



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

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

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

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

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

(72) Inventatori:  
• **OLENIC LILIANA, STR. FĂNTÂNELE 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**

(54) **MATERIALE NOI PE BAZĂ DE NANOPARTICULE DE  
ARGINT ȘI ANTOCIANI OBȚINUȚI DIN EXTRACTE  
NATURALE, PENTRU APLICAȚII ÎN MEDICINĂ**

(57) Rezumat:

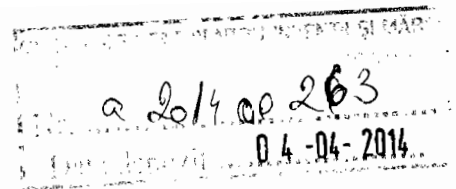
Invenția se referă la un material utilizat în afecțiuni inflamatorii cutanate, pe bază de nanoparticule de argint și antociani, și la un procedeu de obținere a acestuia. Materialul conform invenției este sub formă de soluție coloidală, având o compoziție formată din nanoparticule de argint complexate cu liganzi-antociani extrași din fructe de călin, soc, coarne sau sanger, având dimensiunile medii ale particulelor de 9...24 nm, în proporție de 68...70%. Procedeu conform invenției

constă în amestecarea, sub agitare continuă, a unei soluții de antociani la temperatura de fierbere, cu o soluție apoasă de azotat de argint, soluția coloidală este supusă centrifugării și spălării, din care rezultă un solid care se redispersează cu apă bidistilată, până la concentrația dorită pentru utilizare.

Revendicări: 2  
Figuri: 3



## DESCRIEREA INVENTIEI



### MATERIALE NOI PE BAZA DE NANOPARTICULE DE ARGINT SI ANTOCIANI OBTINUTI DIN EXTRACTE NATURALE CU APLICATII IN MEDICINA

**Inventia se refera la** materiale noi pe baza de nanoparticule de argint si antociani obtinuti din extractele naturale ale fructelor din familia *Adoxaceae* (calin si soc) respectiv din familia *Cornaceae* (coarne si sanger), preparate cu scopul de a fi utilizate in afectiuni inflamatorii cutanate precum si la metoda de obtinere a acestora.

In tehnologiile moderne materialele nanostructurate sunt folosite pe scara larga in diferite domenii de activitate, printre care in medicina si biochimie. Nanoparticulele de argint (AgNPs) sunt utilizate datorita proprietatilor lor optice, electronice, magnetice si chimice deosebite. Nanoparticulele metalice sunt stabile doar in prezenta unor molecule care actioneaza ca liganzi si care prin incarcarea lor electrica permite stabilizarea solutiei coloidale.

Se cunosc cercetari brevetate privind obtinerea de nanomateriale atat **in tara cat si in strainatate**, cu largi utilizari, in mod special in medicina<sup>1,2</sup>

Prin controlul parametrilor de reactie (temperatura, concentratia, timpul de reactie, raportul reactantilor, pH-ul optim) se pot obtine nanoparticule cu forme si marimi prestabilite.

Metoda reducerii sarurilor metalice<sup>3,4</sup> este cea mai des intalnita metoda de preparare a nanoparticulelor de argint. In general toate nanomaterialele, pentru a fi utilizate in medicina trebuie sa se incadreze in normele de eco-toxicologie pentru organismul uman si mediul inconjurator. Pentru obtinerea unor astfel de materiale in literatura de specialitate sunt prezentate metode de reducere a ionului metalic dorit (in acest caz argintul) prin utilizarea unor extracte de plante<sup>5,6</sup>. Dintre substantele organice din fructe, antocianii pot fi extrasi si folositi ca reductori in reactia cu o solutie de  $\text{AgNO}_3$ , obtinandu-se ca produci de reactie nanoparticule de argint.

**Se da in continuare un exemplu de realizare a inventiei** in legatura si cu figurile 1, 2 si 3 care reprezinta caracterizarea materialelor obtinute prin analiza instrumentala: spectroscopie UV-Vis si, respectiv, microscopie electronica de transmisie (TEM) si prin observarea culorile solutiilor nanoparticulelor de argint.

**Metoda de obtinere** a materialelor este prezentata mai jos:

Se prepara 100 ml solutie care contine 1 g  $\text{AgNO}_3$  pur, dizolvat si adus la semn intr-un balon cotat de 100 ml. Extractul natural este preparat conform procedeului descris in literatura<sup>7</sup>.



Este important ca extractia antocianilor sa se faca in apa bidistilata si la temperatura camerei. Concentratia antocianului se determina prin metoda diferentiala de pH<sup>8</sup>. Cu extractul astfel obtinut se prepara o solutie de concentratie  $30 \times 10^{-3}$  mM in antociani.

**In scopul realizarii** materialelor pe baza de nanoparticule de argint 100 ml apa bidistilata s-a adus la fierbere intr-un Erlenmayer si s-au adaugat 6,90 ml extract cu concentratia de  $30 \times 10^{-3}$  mM adus inainte la pH-ul optim (7,5 in cazul calinului si coarnelor si 9,2 in cazul socului si sangerului). Solutia se agita si se adauga foarte repede 2,75 ml solutie apoasa de AgNO<sub>3</sub> 1% sub agitare continua. Dupa adaugarea azotatului de argint (la fierbere) reactia de biosinteza incepe in cateva minute si are loc schimbarea de culoare de la galben la galben inchis in functie de extractul folosit.

Solutia se fierbe 3 minute dupa care se raceste sub agitare continua. Solutia coloidala obtinuta se pastreaza la temperatura de 0-4<sup>0</sup>C. Pentru utilizare solutiile de materiale se centrifugheaza si se redisperseaza in apa bidistilata in functie de concentratia dorita. Nanomaterialele sunt stabile timp de 30 zile de la preparare.

Materialele obtinute au fost caracterizate prin microscopie electronica de transmisie (TEM), difractie de raze X (RX), spectroscopie de energie dispersiva de raze X (EDX), metode optice (spectroscopie UV-Vis, FT-IR), calorimetrie cu scanare diferentiala (DSC).

Obtinerea nanomaterialelor este dovedita prin spectrele de absorbtie UV-Vis (se observa picuri distinctiv la aproximativ 401 nm respectiv 436 nm in functie de antocian) si prin microscopie electronica de transmisie (TEM) conform Fig. 1 si 2. Analizele FTIR si DSC demonstreaza legarea moleculelor organice de nanoparticulele metalice.

Folosirea in medicina a nanoparticulelor de argint, fara un control al citotoxicitatii acestora «*in vitro*» poate sa aduca riscuri pentru pacient. Este important controlul dimensiunilor nanoparticulelor si determinarea exacta a limitei de toxicitate.

Materialele obtinute de noi prezinta **avantaje in plus** fata de cele cunoscute in prezent, si anume avantajul oferit de moleculele de polifenoli: **proprietatile lor antioxidante, antiinflamatorii si imunomodulatoare**, potentate de cele oferite de nanoparticulele de argint. Dupa cunostinta noastra nu exista astfel de materiale utilizate pana in prezent pentru leziunile dermatologice datorate unor boli inflamatorii

Materialele obtinute au si avantajul **ca se pot utiliza** in alte domenii diferite de medicina, de exemplu in domeniul energiei neconventionale la obtinerea senzorilor pentru celule fotovoltaice<sup>9</sup>.

Inventia rezolva problema economica de realizare in tara a materialelor pe baza de nanoparticule de argint si molecule organice din compusi naturali (antociani) la preturi de cost



mici. Aceste materiale se pot folosi la obtinerea unor creme utilizate in medicina in terapia leziunilor cutanate provocate de boli inflamatorii ca de exemplu psoriazisul.

**Inventia de fata creste esential calitatea terapiei noninvazive, utilizand medicamente noi (creme cu nanoparticule de argint) in afectiuni inflamatorii cutanate.**



### FISA BIBLIOGRAFICA

1. Yuning Li et al Stabilized silver nanoparticles and their use, Patent number: 7270694, Sep 18, 2007.
2. Venugopal Santhanam et al, Methods for preparing metal and metal oxide Nanoparticles, V Santhanam, SK Sivaraman, US Patent App. 12/550, 210 2009/8/28.
3. A. Sileikaite, J. Puiso, I. Prosycevas, S. Tamulevicius, Investigation of Silver Nanoparticles Formation Kinetics During Reduction of Silver Nitrate with Sodium Citrate, Materials Science (Medziagotyra), 2009, 15, 1, 21-27.
4. N.Shirtcliffe, U.Nickel, S.Schneider, Reproducible Preparation of Silver Sols with Small Particle Size Using Borohydride Reduction: for Use as Nuclei for Preparation of Larger Particles Journal of Colloid and Interface Science 1999, 211 (1), 122-129.
5. S. P. Dubey, M. Lahtinen si M. Sillanpaa, Tansy fruit mediated greener synthesis of silver and gold nanoparticles, Process Biochemistry 2010, 45, 1065-1071.
6. V. Kumar si S. Kumar Yadav, Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications, J Chem Technol Biotechnol 2009, 84, 151-157.
7. Bianca Moldovan, Luminita 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;
8. J. Lee, R. W. Durst si R. 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.
9. H. E. Cramer, M. H. Griep, D. S. Choi si S. P. Karna, Green Nanochemistry Approach to Titanium Dioxide Nanoparticle, Dye-Sensitized Solar Cells ARL-TR-6033, June 2012.



## REVEDICARI

1. Materiale noi pe baza de nanoparticule de argint si antociani obtinuti din extracte naturale cu aplicatii in medicina **caracterizate prin aceea ca** au o compozitie formata din nanoparticule de argint si molecule organice (antociani) avand dimensiunile medii ale diametrelor intre 9-24 nm (aprox 68-70% dintre nanoparticule), se prezinta sub forma de solutii coloidale avand culori de la galben deschis la galben inchis si se utilizeaza la obtinerea de creme in terapia leziunilor dermatologice provocate de boli inflamatoare.
2. Metoda de obtinere a materialelor noi conform revendicarii 1 **caracterizata prin aceea ca** in 100 ml apa bidistilata adusa la fierbere se adauga 6,90 ml solutie de antociani de concentratia  $30 \times 10^{-3}$  mM, extrasi din fructe de calin, soc, coarne, sanger si aduse la pH 7,5 pentru calin si coarne respectiv 9,2 pentru soc si sanger si sub agitare puternica se adauga 2,75 ml solutie apoasa de  $\text{AgNO}_3$  de concentratie 1%, amestecul se fierbe cu agitare continua 3 minute dupa care se raceste tot sub agitare continua, produsul se centrifugheaza si se redisperseaza in apa bidistilata in functie de concentratia dorita si are o stabilitate de 30 zile pastrate la temperatura de  $0-4^{\circ}\text{C}$ .

### DESENE EXPLICATIVE

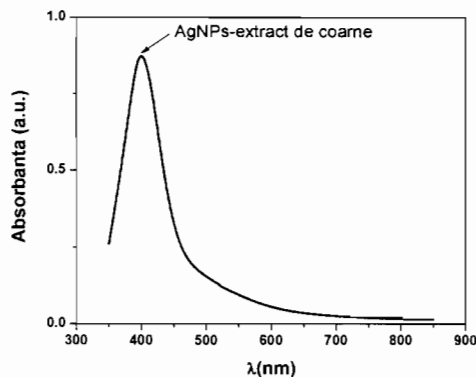


Figura 1. Spectrul UV-Vis al nanoparticulelor de argint obtinute sub actiunea extractului de coarne;

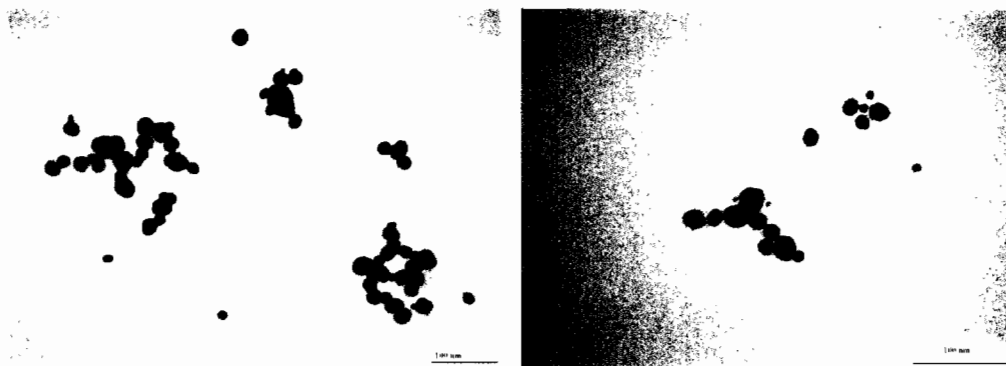


Figura 2. Imagini TEM ale: AgNPs-coarne; AgNPs-sanger; scala: 100 nm  
(dimensiunea nanoparticulelor: coarne-dimensiunea medie 70,58% intre 9-15 nm; sanger: cu dimensiunea medie 68% intre 16-24 nm)



Figura 3. Culorile solutiilor materialelor pe baza de nanoparticule de argint si extracte naturale (coarne si sanger)