



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2017 00766**

(22) Data de depozit: **28/09/2017**

(41) Data publicării cererii:
29/03/2019 BOPI nr. **3/2019**

(71) Solicitant:
• **UNIVERSITATEA DIN BUCUREȘTI,**
BD. MIHAIL KOGĂLNICEANU NR. 36-46,
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;
• **BIOLUMIMEDICA S.R.L.,**
STR.MITROPOLIT NIFON NR.40,
SECTOR 4, 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;
• **STAMATIN IOAN,** *STR.LACUL PLOPULUI*
NR.2, BL.P65, SC.1, ET.4, AP.13,
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;
• **TAMAIAN RADU,** *STR.CALEA LUI TRAIAN*
NR.60, BL.S31, SC.A, AP.7,
RÂMNICU VÂLCEA, VL, RO

(54) **BIOSUPPORT PE BAZĂ DE NANOPARTICULE DE CHITOSAN,
PENTRU TRANSPORTUL PRINCIPILOR ACTIVE,
ȘI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTUIA**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un produs de tip biosuport pentru transportul principiilor active, și la un procedeu de obținere a acestuia. Produsul conform invenției are dimensiunea particulelor de 101...143 nm, un indice de polidispersie de 0,412...0,421, un potențial ζ de 26...28 mv și o activitate antioxidantă de 81...84%. Procedeu conform invenției constă în gelarea ionică în câmp de microunde a unei soluții de chitosan, în

prezența unui agent de reticulare în raport 4:1...8:1 (v/v), timp de 30...40 min, la o putere de 40...100 W, după care amestecul se menține în procesorul de sinteză timp de 3...5 min, rezultând un biosuport pe bază de nanoparticule de chitosan cu dimensiuni nanometrice standardizate.

Revendicări: 6



N⁻

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI
Cerere de brevet de invenție
Nr. a 2017 ce 766
Data depozit 28-09-2017

BIOSUPORT PE BAZA DE NANOPARTICULE DE CHITOSAN, PENTRU TRANSPORTUL PRINCIPIILOR ACTIVE SI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTUIA

Inventia se refera la obtinerea unui nou produs de tip biosuport pe baza de nanoparticule de chitosan pentru transportul principiilor active medicamentoase si procedeul de obtinere al acestuia. Produsul prezinta stabilitate fizico-chimica si dimensiune nanometrica standardizata.

Produsul biosuport pe baza de nanoparticule de chitosan pentru transportul substantelor active prezinta proprietati terapeutice si antioxidante, poate fii utilizat ca atare sau ca suport pentru o multitudine de principii active medicamentoase, agenti farmacoterapeutici de sinteza sau de origine naturala.

Este cunoscut ca bionanostructurile polimerice pe baza de chitosan, sunt utilizate in industria farmaceutica ca sisteme de livrarea controlata, care asigura transportul si eliberarea substantei active si prelungesc actiunea farmacologica pe o durata de timp bine determinata.

Este cunoscut ca biopolimerul chitosan este o polizaharidă liniară compusă din unități β -(1-4)-D-glucozamină și N-acetil-D glucozamină și reprezinta candidatul ideal pentru transportul principiilor active si pentru sistemele de eliberare controlată. Avand in vedere faptul că biopolimerul chitosan este non-toxic, stabil, biodegradabil, biocompatibil și poate fi sterilizat, acesta poate fi folosit la sinteza de nanoparticule polimerice. Chitosanul prezinta multiple proprietati terapeutice, cum ar fi: capacitatea de dezintoxicare, este anticancerigen, scade nivelul lipidelor din sange, si implicit al colesterolului, pana la limita normala, creste nivelul imunitar pe calea reglarii pH-ului tesuturilor organismului si mentinerea lui in stare semialcalina, imbunatateste microcirculatia in tesuturi, in primul rand pe calea inlaturarii aterosclerozei, in al doilea rand, prin oprirea spasmelor arterelor, in special a capilarelor mici, se utilizeza in tratarea psoriazisului, a cancerului pielii, restabileste suprafetele de piele arse, ranile si alte traume la nivelul pielii, fiind întrebuințat în industria farmaceutica și în medicină, ca medicament, supliment alimentar sau biomaterial.

Este cunoscuta in literatura de specialitate importanta utilizarii nanoparticulelor pe baza de biopolimeri, cum ar fi chitosanul, ca sisteme de livrare controlata si rolul acestora in modul de administrarea a medicamentelor cu diferite actiuni terapeutice: cum ar fi terapia oncologica, terapia antibacteriana, antifungica si antiinflamatoare. Exista numeroase lucrari cu privire la procedeele de obtinerea a nanoparticulelor pe baza de biopolimeri cu aplicatii in industria farmaceutica.

Deasemenea sunt cunoscute precedee de obtinere a nanoparticulelor pe baza de biopolimeri de uz farmaceutic (inclusiv chitosanul), cum ar fi: procesele de sinteza sol-gel, reticularea cu diferiti agenti de reticulare, gelarea ionica, evaporarea solventului, nanoprecipitarea, emulsificarea si difuzia solventului, dializa, tehnologia fluidului supercitic.

Produsele cunoscute si procedeele de obtinere a acestora prezinta o serie de dezavantaje cum ar fi: stabilitatea redusa a nanoparticulelor obtinute ceea ce determina o aplicabilitatea redusa si selectiva, dimensiuni nestandardizate in cazul produselor si

existenta unor aspecte legate de timpul indelungat necesar atat pentru solubilizarea chitosanului cat si pentru sinteza nanoparticulelor, toxicitatea solventilor utilizati si costuri ridicate, in cazul procedeelor.

Problema tehnica pe care o rezolva inventia consta in aceea ca se obtin produse de tip biosuport pe baza de nanoparticule de chitosan de uz farmaceutic care prezinta stabilitate fizico-chimica si dimensiune nanometrica standardizata, cu posibilitatea utilizarii acestora ca produs de sine statator si deasemeni cu rol de suport pentru substantele active medicamentoase, printr-un procedeu special conceput care sa permita aplicarea metodei de gelarea ionica in camp de microunde.

Procedeu conform inventiei inlatura dezavantajele produselor cunoscute prin aceea ca, biosuportul pe baza de nanoparticule de chitosan, prezinta stabilitate in timp, aplicabilitate extinsa in domeniul farmaceutic si in domeniul medical conferita prin proprietatile fizico chimice standardizate, demonstrate prin investigarea prin tehnica DLS (Dynamic Light Scattering) si anume: dimensiuni de particule cuprinse intre 101...143nm, cu indice de polidispersie cuprins intre 0.412...0.421 si potential zeta cuprins intre 26...28 mV. Deasemenea este demonstrata si activitatea antioxidanta, determinata prin tehnica de chemiluminescenta, avand valori cuprinse intre 81...84%.

Procedeu conform inventiei inlatura dezavantajele procedeelor cunoscute prin aceea ca, se realizeaza o sinteza de nanoparticule, care consta in procesul de gelare ionica in camp de microunde si inainte de aceasta etapa solutia de chitosan este supusa operatiei de ultrasonare timp de 15...30 minute si omogenizare prin ultra-mixare cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 2...8 minute la viteza de 500... 1000 rot/min, la o temperatura cuprinsa intre de 30...40°C, urmata de operatia de ajustare a pH-ului prin adaus de solutie de NaOH 0.5M, apoi solutia de chitosan este introdusa in procesorul de microunde Milestone's MicroSYNTH urmata de adaugarea de solutie de agent de reticulare ionica tripolifosfat de sodiu, proces realizat in mod constant si uniform cu un debit de 30 µl/s cu ajutorul unei instalatii de tip Syringe Pump Systems, cu un raportul de combinare intre solutia de chitosan si agentul de reticulare cuprins intre 4:1...8:1 (v/v), dupa care procesul de gelarea ionica in camp de microunde se realizeaza timp de 30...40 de minute, la o putere de 40...100 W dupa care amestecul se mentine in procesorul de sinteza pentru ventilare timp de 3...5 minute, rezultând produse de tip biosuport pe baza de nanoparticule de chitosan cu proprietati fizico-chimice standardizate.

Avantajele biosuportului pe baza de nanoparticule de chitosan cu rol de produs de sine statator si deasemeni cu rol de suport si transport pentru substantele active de sinteza si naturale, conform inventiei constau in aceea ca:

- prezinta activitate antioxidanta ridicata, putand fi folosit ca antioxidant si ingredient activ in combinatie cu diferite substante active cum ar fi compusi de sinteza cu rol de medicament sau compusi de origine naturala.
- prezenta dimensiuni nanometrice standardizate, stabilitate fizico-chimica a nanoparticulelor si aplicabilitatea larga in domeniul farmaceutic si medical.
- este practic netoxic fiind obtinut prin sinteza nepoluanta si solventi lipsiti de toxicitate.

Avantajele procedeuului de obtinere a biosuportului pe baza de nanoparticule de chitosan cu activitate antioxidanta, dimensiuni nanometrice standardizate, stabilitate fizico-chimica conform inventiei, constau in aceea ca produsul este obtinut prin

procesul de gelare ionica in camp de microunde din solutia de chitosan si solutie de agent de reticulare ionica tripolifosfat de sodiu, printr-o tehnologie nepoluanta, economica, rapida si eficienta care conduce la obtinerea unui nou produs biosuport de tip nanostructuri polimerice de chitosan cu inalt potential antioxidant si terapeutic.

Rezultatele testarii caracteristicilor antioxidante ale produsului biosuport pe baza de nanoparticule de chitosan realizat in urma elaborării procedeeului de gelare ionica in camp de microunde, permit utilizarea concomitenta ca produs de sine statator cu rol terapeutic, antioxidant si deasemeni cu rol de suport si transport pentru substantele active de sinteza sau de origine naturala.

Se prezinta in continuare un exemplu de realizare a inventiei.

Obtinerea biosuportului pe baza de nanoparticule de chitosan

Metoda de sinteza a nanoparticulelor NPs: metoda gelării ionice in camp de microunde

Biopolimerul chitosan de diferite concentratii, cuprise intre 1...2.25 mg/mL, s-a dizolvat in solutii de acid acetic de concentratie cuprinsa intre 1.5... 3.5 %(v/v).

Solutia de chitosan astfel obtinuta a fost supusa operatiei de ultrasonare timp de 15...30 minute si omogenizare prin ultra-mixare cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 2...8 minute la viteza de 500... 1000 rot/min, la o temperatura cuprinsa intre de 30...40°C, urmata de operatia de ajustare a pH-ului la o valoarea cuprinsa intre 4.5...5.2 prin adaus de solutie de NaOH 0.5M.

Ulterior s-a realizat procesul de gelarea ionica in camp de microunde prin introducerea solutia de chitosan in procesorul de microunde Milestone's MicroSYNTH, urmata de adaugarea de solutie de agent de reticulare ionica tripolifosfat de sodiu de concentratie cuprinsa intre 0.21...1.25 mg/mL, proces realizat in mod constant si uniform cu un debit de 30 μ l/s cu ajutorul unei instalatii de tip Syringe Pump Systems, cu un raportul de combinare intre solutia de chitosan si agentul de reticulare cuprins intre 4:1...8:1 (v/v). Procesul de gelarea ionica in camp de microunde s-a realizat timp de 30...40 de minute, la o putere de 40...100 W dupa care amestecul se mentine in procesorul de sinteza pentru ventilare timp de 3...5 minute.

In solutie s-a observat aparitia unei opalescente, fapt care semnaleza formarea spontana de nanoparticule de chitosan, confirmata ulterior prin evaluarea distributiei dimensiunii particulelor pe baza tehnicii de împrăștiere dinamică a luminii DLS (Dynamic Light Scattering).

Astfel, s-au obtinut produse de tip biosuport pe baza de nanoparticule de chitosan cu dimensiuni de particule cuprinse intre 101...143nm, indice de polidispersie cuprins intre 0.412...0.421 si potential zeta cuprins intre 26...28 mV. Deasemenea este demonstrata si activitatea antioxidanta determinata prin tehnica de chemiluminescenta, avand valori cuprinse intre 81...84%.

REVENDICARI

1. Produsul biosuport pe baza de nanoparticule de chitosan, **caracterizat prin aceea ca**, are dimensiuni nanometrice standardizate, stabilitate fizico-chimică cu dimensiuni de particule cuprinse între 101...143nm, indice de polidispersie cuprins între 0.412...0.421 și potențial zeta cuprins între 26...28 mV.
2. Produsul biosuport pe baza de nanoparticule de chitosan, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea ca**, prezintă o activitate antioxidantă cuprinsă între 81...84%.
3. Procedeu de obținere a produsului biosuport pe baza de nanoparticule de chitosan, conform revendicării 1,2 **caracterizat prin aceea ca**, gelarea ionică are loc sub acțiunea câmpului de microunde.
4. Procedeu de obținere a produsului biosuport pe baza de nanoparticule de chitosan, conform revendicării 1,2,3 **caracterizat prin aceea ca**, înainte de etapa de sinteză în microunde, soluția de chitosan este solubilizată prin ultrasonare timp de 15...30 minute și omogenizată prin ultra-mixare cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 2...8 minute la viteza de 500... 1000 rot/min, la o temperatură cuprinsă între 30...40°C, urmată de operația de ajustare a pH-ului la o valoare cuprinsă între 4.5...5.2 prin adăugarea de soluție de NaOH 0.5M.
5. Procedeu, conform revendicării 3, 4, **caracterizat prin aceea ca**, obținerea produsului biosuport pe baza de nanoparticule de chitosan, prin gelarea ionică în câmp de microunde se realizează prin adăugarea de soluție de agent de rețiculare ionică exemplul tripolifosfat de sodiu, în mod constant și uniform prin utilizarea concomitentă a procesorului de microunde și a echipamentului Syringe Pump Systems.
6. Procedeu, conform revendicării 3,4,5, **caracterizat prin aceea ca**, obținerea produsului biosuport pe baza de nanoparticule de chitosan, prin gelarea ionică în câmp de microunde se realizează prin introducerea soluției de chitosan în procesorul de microunde Milestone's MicroSYNTH, urmată de adăugarea de soluție de agent de rețiculare ionică tripolifosfat de sodiu de concentrație cuprinsă între 0.21...1.25 mg/mL, proces realizat în mod constant și uniform cu un debit de 30 μl/s cu ajutorul unei instalații de tip Syringe Pump Systems, cu un raport de combinare între soluția de chitosan și agentul de rețiculare cuprins între 4:1...8:1 (v/v), procesul de gelare ionică în câmp de microunde fiind realizat timp de 30...40 de minute, la o putere de 40...100 W după care amestecul se menține în procesorul de sinteză pentru ventilație timp de 3...5 minute, rezultând un biosuport pe baza de nanoparticule de chitosan cu dimensiuni nanometrice standardizate.