându-se 0,30 g xantan și 0,2 g condroitin sulfat. Hidrogelurile se prezintă compacte și sub formă de filme având o capacitate de umflare de 5748,73 %.

Exemplul 5

Se procedează ca în exemplul 1, dar se variază raportul dintre componenți, utilizându-se 0,25 g xantan și 0,25 g condroitin sulfat cu o capacitate de umflare de 7157,17 %, valorile gradului maxim de umflare crescând o dată cu creșterea conținutului de condroitin sulfat.

Tabel 1. Cantitățile de condroitin sulfat și gradele de umflare ale hidrogelurilor

Xantan (%)	GAG (%)	$Q_{\max}=(m-m_0)/m_0$ x 100 (%)
0,45	0,05	3150,62
0,4	0,1	3709,71
0,35	0,15	4494,60
0,3	0,2	5748,73
0,25	0,25	7157,17

BIBLIOGRAFIE

1. Mazières, B., Hucher, M., Zaïm, M., Garnero, P., Effect of chondroitin sulphate in symptomatic knee osteoarthritis: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled study, *Annals of the Rheumatic Diseases*, **66(5)**, 639-645, **2007**
2. Uebelhart, D., Malaise, M., Marcolongo, R., de Vathaire, F., Piperno, M., Mailleux, E., Fioravanti, A., Matoso, L., Vignon, E., Intermittent treatment of knee osteoarthritis with oral chondroitin sulphate: a one-year, randomized, double-blind, multicenter study versus placebo, *Osteoarthritis and cartilage/OARS*, Osteoarthritis Research Society, **12(4)**, 269-276, **2004**
3. Mazières, B., Combe, B., Phan Van, A., Tondut, J., Grynfeldt, M., Chondroitin sulphate in osteoarthritis of the knee, a prospective, double-blind, placebo-controlled multicenter clinical study, *Journal of Rheumatology*, **28**, 173-181, **2001**
4. Bucsi, L., Poor, G., Efficacy and tolerability of oral chondroitin sulfate as a symptomatic slow acting drug for osteoarthritis (SYSADOA) in the treatment of knee osteoarthritis, *Osteoarthritis Cartilage*, **6(Suppl A)**, 31-36, **1998**
5. www.biocatalysts.com
6. Gilbert, M.E., Kirker, K.R., Gray, S.D., Ward, P.D., Szakacs, J.G., Prestwich, G.D., Chondroitin sulfate hydrogel and wound healing in rabbit maxillary sinus mucosa, *Laryngoscope*, **114(8)**, 1406-9, **2004**
7. Wang, D.A., Varghese, S., Sharma, B., Strehin, I., Fermanian, S., Gorham, J., Multifunctional chondroitin sulphate for cartilage tissue- biomaterial integration, *Nat Mater*, **6(5)**, 385-92, **2007**
8. Daamen, W.F., van Moerkerk, H.T., Hafmans, T., Buttafoco, L., Poot, A.A., Veerkamp, J.H., Preparation and evaluation of molecularly defined collagen-elastin-glycosaminoglycan scaffolds for tissue engineering, *Biomaterials*, **24(22)**, 4001-9, **2003**

A. M. Ojeda
V. M. J.
D. S.
1

9. Cai, S., Liu, Y., Zheng Shu, X., Prestwich, G.D., Injectable glycosaminoglycan hydrogels for controlled release of human basic fibroblast growth factor, *Biomaterials*, **26(30)**, 6054–67, **2005**
10. Chen, R.N., Wang, G.M., Chen, C.H., Ho, H.O., Sheu, M.T. Development of N,O-(carboxymethyl)chitosan/collagen matrixes as a wound dressing, *Biomacromolecules*, **7(4)**, 1058–64, **2006**
11. Dawlee, S., Sugandhi, A., Balakrishnan, B., Labarre, D., Jayakrishnan, A., Oxidized chondroitin sulfate-cross-linked gelatin matrixes: a new class of hydrogels, *Biomacromolecules*, **6(4)**, 2040–8, **2005**
12. Xiao Hui Zou, Yang Zi Jiang, Guo Rong Zhang, Hang Mei Jin, Nguyen Thi Minh Hieu, Hong Wei Ouyang, Specific interactions between human fibroblasts and particular chondroitin sulfate molecules for wound healing, *Acta Biomaterialia*, **5(5)**, 1588-1595, **2009**
13. Sayers, A.A., Energy sources of major intestinal fermentative anaerobes, *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 158–163, **1979**
14. Volpi, N., Chondroitin sulfate for the treatment of osteoarthritis, *Curr. Med. Chem., Anti-inflamm., Anti-allergy Agents*, **4**, 221–234, **2005**
15. Morreale, P., Manopulo, R., Galati, M., Boccanera, L., Saponati, G.B., Occhi, L., Comparison of the antiinflammatory efficacy of chondroitin sulfate and diclofenac sodium in patients with knee osteoarthritis, *J. Rheumatol.*, **23**, 1385–1391, **1996**
16. Ronca, F., Palmieri, L., Panicucci, P., Ronca, G., Anti-inflammatory activity of chondroitin sulfate, *Osteoarthr. Cartilage*, **6**, 14–21, **1998**
17. Rovetta, G., Monteforte, P., Molfetta, G., Balestra, V., A two-year study of chondroitin sulfate in erosive osteoarthritis of the hands: behavior of erosions, osteophytes, pain and hand dysfunction, *Drugs Exp. Clin. Res.*, **30**, 11–16, **2004**
18. Rubinstein, A., Nakar, D., Sintov, A., Colonic drug delivery: enhanced release of indomethacin from cross-linked chondroitin matrix in rat cecal content, *Pharm. Res.*, **9**, 276–280, **1992**
19. Sintov, A., Di-Capua, N., Rubinstein, A., Cross-linked chondroitin sulfate: characterization for drug delivery purposes, *Biomaterials*, **16**, 473–478, **1995**
20. Sintov, A., Di-Capua, N., Rubinstein, A., Cross-linked chondroitin sulfate: characterization for drug delivery purposes, *Biomaterials*, **16**, 473–478, **1996**
21. Shiu-Chih Wang, Bing-Hung Chen, Li-Fang Wang, Jenn-Shing Chen, Characterization of chondroitin sulfate and its interpenetrating polymer network hydrogels for sustained-drug release, *International Journal of Pharmaceutics*, **329**, 103–109, **2007**

A.M.O.
2009

-2009-00638-
-2009-00638-
13-08-2009

22. Hoffman A., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **43**, 3-12, **2002**
23. Chornet, E., Dumitriu, S., US Patent 6,964,772, **2005**
24. Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Weller, P.J., Xanthan gum, in *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 4th ed. The Pharmaceutical Press, London, pp. 691-693, **2003**
25. Renaud, M., Belgacem, M.N., Rinaudo, M., *Polymer*, **46**, 12348, **2005**

K.M. Ofori
04/04/2009
3

6

REVENDICĂRI

1. Procedeu de obținere și compoziție a unor hidrogeluri bicomponente **caracterizat prin aceea că** este constituit din xantan și condroitin sulfat, care este reticulată cu 0,625 g epiclорhidrină, la o temperatură de 80°C, timp de 8 h.
2. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** hidrogelurile sunt constituite din xantan și condroitin sulfat, cu un grad maxim de umflare de peste 7157,17 fiind suprabsoarbante.
3. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** hidrogelurile sunt constituite din xantan și condroitin sulfat, utilizate în diferite rapoarte gravimetrice 90....50% xantan/10....50% condroitin sulfat.
4. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** hidrogelurile constituite din xantan și condroitin sulfat sunt suporturi/transportori convenabili pentru eliberarea controlată a codeinei.

A.M. Oprea
11/11/14
Dr. 22

5

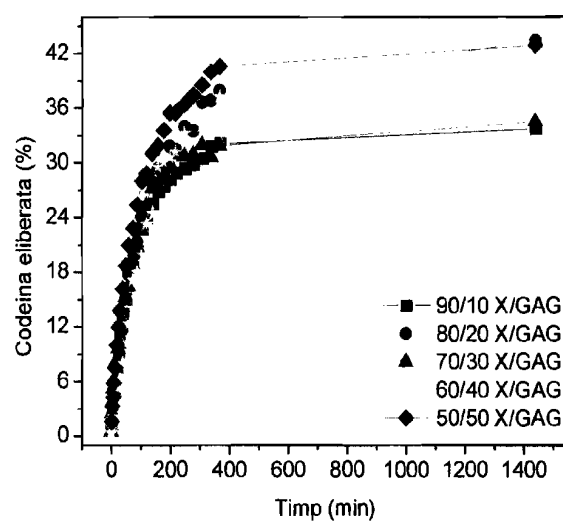


Figura 1. Curbele de eliberare ale codeinei din hidrogelurile pe bază de X/GAG, în diferite rapoarte de amestecare, la 37 °C, în ser fiziologic (pH=7.4)

Am
Viny
Dor