



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2020 00286**

(22) Data de depozit: **25/05/2020**

(41) Data publicării cererii:
30/12/2021 BOPI nr. **12/2021**

(71) Solicitant:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE
DEZVOLTARE PENTRU CHIMIE ȘI
PETROCHIMIE - ICECHIM BUCUREȘTI,
SPLAIUL INDEPENDENȚEI, NR.202,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **FRONE ADRIANA NICOLETA,
STR. UIOARA NR.4, BL.50, SC.3, AP.60,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **PANAITESCU DENIS MIHAELA,
PIAȚA KOGALNICEANU, NR.8, SC.B, ET.6,
AP.35, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **OPREA MĂDĂLINA, STR. CEAHLĂUL,
NR.20, BL.103, SC.A, ET.1, AP.6,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(54) **BIOCOMPOZITE POLIMERICE CU EFECT ANTIBACTERIAN
PENTRU APLICAȚII BIOMEDICALE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor biocompozite polimerice cu efect antibacterian pentru aplicații biomedicale sau realizarea de ambalaje pentru industria alimentară. Procedeul, conform invenției, constă în aplicarea metodei de amestecare în topitură, respectiv, depunerea din soluție pentru încorporarea de agenți antimicrobieni de tip albumină și heparină sub formă grefată pe un substrat de nanoceluloză într-o matrice polimerică de acid polilactic, PLA, cu grad ridicat

de izomer L, din care rezultă materiale compozite sub formă de foaie sau film, având stabilitate termică comparabilă cu cea a PLA și efect de reducere a coloniilor de *Staphylococcus aureus* și *Escherichia coli* conform testului antibacterian.

Revendicări: 5

Figuri: 1



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr.	a 2020 00286
Data depozit 25-05-2020	

BIOCOMPOZITE POLIMERICE CU EFECT ANTIBACTERIAN PENTRU APLICATII BIOMEDICALE

Inventia se refera la biocompozite cu efect antibacterian constituite din poliester alifatic biodegradabil de tipul acidului polilactic (L) – PLA cu masa moleculara medie gravimetrica cuprinsa intre 60 kDa si 300 kDa, albumina sau heparina si/sau nanoceluloza si la procedeul de obtinere a acestora. Biocompozitele care fac obiectul acestei inventii pot fi utilizate in aplicatii biomedicale la acoperirea dispozitivelor medicale, implantarea in organismul uman dar si in alte domenii precum obtinerea de ambalaje pentru industria alimentara sau cosmetica. Utilizarea dispozitivelor biomedicale, dispozitive care intra in contact cu sangele, biosenzori, dispozitive pentru transportul medicamentelor s.a., este restrictiionata in principal de contaminarea microbiana care poate conduce la complicatii sau chiar la deces de aceea este necesar ca aceste dispozitive sa prezinte proprietati antibacteriene. Biocompozitele care fac obiectul acestei inventii sunt obtinute din materiale provenite din resurse regenerabile, 100% biocompatibile cu organismul uman, iar realizarea lor contribuie la reducerea utilizarii polimerilor sintetici pe baza de petrol care sunt utilizati in mod traditional pentru aplicatiile biomedicale si de ambalaje. Inventia urmareste atat valorificarea bioresurselor cat si a deseurilor agro-alimentare fiind astfel in conformitate cu strategia UE privind o bio-economie inovatoare precum si cu strategia de protectie a mediului. Biocompozitele din acid polilactic (L) cu albumina si heparina se pot obtine prin metoda amestecarii in topitura utilizand echipamentele de prelucrare specifice polimerilor termoplastici precum si prin metoda depunerii din solutie.

Acidul polilactic a fost testat la obtinerea mai multor tipuri de dispozitive biomedicale, dar el nu poseda activitate antibacteriana intrinseca. Pentru a depasi aceasta limitare, s-a acordat foarte multa atentie utilizarii agentilor antibacterieni care au ca rol protejarea impotriva infectiilor, asigurarea unui mediu propice vindecarii si regenerarii celulelor sau a tesuturilor. Adeziunea bacteriana are loc datorita aderarii bacteriilor la suprafata implanturilor si a biomaterialelor urmata de colonizarea acestora si, in final, de formarea biofilmului bacterian care duce la aparitia infectiilor. Astfel, impiedicarea formarii biofilmului bacterian reprezinta o mare provocare atat pentru cercetatorii din domeniul medical cat si pentru cei din domeniul stiintei

materialelor. Adeziunea bacteriana este determinata de proprietatile de suprafata ale implantului/dispozitivului medical astfel incat imbunatatirea acestor proprietati reprezinta un efort continuu.

Datorita biocompatibilitatii si biodegradabilitatii sale, PLA este considerat un candidat important pentru aplicatii biomedicale precum ingineria tisulara, sisteme de eliberare controlata, acoperiri sau diverse implanturi medicale, in industria farmaceutica sau alimentara. Mai mult decat atat, produsele de degradare ale PLA, H₂O și CO₂ nu sunt toxice si nici cancerigene pentru corpul uman conform referintei Xiao et al. 2012 (Biomed Sci, Eng Technol, InTech).

In brevetul **US 8802127 (2014)** „Risperidone-containing PLA:PGA implants and methods of use thereof”, se prezinta implanturi formate din acid polilactic (PLA) si optional acid poliglicolic (PGA), care contin un medicament terapeutic si metode de mentinere a unui nivel terapeutic al medicamentului intr-un subiect, eliberarea medicamentului terapeutic cu o viteza liniara, si tratarea schizofreniei si a altor boli si tulburari.

In brevetele **US 9439905 (2016)** si **US 9895447 (2018)** „Risperidone-containing implants and methods of use thereof” se descrie o compozitie pentru un sistem cu eliberare controlata, implantabil subcutanat sau intramuscular pentru tratarea unor boli psihice, in care matricea polimerica este formata din acid polilactic si optional, acid poliglicolic, in raport de 50:50 iar risperidona sau 9-OH risperidona, medicamentul terapeutic, se regaseste in concentratie cuprinsa intre 10% si 60% fata de masa totala a compozitului. Compozitia mentionata este capabila sa atinga concentratia maxima de eliberare a medicamentului in aproximativ 20 de zile pana la aproximativ 190 de zile si sa elibereze medicamentul urmand o viteza liniara. Ingredientul terapeutic activ este utilizat alaturi de alti aditivi si excipienti utilizati in domeniul farmaceutic. Polimerii PLA si PGA sunt amestecati mecanic cu haloperidolul in proportie masica de 60/40 si apoi cu acetona obtinandu-se un film prin depunerea din solutie. Filmul este apoi presat sub forma de discuri de 20 mm si grosimea de 1,22 mm care se folosesc ca si implanturi. De asemenea implanturile se pot obtine sub forma de cilindri utilizand amestecarea sau extruderea din topitura. Totusi, prezenta medicamentului afecteaza rata de degradare a polimerului prin difuzia apei in matricea polimerica ceea ce poate pune in pericol sanatatea pacientului, mai ales daca vorbim de implanturi intramusculare.

In brevetul **EP2101572 B1 (2008)**, „Biocompatible antimicrobial compositions”, sunt descrise compozitii antimicrobiene care contin un poliester alifatic termoplastic, in care poliesterul alifatic este selectat din grupul format din acid polilactic, acid poliglicolic, copolimeri

ai acidului polilactic si poliglicolic, poli (3-hidroxiubutirat), amestecuri si copolimeri ai acestora; o componenta antibacteriana, selectata din grupul constand din: compusi aminici cationici; esterii ai acizilor grasi saturati (C7 - C22) ai unui alcool polihidric, esterii ai acizilor grasi nesaturati (C8 - C22) ai unui alcool polihidric, eterii ai acizilor grasi saturati (C7 - C22) ai unui alcool polihidric, eterii ai acizilor grasi nesaturati (C8 - C22) ai un alcool polihidric, esterii hidroxiacizi (C2 - C8) ai alcoolilor (C7 - C22), derivati alcoxilati sau combinatii ale acestora, in care componenta antimicrobiana este prezenta intr-o cantitate mai mare de 1% din greutatea poliesterului alifatic, un potentiator selectat din grupul format din alfa-hidroxiacizi, beta-hidroxiacizi, agenti de chelare, acizi carboxilici saturati sau nesaturati de tip alchil (C2 - C6), acizii carboxilici de tip aril (C6 - C16), compusi fenolici, alcooli alchilici (C1 - C10), eter glicoli, oligomeri care se degradeaza pentru a elibera unul dintre agentii amelioratori mentionati si amestecuri ale acestora intr-o cantitate mai mare de 0,1% din greutatea poliesterului alifatic. Intr-unul dintre exemple PLA sub forma de granule este amestecat intr-un malaxor Brabender impreuna cu monolauratul de propilenglicol, componentul antibacterian, si alti aditivi (acid benzoic, sare de dioctil sulfocianat) iar amestecul rezutat este apoi presat sub forma de filme. Exudarea in timp a gentilor folositi poate fi un impediment al acestei metode.

In inventia **CN104212136A (2014)**, "Polylactic acid anti-bacterial-activity packaging material and preparation method thereof", se prezinta un material pe baza de PLA cu proprietati antibacteriene destinat industriei ambalajelor. Agentii antibacterieni (2-10 parti) sunt reprezentati de uleiuri esentiale din plante si includ uleiul de cuisoare, scortisoara, fenicul, lamaie sau cimbru. PLA si politrimetilencarbonatul in raport (60-90):(40-10) sunt amestecati intr-un extruder dublu-snec impreuna cu uleiul esential dupa care are loc obtinerea filmului compozit prin procedeul suflarii din topitura. Desi materialele astfel obtinute conform inventatorilor prezinta o buna activitate antibacteriana studiile de specialitate arata faptul ca activitatea agentilor antibacterieni, in special a celor sub forma de uleiuri, poate fi reduca ca urmare a fortelor de forfecare din timpul extrudarii. Mai mult decat atat, uleiurile esentiale prezinta stabilitate termica destul de reduca si volatilitate ridicata astfel incat nu sunt indicate metodele de procesare care implica temperaturii ridicate precum extrudarea, unde temperatura de topire este de cel putin 160°C in functie de tipul de PLA. Inventia se bazeaza pe uleiuri esentiale extrase din plante care nu contin albumina sau heparina.

Albumina serica si heparina sodica pot fi considerate compusi promitatori datorita proprietatilor lor antibacteriene. Albuminele sunt un grup de proteine acide care se gasesc

abundent în fluidele corpului și în țesuturile mamiferelor și chiar în unele seminte de plante. Albuminele au mase moleculare relativ mici, sunt solubile în apă, cristalizează ușor și conțin aminoacizi.

Heparina este o polizaharidă solubilă în apă și este biosintetizată și stocată în mastocitele diferitelor țesuturi de mamifere, în special în ficat, plămân și mucoasă. Heparina comercială este în principal izolată din plămânii de vită sau din mucoasa intestinală de porc. În ultimele decenii, au fost testate și dezvoltate diverse metode de imobilizare pe suprafață a agenților antibacterieni prin reacții covalente sau necovalente, precum amestecul fizic, acoperiri de suprafață și depunere strat după strat.

Nanoceluloza - NC este unul dintre cei mai importanți și mai abundenți polimeri naturali cu un viitor promitator în medicină. Importanța NC rezultă din caracteristicile sale deosebite precum densitate scăzută, regenerabilitate, biodegradabilitate, durabilitate, factor de formă ridicat și rezistență mare la tracțiune. Mai mult decât atât, suprafața NC poate fi funcționalizată datorită prezentei grupărilor OH reactive și a suprafeței specifice mari. Astfel, nanoceluloza poate fi un substrat potrivit pentru imobilizarea diferiților agenți antimicrobieni, inclusiv a celor sub formă de proteine. Pentru ca nanoceluloza să-și poată păstra caracteristicile specifice este de dorit să se utilizeze o metodă de imobilizare directă, ieftină și simplă. Imobilizarea poate fi realizată prin diferite mecanisme, care implică legături covalente sau necovalente, afinitate biochimică și adsorbție fizică: forțe van der Waals, legături de hidrogen, interacțiuni electrostatice și hidrofobe.

În literatura de specialitate nu se regăsesc încercări de obținere a unor biocompozite polimerice pe baza de polimeri biodegradabili cu efect antibacterian în care: (i) albumina serică și heparina să fie utilizate ca și agenți antibacterieni; (ii) biocompozitele să fie realizate prin incorporarea agenților antibacterieni ca atare în matricea polimerică; (iii) biocompozitele să fie realizate prin incorporarea agenților antibacterieni grefați pe un suport de nanoceluloză în matricea polimerică. În schimb există rapoartări privind obținerea materialelor pe baza de acid polilactic și alți agenți cu efect antibacterian precum antibioticele, uleiurile esențiale, esteri ai acizilor grași, nanoparticule metalice (Ag) ș.a. Astfel, în brevetul **US 5268178 (1993)**, „Biodegradable antibiotic implants and methods of their use in treating and preventing infections” se prezintă o metodă pentru prevenirea sau tratarea infecțiilor la pacienți ca urmare a unei operații chirurgicale care constă în utilizarea de implanturi biodegradabile care conțin antibiotice. Metoda implică plasarea implantului în golul chirurgical și eliberarea prelungită a antibioticului în țesutul înconjurător. Compoziția descrisă cuprinde cel puțin un polimer

biodegradabil de tipul PLA si, de preferinta, mai multe tipuri de antibiotice, fiecare dintre acestea fiind specific unei bacterii diferite, care poate fi de asteptat sa fie prezenta la locul interventiei chirurgicale. Implanturile sunt obtinute sub forma de bile, tije, sau geluri prin amestecarea si dizolvarea PLA sub forma de pulbere in acetona sau clorura de metilen si adaugarea apoi a antibioticului/antibioticelor in solutia de PLA. Prin uscare se obtine un film subtire iar prin repetarea procedurii se formeaza un material multistrat asemanator unui sandwich. Materialul poate fi apoi taiat sau modelat in forme diferite precum tije, bile sau alte forme. Desi testele in vivo au aratat ca implanturile prezinta eficienta in eliminarea bacteriilor, modul de obtinere al acestora ridica semne de intrebare privind urmele de solventi precum si controlul eliberarii antibioticului avand in vedere metoda de obtinere.

Literatura publicata in reviste de specialitate cuprinde multiple exemple de obtinere a unor sisteme compozite cu proprietati antibacteriene pentru utilizarea in domeniul biomedical sau in cel al ambalajelor alimentare. Spre exemplu s-a raportat obtinerea prin metoda depunerii din solutie a unor filme din PLA care au fost apoi acoperite simultan prin metoda polimerizarii in plasma/tehnica pulverizarii cu filme subtiri de nanocompozite (25 nm) pe baza de nanoparticule de Ag incorporate. Tratamentele de suprafata s-au dovedit a fi eficiente impotriva bacteriilor de tip *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* si *Salmonella typhimurium* dar nu si in cazul *Staphylococcus aureus*, care se regaseste cu o frecventa alarmant de ridicata. Aceasta metoda poate conduce la degradarea suprafetei filmelor de PLA ca urmare a energiei ridicate din timpul depunerii in plasma precum si a temperaturii care nu poate fi controlata cu precizie (Turalija et al. 2016, *Composites Part B: Engineering*). S-au obtinut amestecuri din PLA si chitosan si prin tehnica electrospinning (Torres-Giner S. 2008 *Eng Life Sci*, 2011 *Antimicrobial polymers*. JohnWiley & Sons). Principalul avantaj al includerii agentului antibacterian in nanofibre este acela ca prezenta acestuia poate imbunatati proprietatile de bariera si pe cele mecanice precum si viteza de eliberare a agentului antibacterian datorita suprafetei specifice ridicate si a porilor mici. Cu toate acestea, tehnica obtinerii de fibre nu este avantajoasa din punct de vedere economic iar in unele cazuri, eliberarea controlata a agentului antibacterian poate fi impiedicata de incalcirea fibrelor. S-a studiat si efectul incorporarii directe a extractului din lamaie, timol si lizozim intr-o matrice de PLA prin metoda extruderii din topitura (Del Nobile et al. 2009, *J Food Eng*). S-a constatat ca lizozima a prezentat cea mai mare inhibare microbiana impotriva *M. lysodeikticus* comparativ cu agentii antibacterieni volatili (extractul de lamaie si timol). Acest comportament a fost atribuit rezistentei termice mai bune a lizozimei.

Scopul inventiei il constituie obtinerea unor biocompozite polimerice biodegradabile cu efect antibacterian prin procedee simple si ecologice, care sa nu implice folosirea substantelor periculoase pentru om sau mediu si care sa fie performante din punct de vedere economic prin folosirea de materii prime din resurse regenerabile.

Problemele tehnice pe care le rezolva inventia se refera la: (i) obtinerea unor materiale biocompozite folosind atat polimerul matrice, sub forma de poliesteri alifatici biodegradabili, cat si noii agenti antibacterieni, albumina si heparina, care se pot utiliza ca atare sau grefati pe un suport nanocelulozic pentru o dispersie imbunatatita si o activitate antibacteriana mai ridicata, din resurse naturale regenerabile; (ii) stabilirea parametrilor tehnologici a unor procedee de prelucrare in topitura, specifice polimerilor termoplastici, care permit obtinerea cu buna productivitate a unor forme de mare complexitate sau prin metoda depunerii din solutie; (iii) grefarea agentilor antibacterieni pe suportul de nanoceluloza fara a implica reactii chimice complexe sau utilizarea de solventi organici toxici; (iv) obtinerea unor materiale biocompozite noi, 100% regenerabile si biodegradabile, cu proprietati antibacteriene pentru domeniul biomedical sau industria ambalajelor.

Conform celor prezentate anterior, nu exista raportari privind obtinerea de biocompozite biodegradabile cu efect antibacterian in care efectul antibacterian este asigurat de agenti activi naturali de tipul proteinelor sau polizaharidelor.

Biocompozitele polimerice cu efect antibacterian sunt constituite din 85....99,5 parti poliestere alifatic biodegradabil de tipul acidului polilactic, PLA, cu grad ridicat de izomer L cuprins intre 94 si 98%, preferabil 98%, si 0,5....15 parti agenti antibacterieni de tip albumina sau heparina utilizati ca atare sau grefati pe un suport nanocelulozic.

Procedeul de obtinere a biocompozitelor conform inventiei inlatura dezavantajele mentionate anterior prin aceea ca se obtin prin: (I) metoda depunerii din solutie care implica i) introducerea a 85....99,5 parti poliestere alifatic biodegradabil de tipul acidului polilactic cu grad ridicat de izomer L cuprins intre 94 si 98%, preferabil 98%, intr-un balon cu fund plat in care peste polimer se adauga cloroform (99%) astfel incat concentratia de polimer sa fie cuprinsa intre 5 si 15 %, de preferabil 10%, sub agitare mecanica cu o turatie de $150...400 \text{ min}^{-1}$, la temperatura camerei, timp de 10...24 de ore pana la solubilizarea completa a polimerului si ii) adaugarea in solutia de poliestere alifatic a 0,5....15 parti (raportat la cantitatea de polimer) agent antibacterian de tip albumina sau heparina, care se adauga (a) ca atare sau (b) in prelabil grefat in proportie de 1/2 pana la 2/1, de preferinta 3/2 pe un suport nanocelulozic obtinut din deseuri agroindustriale

conform inventiei RO – 00749, sau din alte surse, grefarea avand loc prin omogenizarea amestecului sub agitare magnetica ($200\ldots 300\text{ min}^{-1}$, VELP Scientifica) timp de o 1h la temperatura camerei apoi ultrasonare in baia de ultrasunete (Elma) timp de o ora pentru dispersarea uniforma a agentului antibacterian, temperatura din timpul ultrasonarii fiind mentinuta sub 30°C folosind gheata, amestecul fiind apoi congelat (72 h) si liofilizat timp de 72 ore la temperatura de -84°C (FreeZone Plus 2.5 Liter Cascade Benchtop Freeze Dry System, LABCONCO), maruntit cu ajutorul unei rasnite sau a unei mori un timp cuprins intre 60s si 90s apoi imersat in proportie de 10 -20% in solventul organic folosit pentru dizolvarea polimerului si apoi iii) omogenizarea amestecurilor rezultate constand din solutie de poliester alifatic si agent antibacterian depus sau nu pe suport nanocelulozic prin agitare mecanica cu o turatie de $150\ldots 400\text{ min}^{-1}$ la temperatura camerei timp de 10...24 de ore si apoi iv) turnarea amestecului compozit in forme de silicon urmata de uscarea biocompozitelor prin evaporarea completa a solventului, rezultand astfel filme biocompozite de tip F, sau (II) prin metoda amestecarii in topitura care consta in i) uscarea la vid la temperatura de $75 - 85^{\circ}\text{C}$ timp de 4h a 85....98 parti granule matrice poliester alifatic biodegradabil de tipul acidului polilactic cu grad ridicat de izomer L cuprins intre 94 si 98%, preferabil 98%, ii) amestecarea intr-un malaxor cu rotori sigma, rotire in contrasens, cu viteza cuprinsa intre 30 si 80 min^{-1} , la o temperatura cuprinsa intre 150 si 200°C pana la topirea polimerului si apoi iii) adaugarea a 0,15....15 parti raportat la polimer de agent antibacterian de tip albumina sau heparina (a) ca atare sau (b) in prelabil grefat in proportie de 1/2 pana la 2/1, de preferinta 3/2 pe un suport nanocelulozic si amestarea in continuare astfel incat timpul total in malaxor sa fie de 10....15 min, si apoi iv) profilarea pe valt in foaie, rezultand materialul biocompozit de tip C.

Procedeele de obtinere conform inventiei permit incorporarea albuminei si heparinei sub forma grefata pe un substrat de nanoceluloza in matricea polimerica de PLA atat prin metoda depunerii din solutie cat si prin metoda amestecarii in topitura in functie de aplicatia avuta in vedere.

In plus, procedeele de compoundare in topitura sunt extrem de avantajoase ca productivitate, impact asupra mediului si posibilitatii largi de obtinere de forme extrem de complexe cu timp de prelucrare foarte scurt. Mai mult decat atat, metoda amestecarii in topitura permite dispersia omogena a agentului antimicrobian in regiunile amorfe ale matricei polimerice si poate regla eliberarea lenta a acestuia din film. In plus, la terminarea duratei lor de viata,

biocompozitele din acid polilactic si agenti antibacterieni nu sunt nocive mediului deoarece, asa cum s-a specificat, sunt constituite din materiale 100% biodegradabile.

Biocompozitele biodegradabile din acid polilactic si agenti antibacterieni pot fi utilizate in multe domenii deoarece sunt 100% biodegradabile si biocompatibile fiind utile atat in domeniul biomedical cat si in alte domenii ca de exemplu cel al ambalajelor alimentare sau cosmetice.

Avantajele inventiei

Inventia prezinta urmatoarele avantaje:

- eliminarea consumului de materii prime derivate din prelucrarea petrolului, prin utilizarea atat a matricei polimerice cat si a agentilor antibacterieni din resurse regenerabile;
- evitarea obtinerii de produse secundare si deseuri, care pun probleme de separare, recuperare sau distrugere;
- utilizarea nanofibrelor de celuloza ca si substrat pentru grefarea agentilor antibacterieni constituie un avantaj important deoarece nanoceluloza creste activitatea agentilor antibacterieni in matricea de PLA. Acest lucru se explica prin faptul ca nanoceluloza ajuta la migrarea agentului antibacterian catre suprafata filmului. Nanoceluloza are un caracter puternic hidrofil si ca atare imbunatateste si hidrofilicitatea PLA si astfel, mai multe molecule de apa pot fi adsorbite pe suprafata compozitului, facilitand astfel migrarea agentului antimicrobian la suprafata filmului;
- biocompozitele cu efect antibacterian obtinute prezinta o buna stabilitate termica, comparativa cu cea a matricei de PLA;
- biocompozitele polimerice cu efect antibacterian obtinute sunt 100% biodegradabile si mai putin costisitoare in comparatie cu, spre exemplu, compozite uzuale pe baza de polimetilmetacrilat si antibiotice.

Biocompozitele polimerice cu proprietati antibacteriene obtinute conform inventiei au fost caracterizate prin:

- analiza termo-gravimetrica pentru evaluarea stabilitatii termice si a puritatii folosind un instrument TGA (TA Instruments, SUA) in atmosfera inerta cu o viteza de incalzire de 10 °C/min de la temperatura camerei la 700 °C;
- analiza spectroscopica in infrarosu (FTIR) in modul ATR (reflexie total atenuata) prin efectuarea a 32 de scanari in intervalul de 4000 cm^{-1} - 400 cm^{-1} utilizand un spectrometru de tip JASCO 6300 echipat cu un ATR Specac Golden Gate (obiectiv KRS5);

- teste antibacterine specifice, metoda disc difuziei si metoda dilutiilor in bullion, pentru *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 si *Escherichia coli* ATCC 35218.

Se dau in continuare exemple de realizare a inventiei.

Exemplul 1

Intr-un balon cu fund plat de 500 ml se introduc 24,5 g de poliester alifatic biodegradabil de tipul acidului polilactic cu 98% izomer L, sub forma de granule, peste care se adauga o cantitate de 225,5 g de cloroform (99%), sub agitare mecanica la 200 min^{-1} , timp de 20 de ore, la temperatura camerei dupa care se introduce o cantitate de 0,5 g albumina serica (BSA, 96%), sub agitare mecanica la 200 min^{-1} la temperatura camerei timp de 24 de ore utilizand un agitator de tip VELP Scientifica pana la omogenizarea amestecului care este apoi turnat in forme de silicon si lasat la temperatura camerei pentru evaporarea completa a solventului, la final rezultand 25 g filme biocompozite formate din acid polilactic si agent antimicrobian de tip proteina naturala (F1). Acestea au prezentat o stabilitate termica caracterizata prin temperatura de descompunere de 352°C , ceea ce demonstreaza mentinerea stabilitatii termice dupa incorporare agentului antimicrobian (Tabelul 1).

Exemplul 2

Se lucreaza ca la exemplul 1 cu deosebirea ca omogenizarea albuminei serice in solutia de acid polilactic a avut loc folosind o turatie de 400 min^{-1} timp de 16 de ore. Stabilitatea termica a biocompozitului nu a suferit modificari.

Exemplul 3

Se lucreaza ca la exemplul 1 cu deosebirea ca in solutia de acid polilactic se introduce o cantitate de 5 g albumina serica.

Exemplul 4

Se lucreaza ca la exemplul 1 cu deosebirea ca se inlocuieste albumina serica cu heparina sodica rezultand astfel filme biocompozite de tip F2. S-a obtinut o temperatura de descompunere de 360°C (Tabelul 1).

Exemplul 5

Se lucreaza ca la exemplul 1 cu deosebirea ca se folosesc 0,5 g de albumina serica grefata pe suport de nanoceluloza care se marunteste mecanic intr-o rasnita un timp de 60 s, se imerseaza in 10 ml cloroform si se introduce apoi in solutia de polimer sub agitare mecanica la 280 min^{-1} dupa care se reiau pasii de la exemplul 1 rezultand filme biocompozite de tip F3.

Analiza FTIR a confirmat eficienta grefarii agentului antimicrobian pe suportul de nanoceluloza (Fig. 1). S-a obtinut o temperatura de descompunere de 351 °C (Tabelul 1).

Exemplul 6

Se lucreaza ca la exemplul 5 cu deosebirea ca se folosesc 0,5 g de heparina sodica grefata pe suport de nanoceluloza rezultand filme biocompozite de tip F4. S-a obtinut o temperatura de descompunere de 370 °C (Tabelul 1).

Exemplul 7

O cantitate de 24,5 g granule de acid polilactic cu 98% izomer L, este uscata in prealabil in etuva sub vid la temperatura de 80°C timp de 4 h, se introduce in camera de malaxare a plastografului Brabender la temperatura de 170°C, se amesteca timp de 7 minute cu o viteza a rotorilor de 50 min⁻¹ pana la topirea completa a granulelor de PLA dupa care se incorporeaza o cantitatea de 0,5g albumina serica si se amesteca inca 3 minute pentru omogenizarea completa a materialului, amestecul rezultat se profileaza pe valt rezultand un biocompozit de tip C1. Compozitul realizat a prezentat o temperatura de descompunere de 363 °C, deci o stabilitate termica comparabila cu cea a referintei de PLA (365°C) (Tabelul 1).

Exemplul 8

Se lucreaza ca la exemplul 7 cu deosebirea ca se adauga o cantitatea de 5g albumina serica la amestecare in cuva de malaxare. Compozitul realizat a prezentat o temperatura de descompunere de 360 °C.

Exemplul 9

Se lucreaza ca la exemplul 7 cu deosebirea ca se inlocuieste albumina serica cu heparina sodica rezultand astfel biocompozite de tip C2. Compozitul realizat a prezentat o temperatura de descompunere de 366 °C (Tabelul 1).

Exemplul 10

Se lucreaza ca la exemplul 7 cu deosebirea ca se folosesc 0,5 g de albumina serica grefata pe suport de nanoceluloza care se marunteste mecanic intr-o rasnita un timp de 60 s, si se introduce apoi in topitura de polimer dupa care se reiau pasii de la exemplul 7 rezultand biocompozite de tip C3. Compozitul realizat a prezentat o temperatura de descompunere de 355 °C (Tabelul 1).

Exemplul 11

Se lucreaza ca la exemplul 10 cu deosebirea ca se folosesc 0,5 g de heparina sodica grefata pe suport de nanoceluloza rezultand biocompozite de tip C4. Compozitul realizat a

prezentat o temperatura de descompunere de 366 °C (Tabelul 1). Biocompozitele obtinute au prezentat o reducere a coloniilor de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 si *Escherichia coli* ATCC 35218 (Tabelul 2) asa cum a reiesit din rezultatele testelor specifice, *metoda disc difuziei* si *metoda dilutiilor in bullion* (metoda numararii coloniilor).

Tabelul 1 Rezultatele obtinute in urma efectuării analizei termogravimetrice (TGA)

Proba	Temperatura de degradare maxima (°C)
PLA-martor seria C	365
PLA-martor seria F	342
F1	352
F2	360
F3	351
F4	370
C1	363
C2	366
C3	355
C4	366

Tabelul 2 Rezultatele obtinute in urma efectuării testului antibacterian prin metoda dilutiilor in bulion

Proba	Parametru masurat	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
PLA-martor	Nr. initial de colonii (dilutie 10^{-3})	84.33	42.00
	% reducere	-	-
C1	Nr. initial de colonii (dilutie 10^{-3})	80.66	36.66
	% reducere	4.35	12.71
C3	Nr. initial de colonii (dilutie 10^{-3})	76.66	37.33
	% reducere	9.09	11.11
C2	Nr. initial de colonii (dilutie 10^{-3})	81.00	37.33
	% reducere	3.94	11.11
C4	Nr. initial de colonii (dilutie 10^{-3})	72.33	35.66
	% reducere	14.22	15.09

BIOCOMPOZITE POLIMERICE CU EFECT ANTIBACTERIAN PENTRU APLICATII BIOMEDICALE

Revendicari

1. Biocompozite polimerice cu caracter antibacterian **caracterizate prin aceea ca** sunt constituite din 85....99,5 parti poliestere alifatic biodegradabil de tipul acidului polilactic cu grad ridicat de izomer L cuprins intre 94 si 98%, preferabil 98%, astfel incat concentratia de polimer sa fie cuprinsa intre 5 si 15 %, de preferabil 10%, si 0,5....15 parti agent antibacterian de tip albumina sau heparina.
2. Biocompozite polimerice cu caracter antibacterian **caracterizate prin aceea ca** sunt constituite din 85....99,5 parti poliestere alifatic biodegradabil de tipul acidului polilactic cu grad ridicat de izomer L cuprins intre 94 si 98%, preferabil 98%, astfel incat concentratia de polimer sa fie cuprinsa intre 5 si 15 %, de preferabil 10%, si 0,5....15 parti agent antibacterian de tip albumina sau heparina in prelabil grefat in proportie de 1/2 pana la 2/1, de preferinta 3/2 pe un suport nanocelulozic.
3. Procedeu de obtinere a biocompozitelor polimerice cu caracter antibacterian conform revendicarii 1, **caracterizat prin aceea ca** biocompozitele polimerice se obtin din 85....98 parti granule matrice poliestere alifatic biodegradabil de tipul acidului polilactic cu grad ridicat de izomer L cuprins intre 94 si 98%, preferabil 98% care se usuca sub vid la temperatura de 75 -85 °C timp de 4h, se introduc intr-un malaxor dotat cu rotor sigma, cu rotire in contrasens, cu viteza cuprinsa intre 30 si 80 min⁻¹ la o temperatura cuprinsa intre 150 si 200 °C pana la topirea polimerului si se adauga 0,15....15 parti agent antibacterian de tip albumina sau heparina (a) ca atare sau (b) in prelabil grefat in proportie de 1/2 pana la 2/1, de preferinta 3/2 pe un suport nanocelulozic, se amesteca un timp total de 10....15 min in malaxor si se profileaza pe val in foaie, rezultand materialul biocompozit.
4. Procedeu de obtinere a biocompozitelor polimerice cu caracter antibacterian conform revendicarii 1, **caracterizat prin aceea ca** biocompozitele polimerice se obtin prin introducerea a 85....99,5 parti poliestere alifatic biodegradabil de tipul acidului polilactic cu grad ridicat de izomer L cuprins intre 94 si 98%, preferabil 98%, intr-un balon cu fund rotund in care peste polimer se adauga cloroform (99%) astfel incat concentratia de polimer sa fie cuprinsa intre 5 si

15 %, de preferabil 10%, se supune apoi agitarii mecanice la o turatie de $150...400 \text{ min}^{-1}$, la temperatura camerei, timp de 10...24 de ore pana la solubilizarea completa a polimerului urmat de adaugarea in solutia de poliesther alifatic a 0,5....15 parti (raportat la cantitatea de polimer) agent antibacterian de tip albumina sau heparina, care se adauga (a) ca atare sau (b) in prelabil grefat in proportie de 1/2 pana la 2/1, de preferinta 3/2 pe un suport nanocelulozic, omogenizarea amestecurilor rezultate constand din solutie de poliesther alifatic si agent antibacterian depus sau nu pe suport nanocelulozic prin agitare mecanica cu o turatie de $150...400 \text{ min}^{-1}$ la temperatura camerei timp de 10...24 de ore, si apoi amestecul compozit se toarna in forme de silicon si se supune operatiei de uscare pana la evaporarea completa a solventului, rezultand astfel filme biocompozite.

5. Procedeu de grefare a albuminei serice si heparinei sodice pentru obtinerea biocompozitelor polimerice cu caracter antibacterian conform revendicarii 2, **caracterizat prin aceea** ca se introduce intr-un vas o cantitate de 50 g suspensie de nanoceluloza, obtinuta din deseuri agroindustriale sau din alte surse, de concentratie 0,65%, impreuna cu 0,5...15 parti de agent antibacterian de tip albumina sau heparina astfel incat raportul dintre agentul antibacterian si suspensia de nanoceluloza sa fie de 1/2 pana la 2/1, de preferinta 3/2, amestecul rezultat se omogenizeaza sub agitare magnetica cu o turatie de $200...300 \text{ min}^{-1}$, timp de o 1h la temperatura camerei, apoi se ultrasoneaza intr-o baie de ultrasunete timp de o 1h pentru dispersarea uniforma a agentului antibacterian, temperatura din timpul ultrasonarii fiind mentinuta sub 30°C folosind gheata, amestecul rezultat se congeleaza timp de 72 h, se liofilizeaza timp de 72 h la temperatura de -84°C si se marunteste cu ajutorul unei rasnite sau a unei mori un timp cuprins intre 60s si 90s, rezultand astfel nanoceluloza grefata cu agent antibacterian.

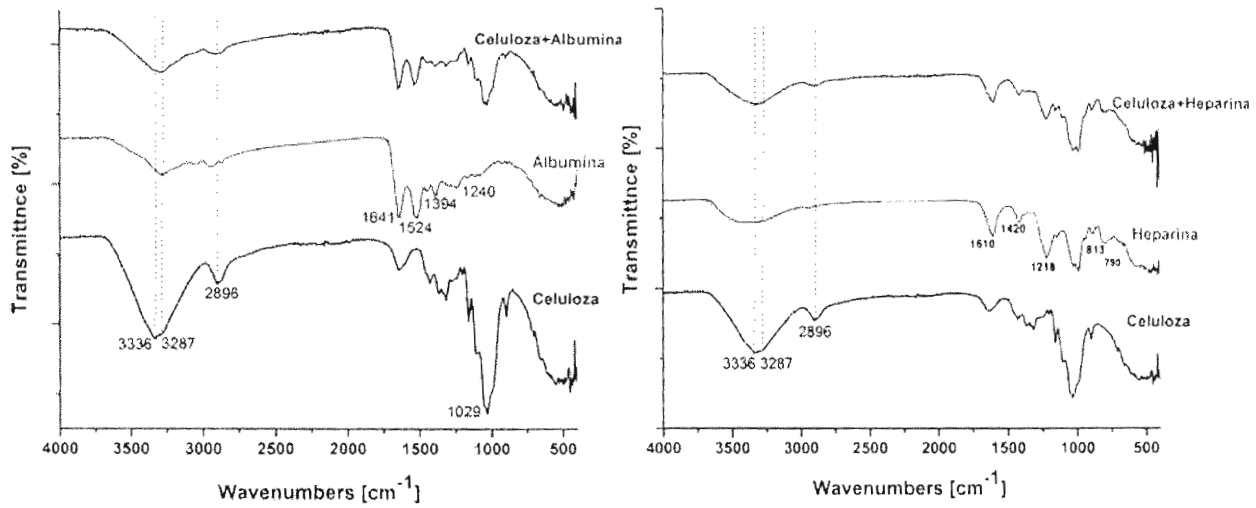


Fig. 1 Spectrele FTIR apartinand celulozei, agentilor antibacterieni si a celulozei grefate cu cei doi agenti antibacterieni obtinute ca la exemplul Exemplul 5