



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2018 00691**

(22) Data de depozit: **18/09/2018**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/07/2024** BOPI nr. **7/2024**

(41) Data publicării cererii:
30/03/2020 BOPI nr. **3/2020**

(73) Titular:
• **UNIVERSITATEA DIN BUCUREȘTI,**
ȘOS.PANDURI NR.90, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• **NICHITA CORNELIA, STR.ȘTIRBEI VODĂ,**
NR.107, BL.C24, SC.1, ET.8, AP.29,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
• **AL-BEHADILI FAISAL RAHEEM**
MIKHAILEF, STR. MOTOC, NR.4, BL.P 56,
SC.1, AP.156, SECTOR.5, BUCUREȘTI, B,
RO;
• **BALAN ADRIANA ELENA,**
STR. FIZICIENILOR, NR.16, BL.N3, SC.1,
ET.2, AP.17, MĂGURELE, IF, RO;
• **STAMATIN IOAN, STR.LAȚUL PLOPULUI**
NR.2, BL.P65, SC.1, ET.4, AP.13,
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:
A. PURATUCHIKODY, D. C. NITHYA, G.
NAGALAKSHMI, "WOUND HEALING
ACTIVITY OF CYPERUS ROTUNDUS
LINN", INDIAN J. PHARM. SCI., VOL. 68,
PP. 97-101, 2006; K. R. NAGULENDRAN, S.
VELAVAN, R. MAHESH, V. HAZEENA
BEHAM, "IN VITRO ANTIOXIDANT
ACTIVITY AND TOTAL POLYPHENOLIC
CONTENT OF CYPERUS ROTUNDUS
RHIZOMES", E - JOURNAL OF
CHEMISTRY, VOL. 4(3), PP. 440-449, 2007;
F. NOORBAKHS, "ANTIFUNGAL
EFFECTS OF SILVER NANOPARTICLE
ALONE AND WITH COMBINATION OF
ANTIFUNGAL DRUG ON DERMATOPHYTE
PATHOGEN TRICHOPHYTON RUBRUM",
INTERNATIONAL CONFERENCE ON
BIOSCIENCE, BIOCHEMISTRY AND
BIOINFORMATICS IPCBEE, VOL. 5,
PP. 364-367, 2011

(54) **BIONANOSTRUCTURI PE BAZĂ DE CHITOSAN**
ȘI NANOPARTICULE DE ARGINT CU APLICAȚII
ÎN DOMENIUL FARMACEUTIC ȘI DERMATOCOSMETIC,
ȘI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTORA



Invenția se referă la obținerea unor bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan în care sunt încapsulate nanoparticule de argint și extracte vegetale selective obținute din specia *Cyperus rotundus* L., cu aplicații directe în domeniul farmaceutic și dermato cosmetic și la procedeul de obținere al acestora. Produsele de tip bionanostructuri prezintă o compoziție chimică standardizată, eficiență de încapsulare semnificativă, topologie și morfologie de suprafață specifică, stabilitate fizico-chimică și dimensiune nanometrică standardizată, putând fi utilizate pentru transportul și eliberarea controlată, în mod simultan pentru multitudine de combinații bazate pe nanoparticule metalice și diferiți agenți farmacoterapeutici de sinteză sau de origine vegetală.

Bionanostructurile au la bază nanoparticule de chitosan în care sunt încapsulate extracte vegetale selective standardizate în polifenoli totali, obținute din rizomii speciei *Cyperus rotundus* L., precum și nanoparticule de argint obținute prin bioreducere cu extracte vegetale apoase obținute din aceeași specie menționată mai sus.

Este cunoscut din articolul "**Wound Healing Activity of *Cyperus rotundus* Linn.**"- **A. Puratuchikody, D.C. Nithya, G. Nagalakshmi, Indian J. Pharm. Sci., 68, p. 97-101, 2006** faptul că Specia vegetală *Cyperus rotundus* L. (*rhizoma*) conține un complex de compuși chimici implicați în mecanisme antiinflamatoare, antipiretice, antidiabetice, antidiareice, citoprotectoare, antimutagene, antibacteriene și antioxidant.

De asemenea, este cunoscut din articolul "**In vitro antioxidant activity and total polyphenolic content of *Cyperus rotundus* rhizomes**"- **K.R. Nagulendran, S. Velavan, R. Mahesh, V. Hazeena Beham., E- Journal Of Chemistry, 4(3), p. 440-449, 2007** faptul că screeningul fitochimic al rizomiilor (*rhizoma*) aparținând speciei *Cyperus rotundus* L. a pus în evidență prezența următoarelor clase de principii active: compuși fenolici, flavonoli glicozidați, polifenoli, saponine, vitamine (vitamina C), sesquiterpenoide, α -cyperone și ulei esențial.

Articolul "**Antifungal Effects of Silver Nanoparticle Alone and with Combination of Antifungal Drug on Dermatophyte Pathogen *Trichophyton Rubrum***"- **F. Noorbakhsh, International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics IPCBEE, 5, p. 364-367, 2011** se referă la efectul antimicrobian al nanoparticulelor de argint (Ag-NP) investigat pe multe bacterii și drojdie, dar și rolul lor asupra ciuperci dermatofite, *Trichophyton rubrum* este cel mai frecvent agent al micozelor superficiale în întreaga lume și cauzal major agent pentru onicomicoză, acest studiu este de a investiga efectul Ag-NP-urilor singure și în combinație cu fluconazol și geriseofulvin pe patogenul dermatofit *T. rubrum*, activitatea antifungică a flocunazolului și geriseofulvinei au fost crescute în prezența Ag-NP în testul combinat *Cyperus rotundus* L. (*nutgrass*) este o plantă perenă comună, aparținând familiei *Cyperaceae*, originară din Africa de sud și Asia de Sud fiind răspândită și în centrul Europei (la nord de Franța și Austria) [Botanical Society of Britain and Ireland. Original (xls) on 2015-01-25].

Este cunoscut că specia vegetală *Cyperus rotundus* L. prezintă o serie de proprietăți terapeutice de tip analgezic, astringent, antispasmodic, carminativ, demulcent, emolient, imunostimulant, laxativ, stimulat, tonic, cicatrizant fiind utilizată în prezent în diferite afecțiuni cum ar fi cele gastro-intestinale sau afecțiuni ale pielii (infecții cu furuncul) [D.K. Pal, S. Dutta, **Evaluation of the Antioxidant activity of the roots and Rhizomes of *Cyperus rotundus* L., Indian J. Pharm.Sci. , 68, p. 256-258, 2006**].

Specia vegetală *Cyperus rotundus* L. (*rhizoma*) conține un complex de compuși chimici implicați în mecanisme antiinflamatoare, antipiretice, antidiabetice, antidiareice, citoprotectoare, antimutagene, antibacteriene și antioxidante [B. Oliver-Bever, **Medicinal**

Plants in Tropical WestAfrica; Cambridge University Press: Cambridge, UK, p. 200, 1986; A. R.Joshi, K. Joshi, *Indigenous knowledge and uses of medicinal plants by local communities of the Kali Gandak Watershed Area*, Nepal. *Ethnopharmacol.*, 73, p. 175-183, 2000; M.C.T. Durate, G.M. Figueira, A. Sartoratto, V.L.G. Rehder, C. Delarmelina, *Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plant*. *J. Ethnopharmacol.* 97, 05-311. 2005; A. Puratchikody, C.N. Devi, G. Nagalakshmi, *Wound healing activity of Cyperus rotundus linn*. *Indian J Pharm Sci.*, 68, p. 97-101, 2006; H.Z. Imam, G. Sofi, A. Seikh, A. Lone, *The incredible benefits of Nagarmotha (Cyperus rotundus)*. *Int. J. Nutr. Pharmacol. Neurol. Dis.*, 4, p. 23-27, 2014].

Este cunoscut faptul că screeningul fitochimic al rizomiilor (rhizoma) aparținând speciei *Cyperus rotundus* L. a pus în evidență prezența următoarelor clase de principii active: compuși fenolici, flavonoli glicozidați, polifenoli, saponine, vitamine (vitamina C), sesquiterpenoide, α -cyperone și ulei esențial [S. Ranjani Sivapalan, P. Jeyadevan, *Physico-Chemical And Phyto-Chemical Study Of Rhizome of Cyperus rotundus LINN*, *International Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Technology (IJPPT)*, 1(2), p. 42-46, 2012; Liang-Liang Zhang, Li-Fang Zhang, Qing-Ping Hu, Dong-Lin Hao, JianGuo Xu, *Chemical composition, antibacterial activity of Cyperus rotundus rhizomes essential oil against Staphylococcus aureus via membrane disruption and apoptosis pathway*, *Food Control*, 80, p. 290-296, 2017].

Este cunoscut că nanoparticulele de argint prezintă o serie de proprietăți farmacologice fiind eficiente și active în tratarea infecțiilor microbiene, fungice, parazitare și virale ale pielii, ale organelor senzoriale, ale tracturilor digestiv, respirator, urinar și de asemenea în tratarea afecțiunilor sistemului imunitar.

În plus, prezența nanoparticulele de argint contribuie la procesul de reconstrucție a țesuturilor, accelerarea vindecării plăgilor, tratarea arsurilor și ulcerățiilor cutanate, precum și diminuarea semnificativă a cicatricelor.

De asemenea s-a demonstrat că nanoparticulele de argint au un rol semnificativ în tratarea dermatitei atopice, a diferitelor tipuri de acnee, acestea fiind de asemenea un veritabil agent antiinfecțios și antifungic prin inhibarea creșterii dermatofitelor [O. Shoseyov, I. Levy, *Nano BioTechnology, BioInspired Devices and Materials of the Future*. p. 322, 2008; K.J. Kim, *Antifungal Effect of Silver Nanoparticles on Dermatophytes*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18, p. 1482-1484, 2008].

Sunt cunoscute aplicațiile biomedicale ale nanoparticulelelor de argint cum sunt: produsele farmaceutice, produsele cosmetice și dermatocosmetice, produsele de igienă și îngrijire, transportul medicamentelor-sisteme de livrare, detecția moleculară, diagnosticul molecular [Kenneth K. Y. Wong , Stephanie O. F. Cheung, Liuming Huang, Jun Niu, Chang Tao, Chi-Ming Ho, Chi-Ming Che, and Paul K. H. Tam, *Further Evidence of the Anti-inflammatory Effects of Silver Nanoparticles*, *ChemMedChem* 4(7), p.1129 - 1135, 2009; Popa, I.M. Nicola, V. Ceara, C. Boboc, C. Alexandra Danes, *Silver Nanoparticles Synthesis and Applications*, *Electrotehnica, Electronica, Automatica (EEA)*, 64(2), p. 104-112, 2016].

Datorită proprietăților farmacologice și îndeosebi a celor antibacteriene, nanoparticulele de argint, pot fi folosite ca și conservanți eficienți și ecologici în obținerea produselor farmaceutice, dermato-cosmetice și a produselor de igienă și îngrijire prin încorporare în compoziția acestora.

Este cunoscută în literatura de specialitate importanța utilizării biopolimerilor în special a chitosanului, în industria farmaceutică precum și în obținerea produselor dermatocosmetice datorită proprietăților biologice specifice precum și a faptului că asigură transportul și eliberarea controlată a substanțelor active, pe o durată de timp bine determinată fiind folosit și la sinteza de nanoparticule polimerice. Este cunoscută că biopolimerul chitosan este o polizaharidă liniară compusă din unități β -(1-4)-D-glucosamină și N-acetil-D glucosamină, non-toxic, stabil, biodegradabil, biocompatibil, antibacterian, antiinflamator, antidiabetic, anti-oxidant, care se utilizează în industria farmaceutică, cosmetică și în medicină, ca medicament, supliment alimentar, component al produselor cosmetice sau biomaterial. Există numeroase lucrări privitoare la proprietățile terapeutice ale chitosanului, acesta fiind utilizat pentru tratarea psoriazisului, a cancerului pielii, cicatrizarea suprafețelor de piele arse, a rănilor și a alte traumelor la nivelul pielii [T. Cunha, B. Teixeira, B. Santos, M. Almeida, G. Dias, and J. Neves, "*Chitosan-based systems for biopharmaceuticals: delivery, targeting and polymer therapeutics*," in Chapter 5. Biological and Pharmacological Activity of Chitosan and Derivatives, B. Sarmento and J. Neves, Eds., Wiley, 2012; Inmaculada Aranaz, Niuris Acosta, Concepcion Civera, Begofia Elorza, Javier Mingo, Carolina Castro, Maria de los Llanos Gandia, Angeles Heras Caballero, *Cosmetics and Cosmeceutical Applications of Chitin, Chitosan and Their Derivatives, Polymers*, 10, p.213; 2018].

Sunt cunoscute precedee de obținere a produselor de tip bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan, cum ar fi: procesele de sinteză sol-gel, emulsificarea și difuzia solventului, reticularea cu diferiți agenți de reticulare, gelarea ionică, evaporarea solventului, nanoprecipitarea, dializa, tehnologia fluidului supercritic.

Produsele cunoscute și procedeele de obținere a acestora prezintă o serie de dezavantaje cum ar fi: stabilitatea redusă în timp a nanoparticulelor de chitosan, dimensiuni nestandardizate în cazul produselor și existența unor aspecte legate de toxicitatea solvenților utilizați și costuri ridicate, în cazul procedeeleor.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în obținerea de bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan, în care sunt încapsulate nanoparticule de argint și extracte vegetale selective standardizate în polifenoli totali, obținute din specia *Cyperus rotundus* L. (*rhizoma*), care prezintă stabilitate fizico-chimică, topologie și morfologie de suprafață specifică și dimensiune nanometrică standardizată, printr-un procedeu care permite încapsularea eficientă a componentelor sistemului (nanoparticule de argint și extracte vegetale selective).

Bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan conform invenției sunt constituite prin combinarea optimă a trei componente soluție de chitosan: nanoparticule de argint: extract vegetal selectiv standardizat în polifenoli totali, într-un raport de asociere, părți în volum de 3:1:2 (v/v/v) și omogenizarea acestora prin ultra-mixare cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 2...5 min la viteza de 600...1000 rot/min, etapă urmată de procesul de gelare ionică.

Procedeul de obținere a celor trei componente este următorul:

- soluția de chitosan este obținută prin solubilizare realizată prin procesul de ultrasonare timp de 20...40 min, urmată de dizolvare sub agitare magnetică timp de 3...4 h la temperatură cuprinsă între 30...40°C;

- extracte selective standardizate în polifenoli totali, obținute din specia vegetală *Cyperus rotundus* L. (*rhizoma*), care se prezintă sub formă lichidă, cu miros și culoare caracteristice, sunt obținute în urma procesului de extracție clasică solid-lichid a materialului

vegetal uscat și măcinat, utilizând solvent alcool etilic 70...85 %(v), în raport material	1
vegetal:solvent = 1:10...1:20 (m/v) la temperatura de reflux a solventului timp de 2...3 h, în	
3...4 cicluri extractive, urmat de staționare la temperatură scăzută de 4°C, filtrarea la vid pe	3
hârtie de filtru industrială ultra-pură cu un conținut de α-celuloză 100%, netratată chimic,	
reunirea filtratelor și prelucrarea acestora prin concentrare la vid sub presiune redusă	5
cuprinsă între 1,1...1,3 kPa la o temperatură cuprinsă între 30...50°C;	
- nanoparticulele de argint cu dimensiune standardizată a volumului hidrodinamic de	7
56,18...62,55 nm care se obțin prin aplicarea tehnologiei de biosinteză realizată prin reacția	
de reducere a soluțiilor apoase de nitrat de argint de diferite concentrații (de ordin milimolar)	9
în prezența extractelor vegetale apoase obținute din specia <i>Cyperus rotundus</i> L. (<i>rhizoma</i>),	
printr-un proces care constă în extracția clasică solid-lichid a materialului vegetal uscat și	11
măcinat, utilizând solvent apă ultrapură în raport material vegetal:solvent = 1:10...1:15 (m/v)	
la temperatura de reflux a solventului timp de 3...4 h, urmat de staționare la temperatură	13
scăzută de 4°C, centrifugare, filtrarea la vid pe hârtie de filtru industrială ultra-pură cu un	
conținut de α-celuloză 100%.	15
Procedeul conform invenției înlătură dezavantajele produselor cunoscute prin aceea	
că produsele de tip bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan, în care sunt	17
încapsulate extracte vegetale selective standardizate în polifenoli totali, obținute din specia	
<i>Cyperus rotundus</i> L. (<i>rhizoma</i>) și nanoparticule de argint, prezintă stabilitate fizico-chimică	19
în timp, aplicabilitate extinsă în domeniul farmaceutic și cosmetic conferită prin proprietățile	
fizico-chimice standardizate, demonstrate prin investigare prin tehnică DLS (Dynamic Light	21
Scattering) și anume: dimensiuni de particule cuprinse între 193...198 nm, cu indice de poli-	
dispersie cuprins între 0,315...0,433 și potențial zeta cuprins între 23...26 mV. De asemenea	23
este demonstrată eficiența de încapsulare, acesta fiind cuprinsă între 75...89% pentru	
extractul vegetal și între 68...74% pentru nanoparticulele de argint precum și topologie și	25
morfologie de suprafață specifică, determinată prin AFM microscopie de forță atomică	
(fig. 1).	27
Procedeul conform invenției înlătură dezavantajele procedeelor cunoscute prin aceea	
că se realizează o sinteză a produselor de tip bionanostructuri, care constă în procesul de	29
gelare ionică, etapa precedată de obținerea celor trei componente, urmată de combinarea	
optimă a acestora: soluție de chitosamnanoparticule de argint:extracte vegetale selective	31
obținute din specia <i>Cyperus rotundus</i> L. (<i>rhizoma</i>) într-un raport de asociere, părți în volum	
de 3:1:2 (v/v/v) și omogenizarea acestora prin ultra-mixare cu un echipament de tip Ultra-	33
Turrax Digital High-Speed, timp de 2...5 min la viteza de 600...1000 rot/min, urmată de	
operația de ajustare a pH-ului prin adaus de soluție de NaOH 1M, adăugarea soluției de	35
agent de reticulare ionică tripolifosfat de sodiu, proces realizat în mod constant și uniform cu	
un debit de 20...50 μl/s cu ajutorul unei instalații de tip Syringe Pump Systems, cu un raport	37
de combinare între amestecul rezultat din cele trei componente și agentul de reticulare	
cuprins între 5:1...10:1 (v/v), după care procesul de gelarea se realizează timp de 180...240	39
min, sub agitare magnetică la 300 rpm, urmat de centrifugarea soluției obținute la viteza de	
8000 rpm la temperatura de -10°C timp de 15...20 min, rezultând produse de tip bio-	41
nanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan, în care sunt încapsulate nanoparticule	
de argint și extracte vegetale selective standardizate în polifenoli totali, obținute din specia	43
<i>Cyperus rotundus</i> L. (<i>rhizoma</i>), cu proprietăți fizico-chimice standardizate.	
Avantajele bionanostructurilor pe bază de nanoparticule de chitosan, în care sunt	45
încapsulate nanoparticule de argint și extracte vegetale selective standardizate în polifenoli	
totali, obținute din specia <i>Cyperus rotundus</i> L. (<i>rhizoma</i>), conform invenției constau în aceea	47
că:	
- prezintă o eficiență de încapsulare ridicată;	49

1 - topologie și morfologie de suprafață specifică;
2 - prezenta dimensiuni nanometrice standardizare, stabilitate fizico-chimică a
3 nanoparticulelor și aplicabilitatea largă în domeniul farmaceutic și dermatocosmetic;
4 - este practic netoxic fiind obținut prin sinteza nepoluantă și solvenți lipsiți de
5 toxicitate.

6 Avantajele acestui procedeu de obținere a bionanostructuri cu eficiență de
7 încapsulare ridicată, dimensiuni nanometrice standardizare, stabilitate fizico-chimică și topo-
8 logie și morfologie de suprafață specifică, conform invenției, constau în aceea că produsele
9 sunt obținute prin procesul de gelare ionică realizat prin adaosul de soluție de agent de
10 reticulare ionică tripolifosfat de sodiu, peste amestecul rezultat din cele trei componente,
11 printr-o tehnologie nepoluantă, economică, rapidă care conduce la obținerea unor noi pro-
12 duse de tip bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan, în care sunt încapsulate
13 nanoparticule de argint și extracte vegetale selective standardizate în polifenoli totali,
14 obținute din specia *Cyperus rotundus* L. (*rhizoma*).

15 Rezultatele testării caracteristicilor fizico-chimice ale produselor de tip bionano-
16 structuri realizat în urma elaborării procedeu de gelare ionică, permit utilizarea simultană
17 ca bioprodus produs farmaceutic și dermato-cosmetice cu înalt potențial terapeutic.

18 Se prezintă în continuare un exemplu de realizare a invenției.

19 *Obținerea soluției de chitosan*

20 Biopolimerul chitosan de diferite concentrații, cuprise între 1,2...2,1 mg/mL, s-a
21 dizolvat în soluții de acid acetic de concentrație cuprinsă între 1,75...3,5 % (v/v).

22 Soluția de chitosan astfel obținută a fost supusă operației de ultrasonare timp de
23 20...40 min și urmată de dizolvare sub agitare magnetică timp de 3...4 h la temperatură
24 cuprinsă între 30...40°C.

25 *Obținere extractelor vegetale selective obținute din specia vegetala Cyperus rotundus*
26 *L. (rhizoma)* constă în:

27 Materialul vegetal 300 g/probă, uscat și mărunțit, se extrage în solvent alcool etilic
28 de concentrație 70...85% (v), raportul material vegetal:solvent având valori cuprinse între
29 1:10...1:20 (m/v).

30 Înainte de a fi supus procesului de extracție solid-lichid, amestecul material vegetal-
31 solvent este ultrasonat timp de 20...40 min, la temperatură cuprinsă între 20...50°C.

32 Timpul de extracție este de 2...3 h, la temperatura de reflux a solventului. Extractul
33 se răcește la temperatura de +4°C și se filtrează pe hârtie de filtru industrială ultra-pură cu
34 un conținut de α -celuloză 100%.

35 Soluțiile hidroalcoolice obținute în urma celor 3...4 cicluri de extracție, se reunesc și
36 se supun concentrării la vid, în rapoarte de concentrare diferite cuprinse între 1:2...1:6 (v/v),
37 față de filtratul total, până la obținerea unui extract concentrat de culoare brun gălbui. Ope-
38 rația de concentrare la vid se realizează la presiune redusă cuprinsă între 1,1...1,3 kPa la
39 o temperatură de 30...50°C, utilizând un rotovapor tip Digital Rotary Evaporator RE100, pre-
40 văzut cu baie de apă termostată. Astfel, se obține extractul vegetal selectiv cu un conținut
41 de polifenoli totali cuprins între 4,83...8,85% exprimat în acid galic.

42 *Biosinteza nanoparticulelor de argint:*

43 *- Obținerea extractelor apoase*

44 Materialul vegetal constituit din rhizomii speciei *Cyperus rotundus* L. 100 g/proba,
45 uscat și mărunțit, se extrage în solvent apă ultrapură, raportul material vegetal:solvent având
46 valori cuprinse între 1:10...1:15 (m/v). Extracția se realizează prin metoda clasică solid-lichid
47 la temperatura de reflux a solventului timp de 3...4 h, proces urmat de staționare la tempe-
48 ratură scăzută de 4°C, centrifugare la 3000 rpm, timp de 20...30 min, la temperatura camerei,
49 filtrare la vid pe hârtie de filtru industrială ultra-pură cu un conținut de α -celuloză 100%.

- Obținerea nanoparticulelor de argint	1
Nanoparticulele de argint se obțin prin aplicarea tehnologiei de sinteză care se realizează prin reacția de reducere a soluțiilor apoase de nitrat de argint de diferite concentrații 0,6...1,4 mM în prezența extractelor vegetale apoase obținute din specia <i>Cyperus rotundus</i> L. (<i>rhizoma</i>), raportul volumic dintre extractul vegetal apos selectat și soluțiilor de nitrat de argint fiind de 1:32...1:40 (v/v).	3
Nanoparticulele de argint sunt evaluate din punct de vedere al dimensiunii și al stabilității în timp, pe durata a 12 luni, prin tehnică de difuzie dinamică a luminii. Astfel, se obțin nanoparticulele de argint având dimensiune standardizată a volumului hidrodinamic de 56,18...62,55 nm, determinate prin difuzia dinamică a luminii.	5
Obținere produselor de tip bionanostructuri	7
Produsele de tip bionanostructuri, sunt obținute prin combinarea optimă a trei componente: soluție de chitosan:nanoparticule de argint extricate vegetale selective obținute din specia <i>Cyperus rotundus</i> L. (<i>rhizoma</i>) într-un raport de asociere, părți în volum de 3:1:2 (v/v/v) și omogenizarea acestora prin ultra-mixare cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 2...5 min la viteza de 600...1000 rot/min, urmată de operația de ajustare a pH-ului la o valoare cuprinsă între 4,5...5,2 prin adăugare de soluție de NaOH 1M, adăugarea soluției de agent de reticulare ionică tripolifosfat de sodiu de concentrație cuprinsă între 0,25...1,75 mg/mL, proces realizat în mod constant și uniform cu un debit de 20...50 μl/s cu ajutorul unei instalații de tip Syringe Pump Systems, cu un raport de combinare între amestecul rezultat din cele trei componente și agentul de reticulare cuprins între 5:1...10:1 (v/v), după care procesul de gelarea se realizează timp de 180...240 min, sub agitare magnetică la 300 rpm, urmat de centrifugarea soluției obținute la viteza de 8000 rpm la temperatura de -10°C timp de 15...20 min, rezultând produse de tip bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan, în care sunt încapsulate nanoparticule de argint și extracte vegetale selective standardizate în polifenoli totali, obținute din specia <i>Cyperus rotundus</i> L. (<i>rhizoma</i>), cu proprietăți fizico-chimice standardizate.	9
Produsele de tip bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan, în care sunt încapsulate nanoparticule de argint și extracte vegetale selective standardizate în polifenoli totali, obținute din specia <i>Cyperus rotundus</i> L. (<i>rhizoma</i>), prezintă dimensiune standardizată a acesteia având volumul hidrodinamic de 193...198 nm cu indice de polidispersie cuprins între 0,315...0,433 și stabilitate fizico-chimică având potențialul zeta 23...26 mV, determinate prin difuzia dinamică a luminii, precum și topologie și morfologie de suprafață specifică determinată prin AFM microscopie de forță atomică (fig. 1). Rezultatele evaluării eficienței de încapsulare, demonstrează valori cuprinse între 75...89% pentru extractul vegetal selectiv și valorii cuprinse între 68...74% pentru nanoparticulele de argint.	11
	13
	15
	17
	19
	21
	23
	25
	27
	29
	31
	33
	35

Revendicări

1. Bionanostructuri pe bază de chitosan, **caracterizate prin aceea că**, sunt constituite nanoparticule de chitosan în care sunt încapsulate nanoparticule de argint și extracte vegetale selective, obținute din specia *Cyperus rotundus* L. rhizoma, produsul final având dimensiuni nanometrice standardizate cuprinse între 193...198 nm, indice de polidispersie cuprins între 0,315...0,433, potențial zeta cuprins între 23...26 mV și eficiență de încapsulare, cuprinsă între 75...89% pentru extractul vegetal selectiv și între 68...74% pentru nanoparticulele de argint.

2. Procedeu de obținere a unor bionanostructuri pe bază de chitosan și nanoparticule de argint, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, constă în combinarea unei soluții de chitosan, nanoparticule de argint și extracte vegetale selective, obținute din specia *Cyperus rotundus* L. rhizoma într-un raport de asociere, părți în volum de 3:1:2 (v/v/v) și omogenizarea prin ultra-mixare timp de 2...5 min la viteza de 600...1000 rot/min, ajustare a pH-ului la o valoare cuprinsă între 4,5...5,2 prin adaus de soluție de NaOH 1M, adăugarea soluției de agent de reticulare ionică tripolifosfat de sodiu de concentrație cuprinsă între 0,25...1,75 mg/mL, după care procesul de gelare se realizează timp de 180...240 min, sub agitare magnetică la 300 rpm, urmat de centrifugarea soluției obținute la viteza de 8000 rpm la temperatura de -10°C timp de 15...20 min.

3. Procedeu de obținere a unor bionanostructuri, conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că**, soluția de chitosan se obține prin solubilizarea realizată printr-un proces de ultrasonare timp de 20...40 min, urmată de dizolvare sub agitare magnetică timp de 3...4 h la o temperatură cuprinsă între 30...40°C.

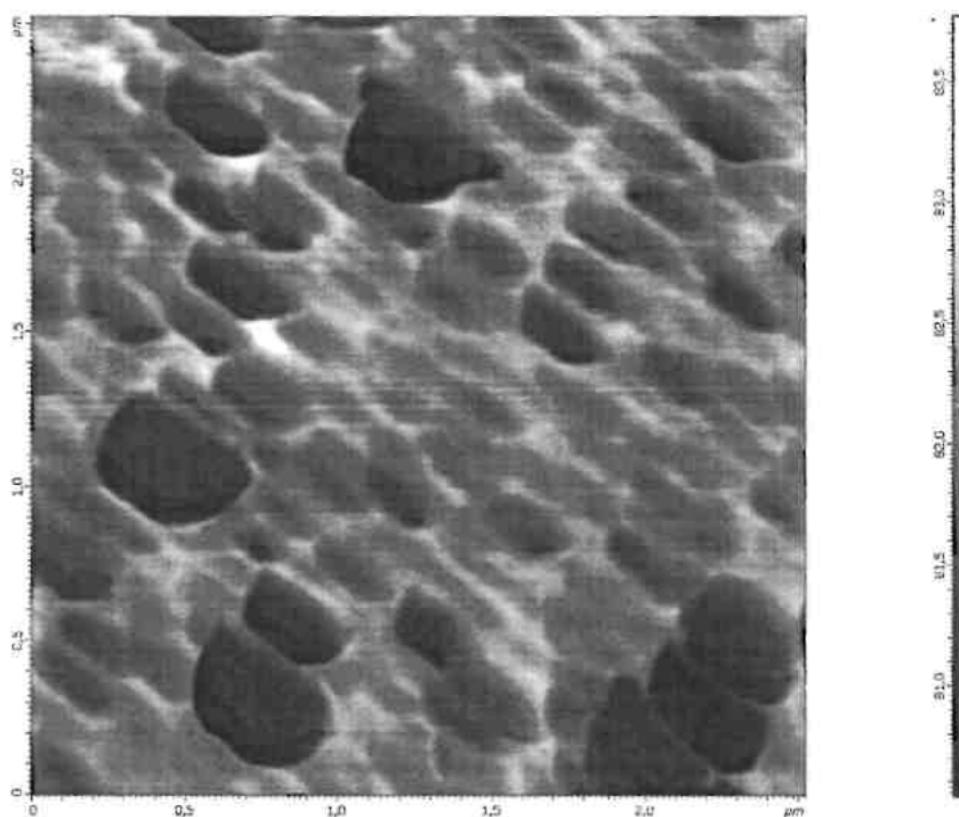
4. Procedeu de obținere a unor bionanostructuri, conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că**, extractele selective standardizate cu un conținut de polifenoli totali de 4,83...8,85% exprimat în acid galic, obținute din rizomii specie vegetale *Cyperus rotundus* L., se prezintă sub forma lichidă, în urma procesului de extracția clasică solid-lichid a materialului vegetal uscat și macinat, utilizând ca solvent alcool etilic 70...85 % (v), în raport material vegetal:solvent = 1:10...1:20 (m/v) la temperatura de reflux a solventului timp de 2...3 h, în 3...4 cicluri extractive, urmat de staționare la temperatură scăzută de 4°C, filtrarea la vid și prelucrarea acestora prin concentrare sub presiune redusă cuprinsă între 1,1...1,3 kPa la o temperatură cuprinsă între 30...50°C

5. Procedeu de obținere a unor bionanostructuri, conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că**, nanoparticulele de argint cu dimensiuni ale volumului hidrodinamic cuprins între 56,18...62,55 nm se obțin prin aplicarea tehnologiei de biosinteză realizată prin reacția de reducerea a soluțiilor apoase de nitrat de argint în prezenta extractelor vegetale apoase obținute din specia *Cyperus rotundus* L., prin extracția clasică solid-lichid a materialului vegetal uscat și măcinat, utilizând solvent apa ultrapura în raport material vegetal: solvent de 1:10...1:15 (m/v) la temperatura de reflux a solventului timp de 3...4 h, urmat de staționare la temperatură scăzută de 4°C, centrifugare, filtrarea la vid.

(51) Int.Cl.

A61K 31/00 (2006.01);

A61K 36/89 (2006.01)



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 301/2024