



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2014 00263**

(22) Data de depozit: **04/04/2014**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/06/2021** BOPI nr. **6/2021**

(41) Data publicării cererii:
27/11/2015 BOPI nr. **11/2015**

(73) Titular:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE
DEZVOLTARE PENTRU TEHNOLOGII
IZOTOPICE ȘI MOLECULARE,
STR. DONATH NR. 65-103, CLUJ-NAPOCA,
CJ, RO**

(72) Inventatori:
• **OLENIC LILIANA, STR. FÂNTÂNELE NR. 7,
BL.A, SC.2, AP.42, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**

• **VULCU ADRIANA,
STR. ION POPOVICI BĂNĂȚEANU NR. 6,
SIBIU, SB, RO;**
• **GROSAN ANA-CAMELIA, ALEEA PADIN
NR. 9-13, AP. 5, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **DREVE SIMINA, STR. FAGULUI NR. 74,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
WO 2011/118908 A2; KR 100986262 B

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A UNOR MATERIALE PE BAZĂ
DE NANOPARTICULE DE ARGINT ȘI ANTOCIANI OBTINUȚI
DIN EXTRACTE NATURALE**



RO 130666 B1

1 Invenția se referă la materiale noi pe bază de nanoparticule de argint și antociani
obținuți din extractele naturale ale fructelor din familia *Adoxaceae* (calin și soc) respectiv din
3 familia *Cornaceae* (coarne și sânger), preparate cu scopul de a fi utilizate în afecțiuni
inflamatorii cutanate precum și la metoda de obținere a acestora.

5 În tehnologiile moderne materialele nanostructurate sunt folosite pe scară largă în
diferite domenii de activitate, printre care în medicină și biochimie. Nanoparticulele de argint
7 (AgNPs) sunt utilizate datorită proprietăților lor optice, electronice, magnetice și chimice
deosebite. Nanoparticulele metalice sunt stabile doar în prezența unor molecule care acțio-
9 nează ca liganzi și care prin încărcarea lor electrică permite stabilizarea soluției coloidale.

Se cunosc cercetări brevetate privind obținerea de nanomateriale atât în țară cât și
11 în străinătate, cu largi utilizări, în mod special în medicina (Yuning Li et al, "**Stabilized
silver nanoparticles and their use**". Patent number: 7270694, Sep 18,2007; Venugopal
13 Santhanam et al, "**Methods for preparing metal and metal oxide Nanoparticles**",
V. Santhanam, S.K. Sivaraman, US Patent App. 12/550, 210 2009/8/28).

15 Prin controlul parametrilor de reacție (temperatura, concentrația, timpul de reacție,
raportul reactanților, pH-ul optim) se pot obține nanoparticule cu forme și mărimi prestabilite.

17 Metoda reducerii sărurilor metalice (A. Sileikaite, J. Puiso, I. Prosycevas,
S. Tamulevicius, "**Investigation of Silver Nanoparticles Formation Kinetics During
19 Reduction of Silver Nitrate with Sodium Citrate**", Materials Science (Medziagotyra),
2009, 15, 1, 21-27; N. Shirtcliffe, U. Nickel, S. Schneider, "**Reproducible Preparation of
21 Silver Sols with Small Partide Size Using Borohydride Reduction: for Use as Nuclei for
Preparation of Larger Particles**", Journal of Colloid and Interface Science 1999, 211 (I),
23 122-129) este cea mai des întâlnită metoda de preparare a nanoparticulelor de argint. În
general toate nanomaterialele, pentru a fi utilizate în medicină trebuie să se încadreze în
25 normele de eco-toxicologie pentru organismul uman și mediul înconjurător. Pentru obținerea
unor astfel de materiale în literatura de specialitate sunt prezentate metode de reducere a
27 ionului metalic dorit (în acest caz argintul) prin utilizarea unor extracte de plante (S. P.
Dubey, M. Lahtinen și M. Sillanpaa, "**Tansy fruit mediated greener synthesis of silver
29 and gold nanoparticles**", Process Biochemistry, 2010, 45, 1065-1071; V. Kumar și S.
Kumar Yadav, "**Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their
31 applications**", J. Chem. Technol. Biotechnol., 2009, 84, 151-157). Dintre substanțele
organice din fructe, antocianii pot fi extrași și folosiți ca reducători în reacția cu o soluție de
33 AgNO₃, obținându-se ca produși de reacție nanoparticule de argint.

În documentul **WO 2011/118908 A2** se descrie un agent de acoperire funcțional care
35 conține polifenoli extrași natural și constituenți cum ar fi nano cupru (Cu), nano-argint (Ag),
nano-zinc (Zn), nano-platină (Pt) și aur (Au). În consecință, este asigurat un agent de
37 acoperire funcțional având o eficacitate antibacteriană, antifungică și antivirală ridicată, prin
combinarea polifenolului extras natural cu un nanometal;

39 **KR 100986262 B** se referă la un produs acoperit utilizând nano metale și polifenol
pentru a îmbunătăți eficiența proprietății antibiotice prin acoperirea fiecărui substrat cu
41 agentul de acoperire.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în dezvoltarea unui procedeu de obținere
43 a unor materiale pe bază de nanoparticule de argint și antociani din extracte naturale.

Procedeu conform invenției înlătură dezavantajele de mai sus prin aceea că în
45 100 ml apă distilată adusă la febre la care s-au adăugat 6,9 ml soluție de antociani de
concentrația de 30 x 10⁻³ mM extrași din fructe de călin, soc, coarne, sanger și aduse la pH
47 7,5 pentru calin și coarne, respectiv pH 9,2 pentru soc și sanger și sub agitare puternică, se

RO 130666 B1

adaugă 2,75 ml soluție apoasă de AgNO_3 de concentrație 1%, amestecul se fierbe cu agitare continuă 3 min după care se răcește tot sub agitare continuă, produsul se centrifughează și se redispersează în apă distilată în funcție de concentrația dorită obținându-se nanoparticule cu dimensiuni medii ale diametrelor între 9...24 nm sub forma unei soluții coloidale având culori de la galben deschis la galben închis.

Prin aplicarea invenției se obțin următoarele avantaje:

- proprietățile lor antioxidante, antiinflamatorii și imunomodulatoare ale polifenolilor sunt potențate de cele oferite de nanoparticulele de argint, permițând utilizarea lor pentru leziunile dermatologice datorate unor boli inflamatorii;

- se pot utiliza în alte domenii diferite de medicină, de exemplu în domeniul energiei neconvenționale la obținerea senzorilor pentru celule fotovoltaice;

- prețuri de cost mici, aceste materiale se pot folosi la obținerea unor creme utilizate în medicină în terapia leziunilor cutanate provocate de boli inflamatorii ca de exemplu psoriazisul;

- crește esențial calitatea terapiei noninvazive, utilizând medicamente noi (creme cu nanoparticule de argint) în afecțiuni inflamatorii cutanate.

Se dă în continuare un exemplu de realizare a invenției în legătură și cu fig. 1...3 care reprezintă:

- fig. 1, reprezintă caracterizarea materialelor obținute prin spectroscopie UV-Vis;

- fig. 2, reprezintă caracterizarea materialelor obținute prin microscopie electronică de transmisie (TEM);

- fig. 3, reprezintă caracterizarea materialelor obținute prin observarea culorilor materialelor pe bază de nanoparticule de argint și extracte naturale (coarne și sânge).

Metoda de obținere a materialelor este prezentată mai jos.

Exemplul 1

Se prepară 100 ml soluție care conține 1 g AgNO_3 pur, dizolvat și adus la semn într-un balon cotat de 100 ml. Extractul natural este preparat conform procedurii descris în literatură (**Bianca Moldovan, Luminița David, Cristian Chisbora and Claudia Cimpoiu, "Degradation Kinetics of Anthocyanins, from European Cranberrybush (*Viburnum opulus L.*) Fruit Extracts. Effects of Temperature, pH and Storage Solvent", *Molecules* 2012, 17, 11655-11666**).

Este important ca extracția antocianilor să se facă în apă bidistilată și la temperatura camerei. Concentrația antocianului se determină prin metoda diferențială de pH [**Jungmin Lee, Robert W. Durst and Ronald E. Wrolstad, "Determination of total monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, natural colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study", *J. of AOAC International*, 2005, 88, (5), 1269-1278**]. Cu extractul astfel obținut se prepară o soluție de concentrație 30×10^{-3} mM în antociani.

În scopul realizării materialelor pe bază de nanoparticule de argint 100 ml apă bidistilată s-a adus la fierbere într-un Erlenmayer și s-au adăugat 6,90 ml extract cu concentrația de 30×10^{-3} mM adus înainte la pH-ul optim (7,5 în cazul calinului și coarnelor și 9,2 în cazul socului și sângeului). Soluția se agită și se adaugă foarte repede 2,75 ml soluție apoasă de AgNO_3 1% sub agitare continuă. După adăugarea azotatului de argint (la fierbere) reacția de biosinteză începe în câteva minute și are loc schimbarea de culoare de la galben la galben închis în funcție de extractul folosit.

RO 130666 B1

1 Soluția se fierbe 3 min după care se răcește sub agitare continuă. Soluția coloidală
obținută se păstrează la temperatura de 0-4°C. Pentru utilizare soluțiile de materiale se
3 centrifughează și se redispersează în apă bidistilată în funcție de concentrația dorită. Nano-
materialele sunt stabile timp de 30 zile de la preparare.

5 Materialele obținute au fost caracterizate prin microscopie electronică de transmisie
(TEM), difracție de raze X (RX), spectroscopie de energie dispersivă de raze X (EDX),
7 metode optice (spectroscopie UV-Vis, FT-IR), calorimetrie cu scanare diferențială (DSC).

9 Obținerea nanomaterialelor este dovedită prin spectrele de absorbție UV-Vis (se
observă picuri distincte la aproximativ 401 nm respectiv 436 nm în funcție de antocian) și
prin microscopie electronică de transmisie (TEM) conform fig. 1 și 2. Analizele FTIR și DSC
11 demonstrează legarea moleculelor organice de nanoparticulele metalice.

13 Folosirea în medicină a nanoparticulelor de argint, fără un control al citotoxicității
acestora *in vitro* poate să aducă riscuri pentru pacient. Este important controlul dimensiunilor
nanoparticulelor și determinarea exactă a limitei de toxicitate.

RO 130666 B1

Revendicări

- | | |
|--|----|
| | 1 |
| 1. Procedeu de obținere a unor materiale pe bază de nanoparticule de argint și antociani din extracte naturale, caracterizat prin aceea că , în 100 ml apă distilată adusă la fierbere la care s-au adăugat 6,9 ml soluție de antociani de concentrația de 30×10^{-3} mM | 3 |
| extrași din fructe de călin, soc, coarne, sanger și aduse la pH 7,5 pentru calin și coarne, respectiv pH 9,2 pentru soc și sanger și sub agitare puternică, se adaugă 2,75 ml soluție apoasă de AgNO ₃ de concentrație 1%, amestecul se fierbe cu agitare continuă 3 min după | 5 |
| care se răcește tot sub agitare continuă, produsul se centrifughează și se redispersează în | 7 |
| apă distilată în funcție de concentrația dorită obținându-se nanoparticule cu dimensiuni medii ale diametrelor între 9...24 nm sub forma unei soluții coloidale având culori de la galben deschis la galben închis. | 9 |
| 2. Materiale pe bază de nanoparticule de argint și antociani din extracte naturale | 11 |
| obținute prin procedeul de obținere definit în revendicarea 1. | 13 |

(51) Int.Cl.

A61K 33/38 (2006.01),

A61P 17/06 (2006.01)

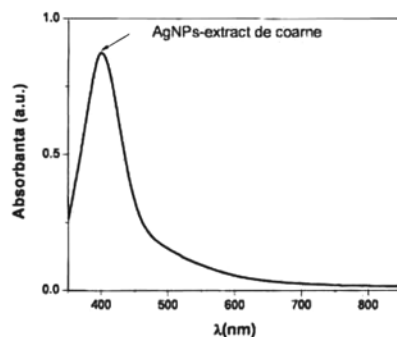


Fig. 1

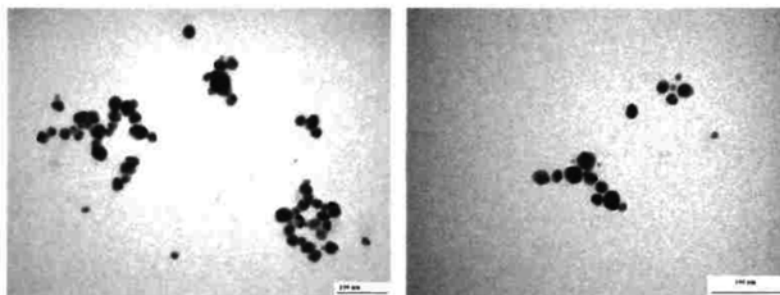


Fig. 2

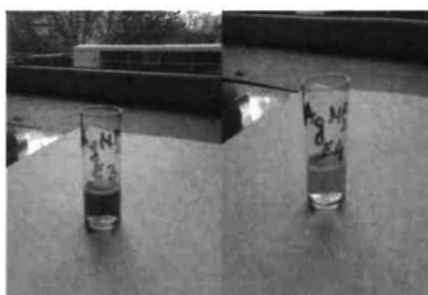


Fig. 3



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 249/2021