



(11) **RO 131872 B1**

(51) **Int.Cl.**

**A61K 31/00** (2006.01),  
**A61K 33/00** (2006.01),  
**C12N 1/00** (2006.01),  
**C12P 19/00** (2006.01),  
**A61K 33/38** (2006.01),  
**C12R 1/02** (2006.01)

(12)

## BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2015 00893**

(22) Data de depozit: **26/11/2015**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/10/2019** BOPI nr. **10/2019**

(41) Data publicării cererii:  
**30/05/2017** BOPI nr. **5/2017**

(73) Titular:  
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE  
CHIMICO-FARMACEUTICĂ - ICCF,  
CALEA VITAN NR.112, SECTOR 3,  
BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:  
• **CASARICA ANGELA,  
STR. POPA STOICA FARCAS NR. 19,  
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **LUPESCU IRINA, STR.PREVEDERII  
NR.15 A, BL.C 1, S.C.A, ET.2, AP.9,  
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**

• **MOSCOVICI MISU, STR. JEAN STERIADI  
NR. 7, BL. I 22, SC. B, ET. 2, AP. 16,  
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **STANESCU PAUL-OCTAVIAN,  
STR. VATRA DORNEI NR. 9, BL. E4, SC. 2,  
ET. 2, AP. 30, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,  
RO;**  
• **ZAHARIA CĂȚĂLIN, STR. CERNIȘOARA  
NR. 43, BL. O12, SC. B, ET. 1, AP. 62,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **IONESCU ANA DESPINA,  
STR.ALUNIȘULUI NR.4, BL.11 A, SC.3,  
AP.99, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:  
**DE 10022751 C2; DE 4027479 C2;  
RU 2141530 C1**

(54) **MEMBRANE COMPOZITE BIOACTIVE EFICIENTE  
ÎN TRATAMENTUL DIFERITELOR AFECȚIUNI ALE PIELII**



# RO 131872 B1

1           Invenția se referă la niște membrane compozite bioactive, eficiente în tratamentul  
diferitelor afecțiuni ale pielii, având o largă aplicabilitate în domeniul farmaceutic, medical,  
3 chimic, cosmetic, produse alimentare și în alte domenii.

5           Quercitina este un bioflavonoid cu rol puternic antioxidant, favorizând blocarea  
radicalilor liberi, puternic antiinflamator, împiedicând eliberarea elementelor inflamatorii și  
alergene, având și efect antibacterian (inhibitor de creștere microbiană), cu stimularea  
7 regenerării țesuturilor.

9           Propolisul (cleiul de albine) este un material rășinos și balsamic obținut din asocierea  
albinelor cu diferite surse vegetale, producând o acțiune antimicrobiană și de vindecare. În  
plus, pentru a regenera pielea, noile compozite BC/quercitina, BC/propolis în soluție de argint  
11 coloidal pot ucide bacteriile (pot împiedica dezvoltarea microorganismelor patogene) care  
vin împreună cu leziunile, având proprietăți cicatrizante și antiseptice.

13          Argintul coloidal ionic este un amestec omogen de ioni de argint ce au sarcina  
pozitivă cu particule nanometrice de argint în apă distilată și structurată, fiind eficient în  
15 controlul unui spectru larg de microorganisme, inclusiv patogeni mulți rezistenți.

17          Membrana de celuloză antimicrobiană ce conține quercitină/nanoparticule de argint  
coloidal și, respectiv, propolis/nanoparticule de argint coloidal va fi folosită ca un agent  
antimicrobian și dezinfectant pentru rănilor cronice.

19          Celuloza bacteriană (BC) este unul dintre materialele eco-friendly, și este sintetizată  
de către bacteria acetică *Acetobacter xilinum*. Structura fibroasă de BC constă dintr-o rețea  
21 tridimensională de microfibrile, reticulată, care îi conferă o suprafață mare de transfer și o  
porozitate mare, ce îi permite înglobarea unor substanțe active, sau efectuarea de diverse  
23 reacții în mediul apos care este prezent în structura sa tridimensională.

25          BC are o varietate de aplicații în domenii biomedicale, inclusiv utilizarea ca  
biomaterial pentru piele artificială, vase de sânge artificiale, grefe vasculare, suport pentru  
ingineria tisulară, și ca pansament. BC este un excelent material pentru pansament,  
27 deoarece oferă un mediu umed care permite vindecarea rapidă a rănilor cronice, dar, cu  
toate acestea, nu are proprietăți antimicrobiene pentru a preveni infecțiile [1,2,3,4]. Prin  
29 urmare, sinteza unor noi compozite BC/produse naturale a fost efectuată pentru a elimina  
aceste limitări, și pentru a fi eficiente în tratarea infecțiilor cronice (de profunzime).

31          Materialele compozite BC ar trebui să fie utilizate în mod eficient ca și componente  
structurale de înaltă performanță, pentru diverse aplicații [5,6].

33          Astfel, bioceluloza poate fi folosită la obținerea de materiale compozite, cu scopul de  
a asigura hidrofilicitatea și biodegradabilitatea materialului.

35          Compozitele biocelulozei se pot obține fie prin modificarea mediului de cultură  
(*in situ*), fie prin modificare *ex situ*, folosindu-se de la simpla amestecare a componentelor,  
37 până la reacții chimice mai complicate, care să permită înglobarea altor substanțe în  
matricea de celuloză.

39          O abordare diferită pentru a îmbunătăți biocompatibilitatea BC constă în prepararea  
compozitelor BC cu diferite biomateriale. Astfel, din datele de literatură, dintre polimeri au  
41 fost testați biopolimeri de tipul: chitosan, gelatină, collagen, avându-se în vedere aplicațiile  
medicale ale compozitelor obținute.

43          Unele dintre compozitele astfel obținute au prezentat proprietăți superioare celulozei  
bacteriene, altele nu, evident și în funcție de aplicațiile avute în vedere pentru respectivele  
45 materiale.

47          Compozite BC-chitosan au fost obținute pentru a îmbunătăți unele dintre proprietățile  
structurale ale BC native. Kim și colab. [7] au obținut compozite BC-chitosan prin cufundarea  
peliculelor BC umede într-o soluție de chitosan, urmată de un proces de liofilizare.

# RO 131872 B1

Analiza morfologică efectuată sugerează că moleculele de chitosan pot pătrunde în BC, formând un schelet cu o structură tridimensională multistrat. Biocompatibilitatea acestor compozite BC-chitosan a fost evaluată prin studii de proliferare celulară, unde acestea au fost atinse. În general, materialele compozite-BC chitosan au arătat o biocompatibilitate mult mai bună față de BC pură.

Wang și colab. [8] au raportat sinteza unui compozit celuloză/gelatină prin reticulare cu procianidinen (antioxidanți, oligomeri polifenolici, substanțe ce ajută la scăderea colesterolului). Rezultatele au arătat că proliferarea, infiltrarea și aderența fibroblastelor sunt îmbunătățite față de BC nativă. Într-adevăr, gelatina, o polipeptidă derivată dintr-o matrice extracelulară, și o formă denaturată a colagenului, prezintă mai multe proprietăți, cum ar fi bună biocompatibilitate, imunogenitate scăzută, adezivitatea, promovarea și creșterea celulară, precum și costuri reduse. Prin urmare, acesta poate fi folosit ca un material alternativ la colagen, în ingineria tisulară.

Colagenul a fost, de asemenea, utilizat pentru a îmbunătăți biocompatibilitatea BC. Colagenul a fost utilizat în aplicații biomedicale datorită biodegradabilității, antigenicității scăzute și proprietăților de legare a celulelor [9]. În contrast, colagenul are proprietăți mecanice scăzute, posibil inter-infectare, și preț ridicat, limitând astfel utilizarea sa în domeniile biomedicale [10]. Cai și colab. [11] au obținut compozite BC-colagen prin cufundarea unei membrane de BC în soluție de colagen. Celulele fibroblaste incubate s-au comportat bine în ceea ce privește aderența celulară și proliferarea. Compozitele BC-colagen preparate au arătat o citocompatibilitate mult mai bună decât BC pură (nativă).

Alte biomateriale utilizate pentru a îmbunătăți biocompatibilitatea BC includ amidonul [12, 13], hidroxiapatita [14-20], poli (alcool vinilic) [21-23], poli (metacrilat de metil) [24] și poliacrilamidă [25].

**RO 126940 B1** descrie un procedeu de obținere a membranelor de bioceluloză, cu *Acetobacter xylinum* 2004 DSMZ, pe medii de biosinteză ce conțin ca sursă de carbon produse horticoale de calitate inferioară, glicerol și etanol, deșeuri din industria biodieselului. Acest document este parte încorporată prezentei invenții, prin referire în totalitate.

**DE 10022751 C2** prezintă un procedeu de obținere a unor straturi/membrane de celuloză bacteriană utilizând o tulpină de *Acetobacter xylinum* DSM 13368, cu sau fără tratarea în prealabil cu celuloză. Mediul de cultură al bacteriei conține: glucoză, peptonă, extract de drojdie, fosfat disodic, acid citric și apă distilată, are un pH cuprins în intervalul 4...7,2, temperatura de incubare optimă este cuprinsă în intervalul 25...30°C, iar la finalul procesului se obține un strat omogen de celuloză bacteriană având o grosime de maximum 60 mm, care este ulterior spălat cu apă și/sau un detergent ușor alcalin, tăiat în straturi, care sunt din nou spălate și tratate cu un stabilizator chimic și/sau o substanță activă.

**DE 4027479 C2** descrie un procedeu de obținere a unor membrane de celuloză bacteriană, pornind de la creșterea bacteriilor într-o cultură staționară, pe un mediu nutritiv ce conține surse de carbon asimilabile, proteine și săruri, urmată de îndepărtarea straturilor de celuloză neuniformă morfologic, izolarea și purificarea straturilor celulozice uniforme, care se tratează cu soluție de hidroxid de sodiu, pentru îndepărtarea bacteriilor reziduale, se neutralizează cu un acid și se spală cu apă deionizată. Membranele celulozice obținute conform procedurii sunt utilizate la microfiltrare sau ultrafiltrare.

**RU 2141530 C1** se referă la un mediu nutritiv care conține deșeuri de zahăr ca sursă de carbon și azot, destinat cultivării *Acetobacter xylinum*, în vederea obținerii de membrane de celuloză bacteriană utilizate în diferite domenii, cum ar fi medicină, industria alimentară și cosmetică.

# RO 131872 B1

1 Deoarece majoritatea polimerilor sintetici sunt nedegradabili, problemele de mediu  
generate de acestea sunt, de asemenea, în același timp în creștere. În scopul de a rezolva  
3 aceste probleme, tendința se îndreaptă acum spre dezvoltarea compozitelor ecologice,  
folosind materiale naturale. Mergând după aceste principii, am urmărit obținerea unor noi  
5 biomateriale compozite eco-friendly, pe bază de celuloză bacteriană și produse naturale  
valoroase, precum quercitina, propolisul, în soluție de argint coloidal, cu aplicații biomedicale  
7 corespunzătoare. În acest sens, posibilitatea obținerii de noi biomateriale compozite, cu  
proprietăți îmbunătățite, se va dovedi ca o soluție interesantă pentru realizarea compozitelor  
9 BC verzi, care satisfac nevoia de a explora cost minim, materiale biodegradabile și  
regenerabile. Astfel, invenția de față realizează obținerea de membrane compozite  
11 BC/produse naturale, cu aplicații antimicrobiene superioare, printr-o metodă simplă, rapidă  
și cu un cost scăzut.

13 Majoritatea încercărilor de modificare a mediului de cultură pentru producerea  
compozitelor BC s-au efectuat utilizând biomateriale solubile în apă. S-a pornit de la ideea  
15 că matricea de bioceluloză poate îngloba în ea diverse materiale, dacă acestea sunt  
prezente în mediul de reacție. Astfel, s-a optat pentru modificarea mediului de biosinteză  
17 (reacție *in situ*) cu adaus individual de quercitină, propolis în soluție de argint coloidal.

19 Problema tehnică pe care își propune să o rezolve prezenta invenție este aceea de  
a dezvolta și obține membrane compozite conținând substanțe active naturale, prin  
valorificarea unor produse necorespunzătoare calitativ, și a unui deșeu industrial de tipul  
21 glicerolului, eficiente în tratamentul diferitelor afecțiuni ale pielii.

23 Spre deosebire de membranele de bioceluloză obținute conform procedurii descris  
în **RO 126940 B1**, membranele compozite BC/quercitină și BC/propolis, conform invenției,  
se obțin prin biosinteza cu tulpina *A. xilinum* DSMZ 2004 (ICCF 398), din mere depreciate,  
25 proaspete sau congelate, extrase în soluție coloidală de argint, la temperatura camerei, în  
concentrație de 25 ppm, separarea extractului prin filtrare pe hârtie de filtru calitativă,  
27 adăugarea de quercitină 1% în prima variantă, și de propolis 1% în a doua variantă,  
membranele compozite astfel obținute fiind supuse ulterior purificării, pentru îndepărtarea  
29 celulelor microbice aderente, și testării analitice și farmacologice.

31 Astfel, mediile de cultură, cu volum util de 100 ml, preparate în baloane *Erlenmeyer*  
de 500 ml, cu extract din mere depreciate în soluție coloidală de argint 25 ppm, și  
ingredientele naturale valoroase, precum quercitina și propolisul, au fost sterilizate prin  
33 autoclavare la 121°C, 30 min, și inoculate cu 10% inocul de *A. xilinum* DSMZ-2004.  
Incubarea s-a făcut în condiții statice, la 30°C, durata de incubare fiind de 14 zile, cu  
35 recoltarea și purificarea membranelor compozite de celuloză.

37 Membranele compozite BC/quercitină și BC/propolis în soluție coloidală de argint  
obținute au fost purificate prin tratarea cu soluție de NaOH în (4%), la 30°C, timp de 2 zile,  
pentru a liza celulele microbiene din peliculă, tratate cu azidă de sodiu (NaN<sub>3</sub>) 0,02%, pentru  
39 a reduce contaminarea microbiană, și neutralizate cu acid acetic 1%, spălate cu apă distilată  
și păstrate la 4°C.

41 Avantajele invenției constau în principal în aceea că se obțin două materiale  
compozite BC, de origine microbiană, de uz terapeutic, foarte active în afecțiunile cronice  
43 greu tratabile, cu o compatibilitate mare față de componentele membranei celulare, a  
tegumentului în general, care poate conduce, în consecință, la îmbunătățirea stării de  
45 sănătate și la creșterea calității vieții, precum și la dezvoltarea economică a industriei  
farmaceutice.

# RO 131872 B1

De asemenea, BC accelerează procesul de vindecare a pielii față de pansamentele convenționale, cum ar fi tifonul umed și unguentele. Studiile au arătat că pansarea rănilor cu BC/quercitină și BC/propolis reduce durerea cauzată de rană, accelerează reepitelizarea și cicatrizarea, și reduce rata de infectare a plăgii [27, 28, 29].

Se prezintă în continuare două exemple de realizare a invenției.

## Exemplul 1

Acest exemplu descrie soluția tehnologică de obținere a compozitelor BC/quercitina în soluție coloidală de argint, pornind de la medii sterile ce sunt inoculate cu *Acetobacter xilinum*. Pentru aceasta se utilizează o cantitate de 50 g mere depreciate, congelate la -17...-19°C, care se supune extracției prin agitare cu 1 l soluție coloidală de argint 25 ppm, la temperatura camerei, timp de 4 h. După extracție, se separă faza solidă prin filtrare sub vid, pe pânză Buchner, pe hârtie de filtru calitativă. Au rezultat 1000 ml filtrat (extract) cu o concentrație echivalentă gram glucoză de 7,5%. În extractul de mere se mai adaugă: glicerină 2,0%, sulfat amoniu 0,2%, acid citric 0,5%, sulfat de magneziu 0,05%, yeast extract 0,05% și quercitină 1%.

Întrucât pH-ul inițial al mediului de cultură nu este constant, deoarece acesta depinde atât de pH-ul apei utilizate la preparare, de soluția coloidală de argint, cât și de componentele adăugate în mediu, se procedează la aducerea sa la valoarea de 4,8 prin adaos de NaOH.

Odată mediul preparat și sterilizat, se realizează inocularea acestuia cu o cultură sterilă de *Acetobacter xilinum* 10% inocul.

Bioprocesul s-a realizat în condiții statice, la 30°C, durata de incubare fiind de 14 zile, cu recoltarea și purificarea membranelor compozite de BC/quercitină.

Compozitul BC/quercitină în soluție coloidală de argint a fost tratat cu soluție de NaOH 1N, în vederea îndepărtării bacteriilor acumulate în acesta. Se obține astfel o membrană compozit BC clară, cu tente ușoare de gălbui strălucitor, cu o grosime medie de 0,4...0,6 mm, care se tratează cu azidă de sodiu ( $\text{NaN}_3$ ) 0,02%, pentru a reduce contaminarea microbiană, și apoi se neutralizează cu acid acetic 1%, după care se spală și se păstrează în vase Petri sub apă distilată, la 4°C, în vederea procesării sale ulterioare.

## Exemplul 2

Se procedează ca în exemplul 1, cu diferența că ingredientul valoros adăugat în mediul de cultură pentru formarea compozitului BC este propolisul în soluție coloidală de argint. Se obțin astfel membrane compozit din bioceluloză cu propolis în soluție de argint, care se prelucrează în continuare ca în exemplul 1. Acestea pot fi utilizate pentru tratarea rănilor cronice, țesuturilor arse sau deteriorate de insuficiența venoasă.

În fig. 1 sunt prezentate două fotografii cu activitate antibacteriană a membranelor compozite de BC/quercitină formate în cultură statică, după purificare.

În fig. 2 sunt prezentate două fotografii cu activitate antibacteriană a membranelor compozite de BC/propolis formate în cultură statică, după purificare.

# RO 131872 B1

## Activitatea antimicrobiană a compozitelor BC asupra *S. epidermidis*, *S. aureus* și *P. aeruginosa*

Proba	Microorganism-test	Zona de inhibiție (mm)	Înmulțire microbiană (zona de contact)
BC	<i>S. epidermidis</i> ATCC 1228	2,5	Niciuna
	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	2	Niciuna
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	3	Niciuna
BC/Propolis 1%/ Argint coloidal 25 ppm	<i>S. epidermidis</i> ATCC 1228	3	Niciuna
	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	4,5	Niciuna
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	4,5	Niciuna
BC/Quercitină 1%/Argint coloidal 25 ppm	<i>S. epidermidis</i> ATCC 1228	4	Niciuna
	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	6	Niciuna
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	4	Niciuna

Compozitele bioactive BC/quercitină/argint coloidal și BC/propolis/argint coloidal noi obținute au prezentat activitate antimicrobiană clară (evidentă) față de *S. epidermidis* ATCC 1228, *S. aureus* ATCC 6538 și *P. aeruginosa* ATCC 9027. Așadar, rezultatele din tabel arată că cele două compozite noi obținute au prezentat efect antibacterian considerabil (efecte antimicrobiene excelente) asupra tuturor celor trei microorganisme-test, susținut de quercitină, propolis și ionii de argint.

Compozitele obținute pot fi considerate un nou tip de pansament antimicrobian asociat cu proprietăți de vindecare noi. Pansamentul este compus din bioceluloză, impregnat cu nanoparticule de argint îmbogățite cu quercitină sau cu propolis.

### Bibliografie

1. Maria, L. C. S., Santos, A. L. C., Oliveira, P. C., & Valle, A. S. S. (2010). *Preparation and antibacterial activity of silver nanoparticles impregnated in bacterial cellulose*. *Polimeros, Ciência e Tecnologia*, 20, 72-77.

2. Maneerung, T., Tokura, S., & Rujiravanit, R. (2007). *Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing*. *Carbohydrate Polymers*, 72(1), 43-51.

3. Saibuatong, O., & Philsalaphong, M. (2010). *Novo aloe vera-bacterial cellulose composite film from biosynthesis*. *Carbohydrate Polymers*, 79, 455-460.

4. Zhang, S., & Luo, J. (2011). *Preparation and properties of bacterial cellulose/alginate, blend bio-fibers*. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, 6(3), 69-72.

5. Application for Japanese Patent #2000 - 313 702.

6. Japanese Patent #2617431.

# RO 131872 B1

7. Kim, J.; Cai, Z.; Lee, H.S.; Choi, G.S.; Lee, D.H.; Jo, C. (2011). *Preparation and characterization of a bacterial cellulose/Chitosan composite for potential biomedical application*. J. Polym. Res., 18, 739-744. 1
8. Wang, J.; Wan, Y. Z.; Luo, H. L.; Gao, C; Huang, Y. (2012). *Immobilization of gelatin on bacterial cellulose nanofibers surface via crosslinking technique*. Mater. Sci. Eng. C, 32, 536-541. 3
9. Mormino, R.; Bungay, H. (2003). *Composites of bacterial cellulose and paper made with a rotating disk bioreactor*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 62, 503-506. 7
10. Luo, H.; Xiong, G.; Huang, Y.; He, F.; Wang, Y.; Wan, Y. (2008). *Preparation and characterization of a novel COL/BC composite for potential tissue engineering scaffolds*. Mater. Chem. Phys., 110, 193-196. 9
11. Cai, Z.; Yang, G. (2011). *Bacterial cellulose/collagen composite: Characterization and first evaluation of cytocompatibility*. J. Appl. Polym. Sci., 120, 2938-2944. 11
12. Torres, F. G.; Troncoso, O. P.; Lopez, D.; Grande, C; Gomez, CM. (2009). *Reversible stress softening and stress recovery of cellulose networks*. Soft Matter, 5, 4185-4190 15
13. Wan, Y. Z.; Luo, H.; He, F.; Liang, H.; Huang, Y.; Li, X.L. (2009). *Mechanical, moisture absorption, and biodegradation behaviours of bacterial cellulose fibre-reinforced starch biocomposites*. Composites Sci. Technol., 69, 1212-1217. 17
14. Grande, C. J.; Torres, F. G.; Gomez, CM.; Bano, M.C. (2009). *Nanocomposites of bacterial cellulose/hydroxyapatite for biomedical applications*. Acta Biomater., 5, 1605-1615. 19
15. Shi, S.; Chen, S.; Zhang, X.; Shen, W.; Li, X.; Hu, W.; Wang, H. (2009). *Biomimetic mineralization synthesis of calcium-deficient carbonate-containing hydroxyapatite in a three-dimensional network of bacterial cellulose*. J. Chem. Technol. Biotechnol., 84, 285-290. 23
16. Yin, N.; Chen, S.-y.; Ouyang, Y.; Tang, L.; Yang, J.-x.; Wang, H.-p. (2011). *Biomimetic mineralization synthesis of hydroxyapatite bacterial cellulose nanocomposites*. Prog. Nat. Sci. Mater. Int., 21, 472-477. 25
17. Wang, J.; Wan, Y.; Han, J.; Lei, X.; Yan, T.; Gao, C (2011). *Nanocomposite prepared by immobilising gelatin and hydroxyapatite on bacterial cellulose nanofibres*. Micro Nano Lett., 6, 133-136. 27
18. Zimmermann, K. A.; LeBlanc, J.M.; Sheets, K. T.; Fox, R. W.; Gatenholm, P. (2011). *Biomimetic design of a bacterial cellulose/hydroxyapatite nanocomposite for bone healing applications*. Mater. Sci. Eng. C, 31, 43-49. 29
19. Wan, Y. Z.; Gao, C; Luo, H. L.; He, F.; Liang, H.; Li, X. L.; Wang, Y. L. (2009). *Early growth of Nano-Sized calcium phosphate on phosphorylated bacterial cellulose nanofibers*. J. Nanosci. Nanotechnol., 9, 6494-6500. 31
20. Wan, Y.; Hong, L.; Jia, S.; Huang, Y.; Zhu, Y.; Wang, Y.; Jiang, H. (2006). *Synthesis and characterization of hydroxyapatite bacterial cellulose nanocomposites*. Composites Sci. Technol., 66, 1825-1832. 33
21. Milion, L.E.; Oates, C.J.; Wan, W. (2009). *Compression properties of polyvinyl alcohol bacterial cellulose nanocomposite*. J. Biomed. Mater. Res. Part B, 90, 922-929. 35
22. Milion, L. E.; Guhados, G.; Wan, W. (2008). *Anisotropic polyvinyl alcohol Bacterial cellulose nanocomposite for biomedical applications*. J. Biomed. Mater. Res. Part B, 86, 444-452. 37
23. Milion, L. E.; Wan, W. K. (2006). *The polyvinyl alcohol bacterial cellulose system as a new nanocomposite for biomedical applications*. J. Biomed. Mater. Res. Part B, 79, 245-253. 39

## RO 131872 B1

- 1           24. Olsson, R. T.; Kraemer, R.; Loópez-Rubio, A.; Torres-Giner, S.; Ocio, M.J.;  
Lagarón, J. M. (2010). *Extraction of microfibrils from bacterial cellulose networks for*  
3 *electrospinning of anisotropic biohybrid fiber yarns. Macromolecules*, 43, 4201-4209.
- 5           25. Hagiwara, Y.; Putra, A.; Kakugo, A.; Furukawa, H.; Gong, J.P. (2010). *Ligament-*  
*like tough double-network hydrogel based on bacterial cellulose. Cellulose*, 17, 93-101.
- 7           26. Casarica A., Ionescu C, Moscovici M., Gheorghiu E., Radu I. C, Soare M.,  
Ionescu A. D., Boghiu A., Nicolae L., (2013). *Procedeu biotehnologic de obținere a celulozei*  
*bacteriene pe substraturi combinate* - Brevet de invenție 126940/30.09.2013.
- 9           27. Czaja, W.; Krystynowicz, A.; Bielecki, S.; Brownjr, R. (2006). *Microbial cellulose*  
*the natural power to heal wounds. Biomaterials*, 27, 145-151.
- 11           28. Czaja, W. K.; Young, D. J.; Kawecki, M.; Brown, R. M. (2006). *The future*  
*prospects of microbial cellulose in biomedical applications. Biomacromolecules*, 8, 1-12.
- 13           29. Fontana, J. D.; Souza, A. M.; Fontana, C. K.; Torriani, I. L.; Moreschi, J. C.;  
Gallotti, B. J.; Souza, S. J.; Narcisco, G. P.; Bichara, J. A.; Farah, L.F.X. (1990). *Acetobacter*  
15 *cellulose pellicle as a temporary skin substitute. Appl. Biochem. Biotech.*, 24-25, 253-264.



# RO 131872 B1

## Revendicări

- |  |             |
|--|-------------|
|  | 1           |
| 1. Membrane compozite bioactive, eficiente în tratamentul diferitelor afecțiuni ale pielii, <b>caracterizate prin aceea că</b> se obțin prin sinteză biologică cu tulpina <i>A. xilinum</i> DSMZ 2004 (ICCF 398) cultivată pe un mediu ce conține extract de fructe depreciate, în soluție coloidală de argint de 25 ppm, la temperatura camerei, cu adaos de quercitină 1% sau propolis 1%. | 3<br>5<br>7 |
| 2. Membrane definite la revendicarea 1, <b>caracterizate prin aceea că</b> prezintă activitate antimicrobiană față de 3 microorganisme-test.   | 9           |

(51) Int.Cl.  
**A61K 31/00** (2006.01);  
**A61K 33/00** (2006.01);  
**C12N 1/00** (2006.01);  
**C12P 19/00** (2006.01);  
**A61K 33/38** (2006.01);  
**C12R 1/02** (2006.01)

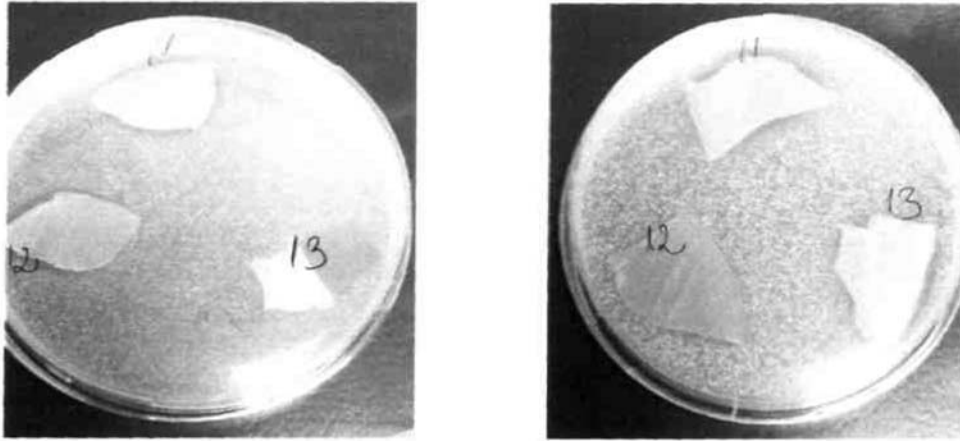


Fig. 1

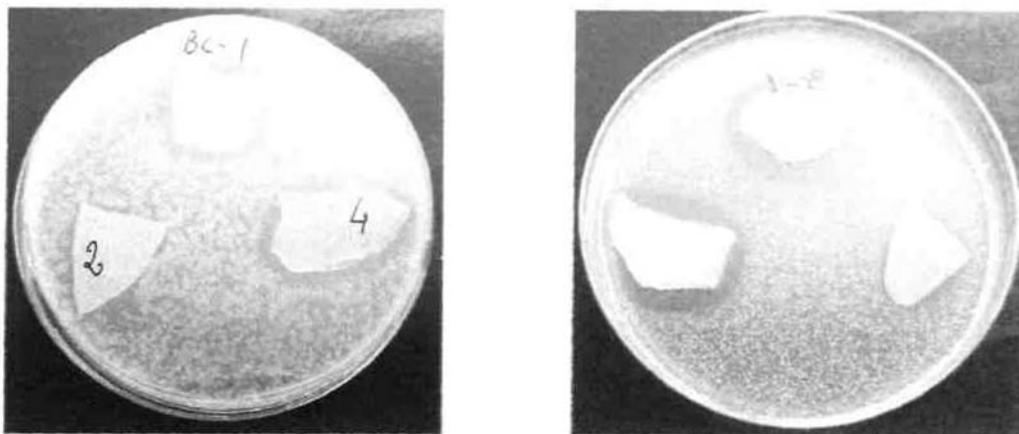


Fig. 2