



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2024 00452

(22) Data de depozit: 31/07/2024

(41) Data publicării cererii:
30/12/2024 BOPI nr. 12/2024

(71) Solicitant:

- SANIMED INTERNAȚIONAL IMPEX S.R.L., ȘOS. BUCUREȘTI-GIURGIU, NR.2A, SAT CĂLUGĂRENI, COMUNA CĂLUGĂRENI, GR. RO;
- INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU TEHNOLOGII IZOTOPICE ȘI MOLECULARE, STR. DONAT NR.67-103, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- UNIVERSITATEA DIN BUCUREȘTI, ȘOSEAUA PANDURI, NR.90, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

- TIHĂUAN BIANCA MARIA, STR.CODRII NEAMȚULUI, NR.5-7, BL.B, AP.46, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;
- PÎRNĂU ADRIAN, STR. ALEXANDRU VLAHUȚĂ, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;

- CHIFIRIUC MARIANA CARMEN, STR. COSTACHE STAMATE NR. 5, BL. A8, SC. 1, ET. 9, AP. 37, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
- MAIER SERGIU STELIAN, STR.FĂNTĂNILOR, NR.37, IAȘI, IS, RO;
- AXINIE MĂDĂLINA, STR.RADU VODĂ, NR.12G, COMUNA BERCENI, IF, RO;
- MĂRUȚESCU LUMINIȚA, ALEEA LT.GHEORGHE STALPEANU NR.2, BL.2, SC.1, ET.3, AP.8, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
- MIC MIHAELA LILIANA, STR. MUZEUL APEI NR.19D, FLOREȘTI, CJ, RO;
- FLOARE GABRIEL CĂLIN, STR. PARIS, NR.76, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
- KACSO IRINA, STR. EROILOR, NR.170, FLOREȘTI, CJ, RO;
- MICLĂUȘ MARIA- OLIMPIA, STR.STEJARULUI, NR.11, AP.19, FLOREȘTI, CJ, RO

(54) PROCEDEU DE OBTINERE A UNOR SISTEME SINERGICE DE PRINCIPII ACTIVE DESTINATE COSMETICII REGENERATIVE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui sistem sinergic de principii active destinate cosmeticii regenerative. Procedeu, conform invenției, constă în etapele: prepararea unui sistem collagen-acid hialuronic prin conjugare chimică, formarea unui complex de incluziune dintre vitamina C și β -ciclodextrină în raport molar 1 : 1, respectiv, acid ferulic, în fază solidă, în solvent apă distilată, formulare a hidrogelului de curcumină prin realizarea unei faze B prin hidratarea unui stabilizator de emulsie în apă demineralizată și înglobarea unei soluții de curcumină cu omogenizare până la

formarea unui gel ușor fluid omogen, respectiv, realizarea unei faze A prin dispersia sub agitare a sistemelor ciclodextrine și vitamina C (0,5%), respectiv, acid ferulic (0,2%) în conjugatul collagen-acid hialuronic (10%), cu omogenizare, din care se finalizează hidrogelul prin adăugare de conservant uzual, rezultând un produs bioactiv sub formă de sistem funcționalizat cu eliberare controlată a principiilor active: curcumină, vitaminele A, C, E, acid ferulic la țintă.

Revendicări: 1

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



48

DESCRIEREA INVENȚIEI

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr. a 2024	452
Date depozit 31-07-2024	

Titlul invenției

**PROCEDEU DE OBTINERE A UNOR SISTEME SINERGICE DE PRINCIPII
ACTIVE DESTINATE COSMETICII REGENERATIVE**

Invenția se referă la procedeul de obținere a unor sisteme sinergice de principii active destinate regenerării epidermei afectate de leziuni superficiale, radiații solare, radioterapie, sau escare utilizând hidrogeluri specific funcționalizate cu complecși de incluziune ai unor ingrediente active în molecule gazdă. În termeni concreți, într-o matrice de bază, alcătuită din biomacromolecule biologice active (colagen și acid hialuronic), se vor incorpora sisteme funcționalizate destinate eliberării controlate a principiilor active (curcumină, vitaminele A, C, E, acidul ferulic) încapsulate în molecule gazdă de tipul ciclodextrinelor. Complecșii nou sintetizați vor fi incluși în formulări de tipul hidrogelurilor. Invenția se încadrează în categoria cosmeticii regeneratoare, aceasta întâmpinând necesitatea utilizării în managementul plăgilor superficiale de la nivelul epidermei a unor produse integratoare, bioactive, cu componente naturale, menite să favorizeze restaurarea barierei epidermale afectată în urma unor agresiuni de mică amploare, a intervențiilor medicale, sau a acțiunii unor factori fizico-chimici nocivi.

Stadiul actual al cunoașterii

Pielea, organ multi-funcțional și parte importantă a sistemului imunitar înăscut, constituie 16% din greutatea corporală totală și îndeplinește roluri multiple, prin care contribuie la homeostazia organismului, respectiv: funcția de barieră de protecție pentru organism, funcția senzorială, cea de reglare a temperaturii și tensiunii arteriale, cea de situs cu activitate enzimatică și imunologică, fiind implicată în mecanisme metabolice vitale [1], [2]. Pielea poate fi deteriorată de o multitudine de agenți chimici, factori termici, mecanici, sau ca urmare a reacțiilor pe care aceștia le generează. Vindecarea plăgilor cutanate este un proces versatil care asigură: (i) *restabilirea funcției de barieră* a pielii pentru a evita pierderea de sânge și/sau infectarea și (ii) *restabilirea proprietăților mecanice și fiziologice*. Vindecarea plăgilor după leziuni cutanate este un proces imperfect, care duce inevitabil la formarea cicatricilor pe măsură ce pielea își restabilește integritatea. Aspectul cicatricilor diferă de la un

individ la altul, formarea lor având un impact psiho-social semnificativ asupra pacienților și uneori asupra calității vieții lor [3], [4].

Prelungirea perioadei de vindecare a rănilor sau răspunsurile excesive ale organismului la vătămare împiedică vindecarea normală, conducând la cicatrici care necesită o manageriere atentă. De aceea, unul din principalele motive pentru intervenția rapidă la nivelul plăgilor cutanate în vederea vindecării lor este restaurarea funcției de barieră și prevenirea infecțiilor. Aceste intervenții trebuie să aibă în vedere interacțiunile complexe între o multitudine de celule și mediatori. În acest context, stimularea **tranziției rapide de la stadiul inflamator la cel proliferativ** al reparării leziunilor este un subiect de actualitate, cercetat intens.

Plăgile superficiale, mici și curate sunt de obicei asociate cu o durată scurtă a fazei hemostatice și inflamatorii, cu formarea dopului de fibrină care închide rana, cu eliminarea unor cantități minore de resturi celulare. Intervenția cât mai rapidă la situsul afectat diminuează complicațiile asociate infecțiilor și formării de biofilme microbiene, mai ales ținând cont de faptul că reepitelizarea începe deja la câteva ore după rănire prin activarea keratinocitelor care sunt redirecționate către patul plăgii constituit din fibrină, fibronectină și vitronectină [5]–[13]. De remarcat, acest proces de reparare se efectuează de sus în jos cu scopul închiderii rapide a plăgii pentru a preveni pierderea suplimentară de lichid sau infecția. Condiția preliminară pentru epitelizarea eficientă este prezența unei matrici extracelulare adecvate care facilitează migrarea keratinocitelor.

Plecând de la aceste specificități structurale ale pielii, industria cosmetică vizează în permanență realizarea de produse noi și eficiente, înzestrate cu o activitate biologică îmbunătățită și cu eliberarea controlată a unor substanțe active la nivelul pielii. Proiectarea și formularea produselor dermato-cosmetice cunoaște în prezent o amplă transformare, în special datorită tehnicilor moderne de formulare, susținute de studii complexe privind biodisponibilitatea principiilor active, dar și datorită modificărilor conceptuale privind efectele fiziologice ale cosmeticelor, similare cu cele așteptate de la un medicament. Formularea unui produs cosmetic trebuie optimizată astfel încât principiul activ să ajungă la ținta terapeutică în concentrația necesară pentru eficacitate maximă, dar cu absorbție minimă la nivelul pielii.

Tehnologia formulării, în mod special cea a cosmeticelor regenerative, abordează acest domeniu aproape similar formulării produselor topice farmaceutice, arta formulării fiind o abordare cu un pronunțat caracter aplicativ interdisciplinar, care face apel la principii de fizică, chimie-fizică, chimia coloizilor, chimie analitică și tehnologie. Succesul unei noi formulări constă în stabilirea unui echilibru optim între creativitatea în formulare și bazele științifice aplicate (interacțiunile multiple ce apar în procesele de absorbție, distribuție și metabolizare a

principiilor active, concentrațiile cu efect citotoxic ale principiilor active stabilite prin teste *in vitro* ș.a.m.d. [14]. Aceste noi tehnologii controlează cinetica eliberării la țintă și durata activității terapeutice [15], [16]

Deși factorii care pot induce leziuni epiteliale sunt variabili și diferiți (leziuni superficiale produse sub acțiunea unor agenți fizici, chimici sau biologici vs radiații UV vs radioterapie), aceștia prezintă și caracteristici comune, între care eliberarea în exces a radicalilor liberi. Datorită rolului de barieră, pielea este expusă frecvent luminii solare și radiațiilor UV, fiind organul cel mai sensibil la leziunile provocate de radiația UV, acesta fiind cel mai descris și frecvent atac fizic provocator de leziuni cutanate. Se estimează ca aproximativ 50% din leziunile pielii sunt agravate și induse de formarea de radicali liberi, sub influența radiației UV. Radicalii liberi sunt molecule înalt reactive, cu electroni neîmperecheați, care pot degrada direct membranele celulare, precum și lipidele, macromoleculele proteice și acizii nucleici. Formarea radicalilor liberi este unul dintre principalele mecanisme responsabile de lezarea epidermei ca urmare a expunerii solare, sau ca rezultat al radioterapiei. Producția de radicali liberi crește o dată cu vârsta, consecutiv cu diminuarea eficienței mecanismelor antioxidante, acest dezechilibru ducând la deteriorarea progresivă a structurilor celulare și, prin urmare, la îmbătrânirea accelerată, soldată cu diminuarea capacității intrinseci de regenerare a keratinocitelor și a celulelor epiteliale [17], [18].

Cea mai importantă categorie de radicali liberi sunt **speciile reactive de oxigen (ROS)**. ROS pot induce modificări ale matricei extracelulare, la nivelul dermei, favorizând fenomenul de *photoaging* (îmbătrânirea accelerată prin expunerea la lumina solară directă) [19], [25]. Sub acțiunea radiațiilor UV, cromoforii celulari absorb și emit energie, rezultând produși de oxidare și producția masivă de ROS (peroxid de hidrogen, anioni superoxid și radicali hidroxil), care diminuează sinteza de collagen și cresc activitatea matrix-metaloproteinazelor (MMP) [22]. Așadar, în toate sistemele vii, celulele necesită niveluri adecvate de protecție antioxidantă, pentru a evita efectul distructiv al eliberării excesive de ROS.

Din literatura de specialitate este cunoscut faptul că în ultimii ani, cercetarea și elaborarea de formulări cosmetice avansate de tipul celor regeneratoare s-a axat pe crearea de sisteme de transport cu eliberare controlată. Aceste tipuri de formulări, cunoscute sub denumirea de *sisteme pentru transport la țintă*, au câteva avantaje comparativ cu preparatele convenționale. Capacitatea de a controla eliberarea principiilor active conferă eficacitate îmbunătățită, toxicitate redusă și sporirea complianței grupului țintă [23]. Eliberarea la țintă permite controlarea locului, momentului și frecvenței și cadenței disponibilizării substanțelor active. Printre sistemele de eliberare controlată se regăsesc și sistemele coloidale [24]–[26].

În ultimul deceniu, în industria cosmetică a crescut interesul față de **ciclodextrine**, în vederea îmbunătățirii caracteristicilor și performanțelor produselor cosmetice, datorită capacității de a elibera controlat substanțe active [27]. În general, în formulările cosmetice, ciclodextrinele sunt utilizate pentru (i) asigurarea solubilizării în fază apoasă a moleculelor lipofile, (ii) creșterea stabilității fizico-chimice a moleculelor oaspete prin protejarea împotriva: descompunerii sub influența luminii, reacțiilor fotochimice, căldurii, oxidării la nivelul pielii, hidrolizei, pierderii prin evaporare, (iii) reducerea și prevenirea iritării pielii, (iv) modularea absorbției diferiților compuși în piele, (v) stabilizarea emulsiilor și suspensiilor [38]–[40].

Un număr mare de componente cosmetice sunt aproape insolubile în apă. Între acestea, uleiurile vegetale, hidrocarburile, acizii grași superiori și esterii lor, unele vitamine, unii hormoni și unii conservanți. Toate aceste substanțe chimice sunt capabile să formeze complecși de incluziune cu ciclodextrinele, fapt care le asigură o solubilitate crescută în fază apoasă [31], [32].

Ciclodextrinele sunt oligozaharide ciclice formate din șase, șapte sau opt unități de glucoză (α , β , δ), care prezintă o suprafață exterioară hidrofilă și o cavitate centrală hidrofobă. Exteriorul hidrofil al moleculelor de ciclodextrină le conferă acestora o solubilitate în apă, iar cavitatea hidrofobă constituie un microcadru ce poate acomoda moleculele nepolare sau tronsoane ale acestora, funcție de dimensiunile lor. Alături de cele trei tipuri de ciclodextrine nemodificate (α , β , δ), în baza de date a Comisiei Europene cu informații despre substanțele și ingredientele cosmetice (CosIng) sunt enumerate alte 11 ciclodextrine modificate chimic, între care formele metilate, acetilate, hidroxipropilate, sulfonate [41], [43]–[45]. Deși numărul derivaților acceptați drept ingrediente cosmetice este mare, trei dintre aceștia sunt frecvent utilizați: *ciclodextrinele nemodificate*, pentru stabilizarea emulsiilor, *β -ciclodextrinele hidroxipropilate*, pentru favorizarea solubilizării în apă și *β -ciclodextrinele metilate*, pentru eliberarea controlată a parfumurilor. Literatura de specialitate menționează și potențialul de agent anti-aging al β -ciclodextrinelor metilate [36].

Aplicarea topică și transdermică a principiilor active trebuie să fie sigură și non-toxică, pentru a nu provoca iritații. Conservarea principiilor active este esențială în timpul formulării, depozitării și aplicării produselor finale, deoarece acestea pot fi instabile și sensibile la variații de temperatură, pH, lumină și în prezența agenților oxidanți. Astfel, încapsularea reprezintă o necesitate pentru protejarea ingredientelor active în raport cu factorii externi și pentru medierea eliberării țintite și controlată a acestora [37]. Complexarea cu ciclodextrine a moleculelor poate îmbunătăți unele dintre proprietățile fizico-chimice ale acestora, fără a afecta abilitatea

substanțelor bioactive de a permea membranele biologice lipofile, ori de a interacționa cu diverși receptori celulari în organism [27].

Utilizarea bazelor de produs de tipul hidrogelurilor biopolimerice (cu collagen și acid hialuronic) este considerată în prezent una dintre strategiile cele mai eficiente în tratamentul plăgilor cutanate rezultate în urma leziunilor superficiale, arsurilor solare sau radioterapice. Respectivul produs prezintă avantajul de a favoriza vindecarea rănilor prin menținerea unor valori optime ale umidității și permării speciilor mic-moleculare cu rol fiziologic. În plus, hidrogelurile de collagen, de exemplu, obținute sub variate forme (de la gel clar, până la blocuri compacte), reprezintă matrice eficiente pentru înglobarea controlată și facilă a numeroși compuși farmacologic activi, cu scopul de a obține produse (multi)functionale destinate tratării eficiente a afecțiunilor care denaturează bariera epidermală.

Ingredientele active vizate în cadrul procedurii propus sunt reprezentate de curcumină, de o serie de vitamine (A, E, C etc) și de antioxidanți (acid ferulic, etc.). **Curcumina**, este unul dintre constituenții activi din *Curcuma longa* L., familia *Zingiberaceae*. Literatura de specialitate menționează activitatea anti-inflamatorie, antibacteriană, de inhibare a receptorilor de creștere epidermală a analogilor curcuminei, fapt care a determinat includerea sa între componentele biologice active ale produselor vizate. **Vitamina C** este un puternic antioxidant care poate neutraliza și elimina speciile ROS generate de poluanții din mediu și de expunerea la radiațiile ultraviolete [38], [39]. Vitamina C este deosebit de eficientă în reducerea leziunilor oxidative ale pielii atunci când este utilizată împreună cu **vitamina E** [40], [41]. Acest efect se află în concordanță cu funcția sa cunoscută de regenerator al vitaminei E oxidate, reciclând astfel acest important eliminator de radicali liposolubili și limitând degradarea oxidativă a structurilor membranei celulare [39], [42]. Proprietățile biologice ale **acidului ferulic (FA)**, în special activitatea sa antioxidantă sunt bine cunoscute [43]–[45]. FA este utilizat ca ingredient fotoprotector în numeroase formulări topice datorită capacității sale de a elimina radicalii liberi induși de radiațiile UV [46], [47]. Mai mult, FA s-a dovedit a fi un puternic absorbant UV [48].

Produsele au fost formulate și testate utilizând specificațiile Regulamentului European Nr. 1223/ 2009 și Directiva 76/ 768 EEC privind produsele cosmetice, iar selecția ingredientelor a fost realizată utilizând bazele de date CosING și UL Prospector.

În prezent, la nivel național, nu există un producător al unor asemenea hidrogeluri multifunctionale, majoritatea produselor similare fiind asigurate prin import. În multe cazuri însă, produsele din import au costuri ridicate, iar caracterul antimicrobian le este conferit de prezența unui antibiotic topic, ori a unor ioni bactericizi. Astfel de soluții sunt însă

nesustenabile, din cauza riscului instalării de disbioze și de selecție a rezistenței la antibiotice. La nivel internațional există puține firme care produc și comercializează hidrogeluri biopolimerice funcționale destinate tratamentului plăgilor cutanate. Între cele mai eficient produse de acest tip se situează cele ale companiei *Coloplast Corp*, produse ce aparțin clasei hidrogelurilor de collagen cu conținut de alantoină, cu scopul de a favoriza rehidratarea zonei afectate și debridarea. Majoritatea hidrogelurilor sau pansamentelor pe bază de biopolimeri disponibile pe piața internațională, precum *BIOCOLLAGEN® GEL*, *CATRIX® Wound Dressing cartilage powder* sunt produse collagenice care se utilizează cu precauție în tratamentul plăgilor, fiind destinate utilizării de către personalul medical instruit și deci greu accesibile consumatorului non-profesionist.

Concluzionând, acest procedeu vizează dezvoltarea și testarea de produse ce răspund rigorilor dispozitivelor medicale, dar care sunt aduse în sfera cosmeticelor regeneratoare. Produsele în cauză au structuri tip hidrogel și constau în rețele tridimensionale capabile să absoarbă volume mari de apă, care permit incorporarea și eliberarea controlată a compușilor biologic-activi. Ele asigură curățarea eficientă a zonei afectate și promovează reepitelizarea, evitând descuamarea, disconfortul și riscul de infecție.

Problema pe care o rezolvă invenția, soluții tehnice, avantaje

Problema pe care invenția vizează să o rezolve este raportată la managementul plăgilor superficiale de la nivelul epidermei cu ajutorul unor produse integratoare, bioactive, cu componente naturale, menite să favorizeze restaurarea barierei epidermale afectată în urma unor agresiuni de mică amploare, a intervențiilor medicale, sau a acțiunii unor factori fizico-chimici nocivi. Prin dezvoltarea unor procedee utilizabile de către non-profesioniști în dermato-cosmetică, sub forma unor soluții self care aplicabile înafara unităților sanitare, fie după externare, în managementul cicatricilor chirurgicale, fie în timpul radioterapiei, fie în cazul unor leziuni minore, situații care necesită continuarea asistenței în zona afectată.

Utilizarea bazelor de produs de tipul hidrogelurilor biopolimerice (cu collagen și acid hialuronic) este considerată în prezent una dintre strategiile cele mai eficiente în tratamentul plăgilor cutanate rezultate în urma leziunilor superficiale, arsurilor solare sau radioterapice. Acest tip de produse prezintă avantajul de a favoriza vindecarea rănilor prin menținerea unor valori optime ale umidității și biodisponibilității speciilor mic-moleculare cu rol fiziologic. În plus, hidrogelurile de collagen, de exemplu, obținute sub variate forme (de la gel clar, până la blocuri compacte), reprezintă matrici eficiente pentru înglobarea controlată și facilă a numeroși

compuși farmacologic activi, cu scopul de a obține produse (multi)funcționale destinate tratării eficiente a afecțiunilor care denaturează bariera epidermală.

Colagenul este proteina structurală primară a țesuturilor umane, oferă suport fizic țesuturilor, jucând un rol important în menținerea integrității structurale și biologice a matricei extracelulare (ECM) [49]. În prezent, sunt raportate cel puțin 28 de tipuri de colagen, care reprezintă aproximativ 30-40% din totalul proteinelor corpului [50], [51]. Dispozitivele medicale pe bază de colagen sunt utilizate pe scară largă într-o varietate de domenii clinice, inclusiv în chirurgie generală [52], ortopedică [53], dentară [54], neurochirurgie [55], precum și în cosmetologie [56]. În prezent, tipurile de materii prime utilizate în obținerea diferitelor forme de colagen utilizabil în dispozitivele medicale de natură clinică sunt derivate în principal din țesuturi animale și țesuturi de alogrefă [57].

Componentei colagenice din compoziția produselor vizate, cu rol de dispozitive medicale i se impun o serie de exigențe privitoare la caracteristicile fizico-chimice, la puritatea și la calitatea sa. Respectivul exigențe derivă din reglementările Comisiei Europene – Regulamentul (UE) 2017/745, modificat prin regulamentul (UE) 2020/561 al Parlamentului European și al Consiliului din 23 aprilie - și sunt formulate prin documentele de certificare a produselor (Directivile 90/385/CEE și 93/42/CEE) în ceea ce privește regulamentele de fabricație și documentele de trasabilitate și de urmărire tehnologică, precum și prin standardele din seriile ISO 13485:2016 (Medical devices - Quality management systems - Requirements for regulatory purposes), ISO 14937:2009 (Sterilization of health care products - General requirements for characterization of a sterilizing agent and the development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices) și ISO 11137:2013 (Sterilization of health care products - Radiation). Deși aplicațiile cosmeceutice ale formelor colagenice sunt mai puțin sever reglementate, există o serie de cerințe care se impun a fi respectate din punctul de vedere al absenței imunogenicității și al limitării prezenței unor specii chimice însoțitoare, ori generate / adăugate în cursul operațiilor tehnologice (Regulamentul (CE) nr. 1223/2009 al Parlamentului European și al Consiliului din 30 noiembrie 2009 privind produsele cosmetice).

Complexitatea procesului de formulare rezidă din multitudinea de factori implicați în procesul de livrare a principiului activ în piele, asigurând penetrabilitatea și distribuția optimă a substanței active. În formulările tip U/A faza apoasă continuă are rolul de a hidrata stratul cornos, care poate absorbi apă de trei până la cinci ori greutatea sa. Vehiculul afectează penetrabilitatea la nivelul țesutului subcutanat, reducând pierderea transepidermală de apă. Când stratul cornos este puternic hidratat absorbția principiului activ crește până la de 10 ori, acest mecanism fiind corelat cu creșterea constantei de difuzie (crește volumul celulelor țesutului epidermal și scade rezistența la difuzie a membranei celulare).

Compoziția bazei va afecta absorbția substanței active în piele, aspect predictibil, care depinde de cunoașterea interacțiunii dintre substanța activă și vehicul și de solubilitatea relativă a acestuia în vehicul, respectiv stratul cornos. Absorbția principiilor active din produse topice depinde de natura chimică a vehiculului, situsul de aplicare utilizat, regiunea corporală, statusul hidratării, integritatea pielii, durata contactului cu aceasta, eventuala ocluzie a situsului vizat. Factorii de natură chimică implicați în procesul de permeabilizare/ absorbție sunt: masa moleculară a substanței active, gradul de disociere, pH, volatilitate, solubilitate. Substanțele cu bună solubilitate în apă și substanțele de natură lipidică sunt absorbite în piele, ceea ce implică o atentă evaluare a coeficientului de partiție pentru favorizarea penetrabilității. Substanțele intens liposolubile, cu solubilitate mai bună în stratul cornos față de vehicul, vor avea o mai bună penetrabilitate. Vâscozitatea formulării afectează penetrarea substanței active în stratul cornos, ca și aria de aplicare, frecvența aplicării, aplicarea prin masaj local. Masajul local accelerează evaporarea vehiculului și permite pătrunderea formulării în reliefurile cutanate și suprafețele glandulare de la nivelul pielii. Grosimea stratului de produs aplicat influențează penetrabilitatea substanței active datorită diferențelor ratei evaporării. Rata fluxului substanței active care penetrează pielea va fi dependentă de coeficientul de difuzie și de concentrația substanței active.

Metodele *in vitro* de testare a eliberării principiului activ permit cuantificarea cedării substanței active în mediul cu care sunt în contact. În plus, metodele *in vitro* comparativ cu cele *in vivo* permit studiul cinetic, având ca scop principal studierea parametrilor formulării: natura excipienților; concentrația substanțelor active; pH-ul; vâscozitatea unguentului. Acești parametri modifică cedarea (intensitatea și viteza de cedare), dar pot constitui un mijloc de a controla reproductibilitatea fabricării.

Aspectele inovative în acest demers sunt: (i) utilizarea unor molecule gazdă (transportori) de tipul ciclodextrinelor care permit complexarea controlată a principiilor active instabile sau sensibile la factori externi și reprezintă cu siguranță un suport formulativ valid, rezolvând diferite probleme de formulare și îmbunătățind performanța produselor vizate; (ii) dezvoltarea de noi tehnici de încapsulare a principiilor active, în scopul extinderii gamei de produse cosmetice regeneratoare și apoi al dezvoltării unei tehnologii particulare, care să valideze posibilitatea de a realiza, la scară tehnologică, produse din sfera cosmeticii regeneratoare rezultate din cercetare.

Exemplul 1. Operații tehnologice necesare preparării complexului de incluziune dintre vitamina C și β -ciclodextrină în fază solidă

Data fiind solubilitatea în apă atât a vitaminei C (Vit C), cât și a β -ciclodextrinei (β CD), solventul principal utilizat pentru prepararea complexului de incluziune a celor două substanțe este apa. S-a avut în vedere prepararea unui complex de incluziune în raport molar de 1:1, făcând uz de diferite condiții și metode de preparare.

Obținerea complexului vit C – β CD prin frământare în moară cu bile

- s-au cântărit cantități corespunzătoare pentru un raport molar de 1:1, respectiv 6 mg de Vit C și 44 mg de β CD. Cele două solide au fost amestecate ușor și introduse în recipientele corespunzătoare morii cu bile, apoi umectate cu o cantitate mică de 20 μ L de solvent. Solventul folosit a fost apa, respectiv un amestec apa-etanol 4:1 (v/v). Amestecarea a avut loc la o frecvență de 30 Hz, timp de 2x60 minute. Amestecurile umede rezultate au fost uscate la temperatura camerei, rezultând o pudră de culoare albă în ambele cazuri (*VitC- β CD_apa_mill*, *VitC- β CD_apa-EtOH_mill*).

Obținerea complexului vit C – β CD prin coprecipitare, urmată de liofilizare

- s-au cântărit cantități corespunzătoare pentru un raport molar de 1:1, respectiv 12 mg de VitC și 88 mg de β CD.
- cei 88 mg de β CD au fost dizolvați în 12 mL de apă, sub agitare, la temperatura de 80°C timp de 5 min. La soluția astfel obținută, după răcire, s-a adăugat în picături soluția de Vit C obținută prin dizolvarea celor 12 mg de vitamina C în 2 mL amestec apă-etanol 1:1 (v/v). Amestecul astfel obținut a fost agitat la temperatura camerei timp de 20 ore, iar solventul a fost îndepărtat prin liofilizare, rezultând o pulbere de culoare albă (*VitC- β CD_copp1_FD*).
- amestecul solid format din 88 mg de β CD și 12 mg VitC a fost dizolvat în 3 mL solvent, format din 2.7 mL apă și 0.3 mL etanol (9:1, v/v), sub agitare, la temperatura camerei și echilibrat timp de 3 ore. Solventul a fost îndepărtat prin liofilizare, rezultând o pulbere de culoare albă (*VitC- β CD_copp2_FD*).

Obținerea complexului vit C – β CD prin liofilizare, la pH acid

- 179,6 mg β CD au fost dizolvați în 15 mL apă, sub agitare la temperatura de 80°C timp de 5 min. 24 mg de VitC s-au dizolvat în 27 mL apă distilată, rezultând o soluție de concentrație 0.005 M. pH-ul soluției de VitC a fost fixat la valoarea de 2.6 prin adăugarea de 50 μ L soluție de H₂SO₄ (0.1 M), cele două soluții au fost amestecate și echilibrate timp de 5 min. la temperatura camerei. Soluția finală, congelată, a fost liofilizată, rezultând o pulbere albă (*VitC- β CD_FD_pH*).

Exemplul 2. Evidențierea formării complexelor de incluziune cu β -ciclodextrină în fază solidă

Metodele cele mai des utilizate pentru evidențierea formării complexelor de incluziune sunt: difracția de raze X pe pulberi, spectroscopia de infraroșu și calorimetria cu scanare diferențială. Ideea de bază constă în compararea datelor obținute prin analiza: (i) substanței

bioactive pure, (ii) β -ciclodextrinei, (iii) amestecului fizic ale celor două componente, și (iv) complexului de incluziune ale celor două componente, obținut prin diferite metode de preparare.

Dacă datele obținute la analiza complexului de incluziune diferă de cele ale substanței bioactive pure (molecula oaspete), precum și de acelea ale β -ciclodextrinei (molecula gazdă), se poate afirma că s-a format o nouă structură care reprezintă un ansamblu supramolecular de tip oaspete-gazdă. Pentru un amestec fizic, datele obținute prin analiză corespund unei însumări ale datelor corespunzătoare componentelor pure.

Exemplul 3. Tehnologia de formulare a hidrogelului cu curcumină

Faza B se realizează prin hidratarea la 800 rpm a stabilizatorului de emulsie (acrylates crosspolymer), fără încălzire, în apă demineralizată până la obținerea unui gel omogen, transparent, incolor. În pasul următor, se adaugă în soluție curcumina. Înglobarea acesteia se realizează la viteză mare – 1000 – 1200 rpm până la formarea unui gel ușor fluid, omogen în consistență, de culoare portocaliu-morcov, cu particule de dimensiuni mici, de culoare mai închisă în masă.

Faza A se realizează prin dispersarea sub agitare la 800 rpm a sistemelor formate din ciclodextrine și vitamina C, respectiv acidul ferulic, în conjugatul collagen-acid hialuronic. După omogenizarea riguroasă, faza A este încorporată în faza B până la obținerea unui gel ușor fluid, de culoare portocaliu-morcov, cu particule de dimensiuni mici dispersate în masă. După omogenizarea fazelor, se finalizează hidrogelul prin adăugarea conservantului Cosgard și încorporarea acestuia în formula finală. Pentru obținerea formulei se respectă procente și valorile raportate la 50g produs prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1. Formula hidrogelului GG

Faza	Denumire INCI	Denumire comerciala	%	50 g
B	Aqua	Apa demineralizata	86.20	43.10
B		Curcumina	0.50	0.25
B	Acrylates Crosspolymer	Acrylates Crosspolymer	1.00	0.50
A		Collagen+Hyaluronic	10.00	5.00
C	Benzyl Alcohol, Salicylic Acid, Glycerin, Sorbic Acid	Cosgard	1.00	0.50
A		β -ciclodextrina vit C	0.50	0.25
A		β -ciclodextrina acid ferulic	0.20	0.10

Exemplul 4. Demonstrarea biocompatibilității in vitro pe modele celulare

Evaluarea gradului de biocompatibilitate se realizează cu ajutorul testelor MTT și LDH. Testul MTT este un test de viabilitate ce permite evaluarea cantitativă a celulelor vii din cultură. După metabolizarea compusului MTT (bromură de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliu) se formează cristale de formazan solubile în izopropanol. Rezultă o soluție (culoare violet) cu densitatea optică ce poate fi citită la 550 nm. Pentru testul MTT, din placa de testat cu fibroblaste cu 24 de godeuri se îndepărtează restul de mediu de cultură. Se spală suprafața cu PBS pentru a îndepărta orice urmă de ser fetal bovin, care inhibă compusul MTT. Se prepară o soluție de MTT 1mg/ml și fiecare proba se incubează în prezența a 1 ml soluție MTT timp de 4 h la 37°C și 5%CO₂. Pentru a se putea face citirea rezultatelor, cristalele de formazan formate se solubilizează cu izopropanol. Soluția rezultată, de culoare violet, este citită la spectrofotometru la 550 nm. Intensitatea culorii este direct proporțională cu numărul de celule vii din probă. Pentru testul LDH, din placa de testat cu fibroblaste cu 24 de godeuri se îndepărtează restul de mediu de cultură. Se spală suprafața cu PBS, apoi se adaugă soluția LDH conform instrucțiunilor din kit și probele se incubează 30 de minute la 37°C cu 5%CO₂. Soluția rezultată, de culoare roșu intens, se citește cu ajutorul unui spectrofotometru (Elisa reader) la 492 nm.

Exemplul 5. Determinarea profilului de citokine pro – antiinflamatorii

Determinarea unui panel de șase citokine pro-antiinflamatorii (IL-1β, IL-8, IL-10, IL-6, IL-12p70, TNF) se realizează utilizând kitul BD - CBA (*Cytokine Beads Assay*). Evaluarea se realizează pe linia celulară de fibroblaste HDF la 24 și 48 de ore după tratamentul cu probele reprezentate de hidro-emulsie și activul principal, CBD. Celulele HDF se cultivă în mediu de cultură DMEM (Sigma – Aldrich) suplimentat cu 2 mM Glutamină (Sigma – Aldrich), 10% ser fetal bovin (FBS) inactivat la căldură (Sigma – Aldrich) și 1% Pen/Strep (penicilină). /soluție de streptomycin, 50μg/mL – Sigma – Aldrich) timp de 24 ore la 37°C, 95 % umiditate cu 5% CO₂. În placa cu 96 de godeuri celulele se însămânțează la densitatea celulară de 1x 10⁵ și peste volumul de 90 μL suspensie celulară se adaugă 10 μL din probele testate. Se pregătesc beads-urile de numărare și standardele conform instrucțiunilor producătorului. Probele, martorii și standardele se incubează 3 ore la întuneric, Tcam, împreună cu *Capture Beads* și reactivul de detecție *Human Inflammatory Cytokine PE Detection Reagent*. După incubare probele se spală cu *Wash Buffer*, se centrifughează, se resuspendă în *Wash Buffer* și se analizează prin citometrie în flux utilizând un citometru echipat cu laserele 488 nm și 633 nm. Se numără minim 5000 de evenimente/ probă.

Surse bibliografice citate în descrierea invenției

- [1] F. Abdallah, L. Mijouin, and C. Pichon, "Skin Immune Landscape: Inside and Outside the Organism," *Mediators Inflamm.*, vol. 2017, no. 1, pp. 1–17, 2017, doi: 10.1155/2017/5095293.
- [2] R. R. Wickett and M. O. Visscher, "Structure and function of the epidermal barrier," *Am. J. Infect. Control*, vol. 34, no. 10, pp. S98–S110, Dec. 2006, doi: 10.1016/J.AJIC.2006.05.295.
- [3] B. Galliot, M. Crescenzi, A. Jacinto, and S. Tajbakhsh, "Trends in tissue repair and regeneration," *Dev.*, vol. 144, no. 3, pp. 357–364, 2017, doi: 10.1242/dev.144279.
- [4] G. P. Sidgwick, D. McGeorge, and A. Bayat, "A comprehensive evidence-based review on the role of topicals and dressings in the management of skin scarring," *Arch. Dermatol. Res.*, vol. 307, no. 6, pp. 461–477, Aug. 2015, doi: 10.1007/s00403-015-1572-0.
- [5] J. A. M.-A. A. and M. P., "Mechanisms of epithelial fusion and repair," *Nat. Cell Biol.*, vol. 3, no. 5, 2001, doi: 10.1038/35074643.
- [6] F. R and F. G., "Multiple rows of cells behind an epithelial wound edge extend cryptic lamellipodia to collectively drive cell-sheet movement," *J. Cell Sci.*, vol. 118, no. Pt 1, pp. 51–63, Jan. 2005, doi: 10.1242/JCS.01577.
- [7] G. NS, "Collective cell migration patterns: follow the leader," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 104, no. 41, pp. 15970–15971, Oct. 2007, doi: 10.1073/PNAS.0708037104.
- [8] L. WC, C. PJ, and L. MW, "Role of the epidermis and other epithelia in wound healing: selected concepts," *Clin. Dermatol.*, vol. 2, no. 3, pp. 24–33, 1984, doi: 10.1016/0738-081X(84)90024-5.
- [9] K. WS, "A pattern of epidermal cell migration during wound healing," *J. Cell Biol.*, vol. 49, no. 2, pp. 247–263, May 1971, doi: 10.1083/JCB.49.2.247.
- [10] R. L., "Cellular mechanisms of skin repair in humans and other mammals," *J. Cell Commun. Signal.*, vol. 10, no. 2, pp. 103–120, Jun. 2016, doi: 10.1007/S12079-016-0330-1.
- [11] V. SW and B. MW, "Comparative wound healing--are the small animal veterinarian's clinical patients an improved translational model for human wound healing research?," *Wound Repair Regen.*, vol. 21, no. 3, pp. 372–381, May 2013, doi: 10.1111/WRR.12049.
- [12] J. M. Reinke and H. Sorg, "Wound Repair and Regeneration," *Eur. Surg. Res.*, vol. 49, no. 1, pp. 35–43, 2012, doi: 10.1159/000339613).
- [13] H. Sorg, D. J. Tilkorn, S. Hager, J. Hauser, and U. Mirastschijski, "Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts," *Eur. Surg. Res.*, vol. 58, no. 1–2, pp. 81–94, Feb. 2017, doi: 10.1159/000454919.
- [14] J. W. Wiechers, C. L. Kelly, T. G. Blease, and J. C. Dederen, "Formulating for efficacy.," *Int. J. Cosmet. Sci.*, vol. 26, no. 4, pp. 173–82, Aug. 2004, doi: 10.1111/j.1467-2494.2004.00211.x.
- [15] V. B. Patravale and S. D. Mandawgade, "Novel cosmetic delivery systems: an application update.," *Int. J. Cosmet. Sci.*, vol. 30, no. 1, pp. 19–33, Feb. 2008, doi: 10.1111/j.1468-2494.2008.00416.x.
- [16] Y. Vikas, K. Sandeep, D. Braham, C. Manjusha, and V. Budhwar, "Cyclodextrin Complexes: An Approach to," vol. 2018, no. 2, pp. 394–409, 2018.
- [17] J. Baek and M. G. Lee, "Oxidative stress and antioxidant strategies in dermatology," *Redox Report*, vol. 21, no. 4, Taylor and Francis Ltd., pp. 164–169, Jul. 03, 2016, doi: 10.1179/1351000215Y.0000000015.
- [18] F. A. S. Addor, "Antioxidants in dermatology," *Anais Brasileiros de Dermatologia*, vol. 92, no. 3, Sociedade Brasileira de Dermatologia, pp. 356–362, 2017, doi: 10.1590/abd1806-4841.20175697.
- [19] S. Zhang and E. Duan, "Fighting against Skin Aging: The Way from Bench to Bedside," *Cell Transplant.*, vol. 27, no. 5, pp. 729–738, 2018, doi: 10.1177/0963689717725755.
- [20] T.-K. Lin, L. Zhong, and J. Santiago, "Anti-Inflammatory and Skin Barrier Repair Effects of Topical Application of Some Plant Oils," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 19, no. 1, p. 70, Dec. 2017, doi: 10.3390/ijms19010070.
- [21] Y. Bensouda, K. Qiraouani Boucetta, Z. Charrouf, H. Aguenauou, and A. Derouiche, "The effect of dietary and/or cosmetic argan oil on postmenopausal skin elasticity," *Clin. Interv. Aging*, vol. 10, p. 339, Jan. 2015, doi: 10.2147/CIA.S71684.
- [22] E. Makrantonaki and C. C. Zouboulis, "Molecular mechanisms of skin aging: state of the art.," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1119, pp. 40–50, Nov. 2007, doi: 10.1196/annals.1404.027.
- [23] R. Watkins, L. Wu, C. Zhang, R. M. Davis, and B. Xu, "Natural product-based nanomedicine: Recent advances and issues," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 10, pp. 6055–6074, 2015, doi: 10.2147/IJN.S92162.
- [24] V. B. Patravale and S. D. Mandawgade, "Novel cosmetic delivery systems: An application update," *International Journal of Cosmetic Science*, vol. 30, no. 1, pp. 19–33, Feb. 2008, doi: 10.1111/j.1468-2494.2008.00416.x.
- [25] E. Algin Yapar, A. Evren, and A. Yapar, "Herbal Cosmetics and Novel Drug Delivery Systems," *Indian J. Pharm. Educ. Res.*, vol. 51, doi: 10.5530/ijper.51.3s.3.

- [26] C. Puglia and F. Bonina, "Lipid nanoparticles as novel delivery systems for cosmetics and dermal pharmaceuticals," *Expert Opinion on Drug Delivery*, vol. 9, no. 4, pp. 429–441, Apr. 2012, doi: 10.1517/17425247.2012.666967.
- [27] Y. Vikas, K. Sandeep, D. Braham, C. Manjusha, and V. Budhwar, "Cyclodextrin complexes: An approach to improve the physicochemical properties of drugs and applications of cyclodextrin complexes," *Asian J. Pharm.*, vol. 12, no. 2, pp. S394–S409, 2018.
- [28] C. Saldanha Do Carmo *et al.*, "Microencapsulation of α -tocopherol with zein and β -cyclodextrin using spray drying for colour stability and shelf-life improvement of fruit beverages," *RSC Adv.*, vol. 7, no. 51, pp. 32065–32075, 2017, doi: 10.1039/c6ra25946d.
- [29] H. J. Buschmann and E. Schollmeyer, "Applications of cyclodextrins in cosmetic products: A review," *J. Cosmet. Sci.*, vol. 53, no. 3, pp. 185–191, 2002.
- [30] S. Saha and M. N. Roy, *Encapsulation of Vitamin C into β -Cyclodextrin for Advanced and Regulatory Release*, no. September. 2017.
- [31] E. Schollmeyer and D. Textilforschungszentrum, "Applications of cyclodextrins in cosmetic products: A review."
- [32] S. Saha and M. N. Roy, "Encapsulation of Vitamin C into β -Cyclodextrin for Advanced and Regulatory Release," in *Vitamin C*, InTech, 2017.
- [33] M. Centini, M. Maggiore, M. Casolaro, M. Andreassi, R. Maffei Facino, and C. Anselmi, "Cyclodextrins as cosmetic delivery systems," *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, vol. 57, no. 1–4, pp. 109–112, 2007, doi: 10.1007/s10847-006-9212-0.
- [34] "Application of Cyclodextrins in Cosmetics."
- [35] R. Singh, N. Bharti, J. Madan, and S. N. Hiremath, "Characterization of Cyclodextrin Inclusion Complexes-A Review," 2010.
- [36] EU, "European Commission Decision on Cosmetic Ingredients," 2006.
- [37] A. Ammala, "Biodegradable polymers as encapsulation materials for cosmetics and personal care markets," *Int. J. Cosmet. Sci.*, vol. 35, no. 2, pp. 113–24, Apr. 2013, doi: 10.1111/ics.12017.
- [38] D. HV, L. SB, M. JC, M. DL, and P. SR, "Modern approaches to photoprotection," *Dermatol. Clin.*, vol. 18, no. 4, pp. 577–590, 2000, doi: 10.1016/S0733-8635(05)70208-4.
- [39] L. JY *et al.*, "UV photoprotection by combination topical antioxidants vitamin C and vitamin E," *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 48, no. 6, pp. 866–874, Jun. 2003, doi: 10.1067/MJD.2003.425.
- [40] D. F, G. B, S. DA, and M. HI, "Topical melatonin in combination with vitamins E and C protects skin from ultraviolet-induced erythema: a human study in vivo," *Br. J. Dermatol.*, vol. 139, no. 2, pp. 332–339, 1998, doi: 10.1046/J.1365-2133.1998.02447.X.
- [41] T. K, H. T, T. S, I. H, and K. S, "Interactions between vitamin C and vitamin E are observed in tissues of inherently scorbutic rats," *J. Nutr.*, vol. 127, no. 10, pp. 2060–2064, 1997, doi: 10.1093/JN/127.10.2060.
- [42] J. M. Pullar, A. C. Carr, and M. C. M. Vissers, "The Roles of Vitamin C in Skin Health," *Nutrients*, vol. 9, no. 8, Aug. 2017, doi: 10.3390/NU9080866.
- [43] D. D. F *et al.*, "Protective effect of ferulic acid ethyl ester against oxidative stress mediated by UVB irradiation in human epidermal melanocytes," *Free Radic. Res.*, vol. 43, no. 4, pp. 365–375, 2009, doi: 10.1080/10715760902777329.
- [44] A. W. Zuardi *et al.*, "Cannabidiol monotherapy for treatment-resistant schizophrenia," *J. Psychopharmacol.*, vol. 20, no. 5, pp. 683–686, Sep. 2006, doi: 10.1177/0269881106060967.
- [45] K. H, H. M, H. K, A. K, and T. H, "Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 50, no. 7, pp. 2161–2168, Mar. 2002, doi: 10.1021/JF011348W.
- [46] M. T, Y. K, M. T, T. Y, and Y. H, "Antioxidant mechanism studies on ferulic acid: identification of oxidative coupling products from methyl ferulate and linoleate," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, no. 16, pp. 6069–6074, Aug. 2006, doi: 10.1021/JF060676Z.
- [47] F. Y, K. M, and I. M, "Depigmenting effect of alpha-tocopheryl ferulate on normal human melanocytes," *Pigment cell Res.*, vol. 13 Suppl 8, no. SUPPL. 8, pp. 170–174, 2000, doi: 10.1111/J.0893-5785.2000.130830.X.
- [48] G. E, "Antioxidant potential of ferulic acid," *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 13, no. 4, pp. 435–448, 1992, doi: 10.1016/0891-5849(92)90184-I.
- [49] Y.-H. Jiang *et al.*, "Cross-linking methods of type I collagen-based scaffolds for cartilage tissue engineering," *Am. J. Transl. Res.*, vol. 14, no. 2, p. 1146, 2022, Accessed: Dec. 05, 2022. [Online]. Available: /pmc/articles/PMC8902548/.
- [50] L. Salvatore, N. Gallo, M. L. Natali, A. Terzi, A. Sannino, and M. Madaghiele, "Mimicking the Hierarchical Organization of Natural Collagen: Toward the Development of Ideal Scaffolding Material for Tissue Regeneration," *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 9, p. 258, Apr. 2021, doi: 10.3389/FBIOE.2021.644595/BIBTEX.
- [51] B. J. Bielajew, J. C. Hu, and K. A. Athanasiou, "Collagen: quantification, biomechanics and role of minor

- subtypes in cartilage,” *Nat. Rev. Mater.* 2020 510, vol. 5, no. 10, pp. 730–747, Jul. 2020, doi: 10.1038/s41578-020-0213-1.
- [52] B. Maria Oosterlaken, M. Paula Vena, G. de With, B. M. Oosterlaken, M. P. Vena, and G. de With, “In Vitro Mineralization of Collagen,” *Adv. Mater.*, vol. 33, no. 16, p. 2004418, Apr. 2021, doi: 10.1002/ADMA.202004418.
- [53] L. Yu and M. Wei, “Biom mineralization of Collagen-Based Materials for Hard Tissue Repair,” *Int. J. Mol. Sci.* 2021, Vol. 22, Page 944, vol. 22, no. 2, p. 944, Jan. 2021, doi: 10.3390/IJMS22020944.
- [54] C. Vallecillo, M. Toledano-Osorio, M. Vallecillo-Rivas, M. Toledano, A. Rodriguez-Archilla, and R. Osorio, “Collagen Matrix vs. Autogenous Connective Tissue Graft for Soft Tissue Augmentation: A Systematic Review and Meta-Analysis,” *Polym.* 2021, Vol. 13, Page 1810, vol. 13, no. 11, p. 1810, May 2021, doi: 10.3390/POLYM13111810.
- [55] B. Ucar, “Natural biomaterials in brain repair: A focus on collagen,” *Neurochem. Int.*, vol. 146, p. 105033, Jun. 2021, doi: 10.1016/J.NEUINT.2021.105033.
- [56] A. Sionkowska, K. Adamiak, K. Musial, and M. Gadomska, “Collagen Based Materials in Cosmetic Applications: A Review,” *Mater.* 2020, Vol. 13, Page 4217, vol. 13, no. 19, p. 4217, Sep. 2020, doi: 10.3390/MA13194217.
- [57] E. Rezvani Ghomi, N. Nourbakhsh, M. Akbari Kenari, M. Zare, and S. Ramakrishna, “Collagen-based biomaterials for biomedical applications,” *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.*, vol. 109, no. 12, pp. 1986–1999, Dec. 2021, doi: 10.1002/JBM.B.34881.

REVENDICĂRI

1. Procedeu de obținere a unor sisteme sinergice de principii active destinate regenerării epidermei afectate de leziuni superficiale, radiații solare, radioterapie, sau escare utilizând hidrogeluri specific funcționalizate cu complecși de incluziune ai unor ingrediente active în molecule gazdă. Procedul presupune obținerea sistemului collagen-acid hialuronic prin conjugare chimică, urmat de realizarea complecșilor de incluziune reprezentați de β -ciclodextrine încărcate cu vitamina C și acid ferulic, urmând apoi încorporarea acestora într-un hidrogel fluid. Astfel, se revendică tehnologia de obținere a unui hidrogel care, conform invenției presupune realizarea fazei B prin hidratarea stabilizatorului de emulsie (acrylates crosspolymer - 86.2%), fără încălzire, în apă demineralizată până la obținerea unui gel omogen, transparent, incolor, adaugarea în soluție a curcuminei (0.5%) și omogenizarea până la obținerea unui gel ușor fluid, omogen în consistență, de culoare portocaliu-morcov, cu particule de dimensiuni mici, de culoare mai închisă în masă. Urmând obținerea fazei A care se realizează prin dispersarea sistemelor formate din ciclodextrine și vitamina C (0.5%), respectiv acidul ferulic (0.2%), în conjugatul collagen-acid hialuronic (10%). După omogenizarea riguroasă, faza A este încorporată în faza B până la obținerea unui gel ușor fluid, de culoare portocaliu-morcov, cu particule de dimensiuni mici dispersate în masă.