



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2018 00691

(22) Data de depozit: 18/09/2018

(41) Data publicării cererii:  
30/03/2020 BOPI nr. 3/2020

(71) Solicitant:  
• UNIVERSITATEA DIN BUCUREȘTI,  
BD. MIHAIL KOGĂLNICEANU NR. 36-46,  
SECTOR 5, 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;

• AL-BEHADILI FAISAL RAHEEM  
MIKHAILEF, STR.MOTOC, NR.4, BL.P 56,  
SC.1, AP.156, SECTOR.5, BUCUREȘTI, B,  
RO;  
• BALAN ADRIANA ELENA,  
STR.FIZICIENILOR, NR.16, BL.N3, SC.1,  
ET.2, AP.17, MĂGURELE, IF, RO;  
• STAMATIN IOAN, STR.LACUL PLOPULUI  
NR.2, BL.P65, SC.1, ET.4, AP.13,  
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO

(54) BIONANOSTRUCTURI PE BAZĂ DE CHITOSAN  
ȘI NANOPARTICULE DE ARGINT CU APLICAȚII  
ÎN DOMENIUL FARMACEUTIC ȘI DERMATOCOSMETIC,  
ȘI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTORA

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor bionanostructuri pe bază de chitosan, în care sunt încapsulate nanoparticule de argint și extracte vegetale selective, cu aplicații în domeniul farmaceutic și dermato-cosmetic. Procedeu conform invenției constă în combinarea unei soluții de chitosan:nanoparticule de argint:extracte vegetale obținute din rizomii speciei *Cyperus rotundus* L, într-un raport de asociere de 3:1:2 (v/v/v), omogenizarea prin ultra-mixare timp de 2...5 min la o viteză de 600...1000 rot/min, ajustarea pH-ului la 4,5...5,2, adăugarea unei soluții de agent de reticulare

ionică de tip tripolifosfat de sodiu, urmată de gelarea ionică sub agitare magnetică la 300 rpm, urmată de centrifugare la viteza de 8000 rpm la temperatura de -10°C, timp de 15...20 min, rezultând bionanostructuri având dimensiuni de 193...198 nm, un indice de nano-dispersie de 0,315...0,433 și un potențial  $\zeta$  de 23...26 mV, cu o eficiență de încapsulare de 68...89%.

Revendicări: 4  
Figuri: 1



30.

|   |
|---|
| OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MARC |
| Cerere de brevet de invenție            |
| Nr. ... a 2018 ee 691                   |
| Data depozit ... 18-09-2018 ...         |

## BIONANOSTRUCTURI PE BAZĂ DE CHITOSAN ȘI NANOPARTICULE DE ARGINT CU APLICĂȚII ÎN DOMENIUL FARMACEUTIC ȘI DERMATO COSMETIC ȘI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTORA

Invenția se referă la obținerea unor noi produse de tip bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan în care sunt încapsulate nanoparticule de argint și extracte vegetale selective obținute din specia *Cyperus rotundus* L., cu aplicații directe în domeniul farmaceutic și dermatocosmetic și la procedeul de obținere al acestora. Produsele de tip bionanostructuri prezintă o compoziție chimică standardizată, eficiență de încapsulare semnificativă, topologie și morfologie de suprafață specifică, stabilitate fizico-chimică și dimensiune nanometrică standardizată, putând fi utilizate pentru transportul și eliberarea controlată, în mod simultan pentru multitudinea de combinații bazate pe nanoparticule metalice și diferiți agenți farmacoterapeutici de sinteză sau de origine vegetală.

Produsele de tip bionanostructuri au la bază nanoparticule de chitosan în care sunt încapsulate extracte vegetale selective standardizate în polifenoli totali, obținute din rizomii speciei *Cyperus rotundus* L., precum și nanoparticule de argint obținute prin bioreducere cu extracte vegetale apoase obținute din aceeași specie menționată mai sus.

*Cyperus rotundus* L. (*nutgrass*) este o plantă perenă comună, aparținând familiei Cyperaceae, originară din Africa de sud și Asia de Sud fiind răspândită și în centrul Europei (la nord de Franța și Austria) [1].

Este cunoscut că specia vegetală *Cyperus rotundus* L. prezintă o serie de proprietăți terapeutice de tip analgezic, astringent, antispasmodic, carminativ, demulcent, emolient, imunostimulant, laxativ, stimulat, tonic, cicatrizant fiind utilizată în prezent în diferite afecțiuni cum ar fi cele gastro-intestinale sau afecțiuni ale pielii (infecții cu furuncul) [2].

Specia vegetală *Cyperus rotundus* L. (*rhizoma*) conține un complex de compuși chimici implicați în mecanisme antiinflamatoare, antipiretice, antidiabetice, antidiareice, citoprotectoare, antimutagene, antibacteriene și antioxidante [3-8].

Este cunoscut faptul că screeningul fitochimic al rizomiilor (*rhizoma*) aparținând speciei *Cyperus rotundus* L. a pus în evidență prezența următoarelor clase de principii active: compuși fenolici, flavonoli glicozidați, polifenoli, saponine, vitamine (vitamina C), sesquiterpenoide,  $\alpha$ -cyperone și ulei esențial [9-11].

Este cunoscut că nanoparticulele de argint prezintă o serie de proprietăți farmacologice fiind eficiente și active în tratarea infecțiilor microbiene, fungice, parazitare și virale ale pielii, ale organelor senzoriale, ale tracturilor digestiv, respirator, urinar și de asemenea în tratarea afecțiunilor sistemului imunitar.

În plus, prezența nanoparticulele de argint contribuie la procesul de reconstrucție a țesuturilor, accelerarea vindecării plăgilor, tratarea arsurilor și ulcerărilor cutanate, precum și diminuarea semnificativă a cicatricelor.

De asemenea s-a demonstrat că nanoparticulele de argint au un rol semnificativ în tratarea dermatitei atopice, a diferitelor tipuri de acnee, acestea fiind de asemenea un veritabil agent antiinfecțios și antifungic prin inhibarea creșterii dermatofitelor [12-14].

Sunt cunoscute aplicațiile biomedicale ale nanoparticulelelor de argint cum sunt: produsele farmaceutice, produsele cosmetice și dermatocosmetice, produsele de igienă și îngrijire, transportul medicamentelor-sisteme de livrare, detecția moleculară, diagnosticul molecular [15-16].

Datorită proprietăților farmacologice și îndeosebi a celor antibacteriene, nanoparticulele de argint, pot fi folosite ca și conservanți eficienți și ecologici în obținerea produselor farmaceutice, dermato cosmetice și a produselor de igienă și îngrijire prin încorporare în compoziția acestora.

Este cunoscută în literatura de specialitate importanța utilizării biopolimerilor în special a chitosanului, în industria farmaceutică precum și în obținerea produselor dermato cosmetice datorită proprietăților biologice specifice precum și a faptului că asigură transportul și eliberarea controlată a substanțelor active, pe o durată de timp bine determinată fiind folosit și la sinteza de nanoparticule polimerice.

Este cunoscută că biopolimerul chitosan este o polizaharidă liniară compusă din unități  $\beta$ -(1-4)-D-glucozamină și N-acetil-D glucozamină, non-toxic, stabil, biodegradabil, biocompatibil, antibacterian, antiinflamator, antidiabetic, antioxidant, care se utilizează în industria farmaceutică, cosmetică și în medicină, ca medicament, supliment alimentar, component al produselor cosmetice sau biomaterial. Există numeroase lucrări privitoare la proprietățile terapeutice ale chitosanului, acesta fiind utilizat pentru tratarea psoriazisului, a cancerului pielii, cicatrizarea suprafețelor de piele arse, a ranilor și a altor traumelor la nivelul pielii [17-18].

### Bibliografie

1. Botanical Society of Britain and Ireland. Original (xls) on 2015-01-25.
2. D.K. Pal, S.Dutta, Evaluation of the Antioxidant activity of the roots and Rhizomes of *Cyperus rotundus* L., Indian J. Pharm.Sci. , 68, p. 256-258, 2006.
3. B. Oliver-Bever, Medicinal Plants in Tropical WestAfrica; Cambridge University Press: Cambridge, UK, p. 200, 1986.
4. A.Puratuchikody, D.C.Nithya, G.Nagalakshmi, Wound Healing Activity of *Cyperus rotundus* Linn. Indian J. Pharm. Sci., 68, p. 97-101, 2006.
5. A.R.Joshi, K. Joshi, Indigenous knowledge and uses of medicinal plants by local communities of the Kali Gandak Watershed Area, Nepal. Ethnopharmacol., 73, p.175-183, 2000.
6. M.C.T. Durate, G.M. Figueira, A. Sartoratto, V.L.G.Rehder, C.Delarmelina, Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plant. J. Ethnopharmacol. 97, 05-311. 2005.
7. A.Puratchikody, C.N.Devi, G. Nagalakshmi, Wound healing activity of *Cyperus rotundus* linn. Indian J Pharm Sci., 68, p. 97-101, 2006.
8. H.Z.Imam, G.Sofi, A.Seikh, A.Lone, The incredible benefits of Nagarmotha (*Cyperus rotundus*). Int J Nutr Pharmacol Neurol Dis., 4,p.23-27, 2014.
9. S. Ranjani Sivapalan, P. Jeyadevan, Physico-Chemical And Phyto-Chemical Study Of Rhizome of *Cyperus rotundus* LINN, International Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Technology (IJPPT), 1(2) , p. 42-46, 2012.
10. K.R.Nagulendran , S.Velavan, R.Mahesh, V. Hazeena Beham, In vitro antioxidant activity and total polyphenolic content of *Cyperus rotundus* rhizomes. E- Journal Of Chemistry, 4(3), p.440-449, 2007.
11. Liang-Liang Zhang, Li-Fang Zhang, Qing-Ping Hu, Dong-Lin Hao, JianGuo Xu, Chemical composition, antibacterial activity of *Cyperus rotundus* rhizomes essential oil against *Staphylococcus aureus* via membrane disruption and apoptosis pathway, Food Control, 80, p.290-296, 2017, doi: 10.1016/j.foodcont.2017.05.016
12. O. Shoseyov, I.Levy, Nano BioTechnology, BioInspired Devices and Materials of the Future. p. 322, 2008. doi:10.1007/978-1-59745-218-2
13. K.J. Kim, Antifungal Effect of Silver Nanoparticles on Dermatophytes. Journal of Microbiology and Biotechnology, 18, p.1482-1484, 2008.
14. F. Noorbakhsh, Antifungal Effects of Silver Nanoparticle Alone and with Combination of Antifungal Drug on Dermatophyte Pathogen *Trichophyton Rubrum*. International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics IPCBEE, 5, p.364-367, 2011.

15. Kenneth K. Y. Wong, Stephanie O. F. Cheung, Liuming Huang, Jun Niu, Chang Tao, Chi-Ming Ho, Chi-Ming Che, and Paul K. H. Tam, Further Evidence of the Anti-inflammatory Effects of Silver Nanoparticles, *ChemMedChem* 4(7), p.1129 – 1135, 2009, doi:org/10.1002/cmdc.200900049
16. I. Popa, I.M. Nicola, V. Ceara, C. Boboc, C. Alexandra Danes, Silver Nanoparticles Synthesis and Applications, *Electrotehnica, Electronica, Automatica (EEA)*, 64(2), p.104-112, 2016.
17. T. Cunha, B. Teixeira, B. Santos, M. Almeida, G. Dias, and J. Neves, "Chitosan-based systems for biopharmaceuticals: delivery, targeting and polymer therapeutics," in Chapter 5. Biological and Pharmacological Activity of Chitosan and Derivatives, B. Sarmiento and J. Neves, Eds., Wiley, 2012.
18. Inmaculada Aranaz, Niuris Acosta, Concepción Civera, Begoña Elorza, Javier Mingo, Carolina Castro, María de los Llanos Gandía, Angeles Heras Caballero, *Cosmetics and Cosmeceutical Applications of Chitin, Chitosan and Their Derivatives, Polymers*, 10, p.213; 2018, doi:10.3390/polym10020213

Sunt cunoscute precedee de obținere a produselor de tip bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan, cum ar fi: procesele de sinteză sol-gel, emulsificarea și difuzia solventului, reticularea cu diferiți agenți de reticulare, gelarea ionică, evaporarea solventului, nanoprecipitarea, dializa, tehnologia fluidului supercritic.

Produsele cunoscute și procedeele de obținere a acestora prezintă o serie de dezavantaje cum ar fi: stabilitatea redusă în timp a nanoparticulelor de chitosan, dimensiuni nestandardizate în cazul produselor și existența unor aspecte legate de toxicitatea solventilor utilizați și costuri ridicate, în cazul procedeeilor.

Problema tehnică pe care o rezolva invenția constă în aceea că se obțin produse de tip bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan, în care sunt încapsulate nanoparticule de argint și extracte vegetale selective standardizate în polifenoli totali, obținute din specia *Cyperus rotundus* L. (*rhizoma*), care prezintă stabilitate fizico-chimică, topologie și morfologie de suprafață specifică și dimensiune nanometrică standardizată, cu posibilitatea utilizării acestora ca produse farmaceutice, cosmetice și dermato-cosmetice, printr-un procedeu special conceput care să permită încapsularea eficientă a componentelor sistemului (nanoparticule de argint și extracte vegetale selective).

Produsul conform invenției este constituit prin combinarea optimă a trei componente soluție de chitosan: nanoparticule de argint: extract vegetal selectiv standardizat în polifenoli totali, într-un raport de asociere, părți în volum de 3:1:2 (v/v/v) și omogenizarea acestora prin ultra-mixare cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 2...5 minute la viteza de 600... 1000 rot/min, etapă urmată de procesul de gelare ionică.

Procedeele de obținere a celor trei componente este următorul:

- Soluția de chitosan este obținută prin solubilizare realizată prin procesul de ultrasonare timp de 20...40 minute, urmată de dizolvare sub agitare magnetică timp de 3...4 ore la temperatură cuprinsă între 30...40°C
- Extracte selective standardizate în polifenoli totali, obținute din specia vegetală *Cyperus rotundus* L. (*rhizoma*), care se prezintă sub formă lichidă, cu miros și culoare caracteristice, sunt obținute în urma procesului de extracție clasică solid – lichid a materialului vegetal uscat și macinat, utilizând solvent alcool etilic 70...85 %(v), în raport material vegetal: solvent = 1:10...1:20 (m/v) la temperatura de reflux a solventului timp de 2...3 h, în 3...4 cicluri extractive, urmat de staționare la temperatură scăzută de 4 °C, filtrarea la vid pe hartie de filtru industrială ultra-pură cu un conținut de  $\alpha$ -celuloza 100%, netratată chimic, reunirea filtratelor și

prelucrarea acestora prin concentrare la vid sub presiune redusă cuprinsă între 1.1...1.3 kPa la o temperatură cuprinsă între 30...50 °C

- Nanoparticulele de argint cu dimensiune standardizată a volumului hidrodinamic de 56.18...62.55nm care se obțin prin aplicarea tehnologiei de biosinteză realizată prin reacția de reducere a soluțiilor apoase de nitrat de argint de diferite concentrații (de ordin milimolar) în prezența extractelor vegetale apoase obținute din specia *Cyperus rotundus* L.(*rhizoma*), printr-un proces care constă în extracția clasică solid – lichid a materialului vegetal uscat și macinat, utilizând solvent apa ultrapură în raport material vegetal: solvent = 1:10...1:15 (m/v) la temperatura de reflux a solventului timp de 3...4 h, urmat de staționare la temperatură scăzută de 4 °C, centrifugare, filtrarea la vid pe hârtie de filtru industrială ultra-pură cu un conținut de  $\alpha$ -celuloza 100%

**Procedeul conform invenției înlătură dezavantajele produselor cunoscute prin aceea că** produsele de tip bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan, în care sunt încapsulate extracte vegetale selective standardizate în polifenoli totali, obținute din specia *Cyperus rotundus* L.(*rhizoma*) și nanoparticule de argint, prezintă stabilitate fizico-chimică în timp, aplicabilitate extinsă în domeniul farmaceutic și cosmetic conferită prin proprietățile fizico chimice standardizate, demonstrate prin investigare prin tehnică DLS (Dynamic Light Scattering) și anume: dimensiuni de particule cuprinse între 193...198 nm, cu indice de polidispersie cuprins între 0.315 ...0.433 și potențial zeta cuprins între 23...26 mV. Deasemenea este demonstrată eficiența de încapsulare, acesta fiind cuprinsă între 75...89% pentru extractul vegetal și între 68...74% pentru nanoparticulele de argint precum și topologie și morfologie de suprafață specifică, determinată prin AFM microscopie de forță atomică (figura 1).

**Procedeul conform invenției înlătură dezavantajele procedeelor cunoscute prin aceea că** se realizează o sinteză a produselor de tip bionanostructuri, care constă în procesul de gelare ionică, etapa precedată de obținerea celor trei componente, urmată de combinarea optimă a acestora: soluție de chitosan:nanoparticule de argint:extracte vegetale selective obținute din specia *Cyperus rotundus* L.(*rhizoma*) într-un raport de asociere, părți în volum de 3:1:2 (v/v/v) și omogenizarea acestora prin ultra-mixare cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 2...5 minute la viteza de 600... 1000 rot/min, urmata de operația de ajustare a pH-ului prin adăugarea de soluție de NaOH 1M, adăugarea soluției de agent de reticulare ionică tripolifosfat de sodiu, proces realizat în mod constant și uniform cu un debit de 20...50  $\mu$ l/s cu ajutorul unei instalații de tip Syringe Pump Systems, cu un raportul de combinare între amestecul rezultat din cele trei componente și agentul de reticulare cuprins între 5:1...10:1 (v/v), după care procesul de gelare se realizează timp de 180...240 de minute, sub agitare magnetică la 300 rpm, urmat de centrifugarea soluției obținute la viteza de 8000 rpm la temperatura de -10°C timp de 15...20 minute, rezultând produse de tip de tip bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan, în care sunt încapsulate nanoparticule de argint și extracte vegetale selective standardizate în polifenoli totali, obținute din specia *Cyperus rotundus* L.(*rhizoma*), cu proprietăți fizico-chimice standardizate.

Avantajele produselor de tip bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan, în care sunt încapsulate nanoparticule de argint și extracte vegetale selective standardizate în polifenoli totali, obținute din specia *Cyperus rotundus* L.(*rhizoma*), conform invenției constau în aceea că:

- prezintă o eficiență de încapsulare ridicată
- topologie și morfologie de suprafață specifică

- prezenta dimensiuni nanometrice standardizare, stabilitate fizico-chimică a nanoparticulelor și aplicabilitatea largă în domeniul farmaceutic și dermatocosmetic.
- este practic netoxic fiind obținut prin sinteza nepoluantă și solvenți lipsiti de toxicitate.

Avantajele procedurii de obținere a produselor de tip bionanostructuri cu eficiență de încapsulare ridicată, dimensiuni nanometrice standardizare, stabilitate fizico-chimică și topologie și morfologie de suprafață specifică, conform invenției, constau în aceea că produsele sunt obținute prin procesul de gelare ionică realizat prin adăugarea de soluție de agent de reticulare ionică tripolifosfat de sodiu, peste amestecul rezultat din cele trei componente, printr-o tehnologie nepoluanta, economică, rapidă care conduce la obținerea unor noi produse de tip bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan, în care sunt încapsulate nanoparticule de argint și extracte vegetale selective standardizate în polifenoli totali, obținute din specia *Cyperus rotundus* L. (*rhizoma*).

Rezultatele testării caracteristicilor fizico-chimice ale produselor de tip bionanostructuri realizat în urma elaborării procedurii de gelare ionică, permit utilizarea simultană ca bioprodus produs farmaceutic și dermato cosmetice cu înalt potențial terapeutic.

Se prezintă în continuare un exemplu de realizare a invenției.

#### **Obținerea soluției de chitosan**

Biopolimerul chitosan de diferite concentrații, cuprise între 1.2...2.1 mg/mL, s-a dizolvat în soluții de acid acetic de concentrație cuprinsă între 1.75... 3.5 % (v/v).

Soluția de chitosan astfel obținută a fost supusă operației de ultrasonare timp de 20...40 minute și urmată de dizolvare sub agitare magnetică timp de 3...4 ore la temperatură cuprinsă între 30...40°C

#### **Obținere extractelor vegetale selective obținute din specia vegetala *Cyperus rotundus* L (*rhizoma*).**

Materialul vegetal 300 g/proba, uscat și maruntit, se extrage în solvent alcool etilic de concentrație 70...85 % (v), raportul material vegetal: solvent având valori cuprinse între 1:10...1:20 (m/v).

Înainte de a fi supus procesului de extracție solid-lichid, amestecul material vegetal-solvent este ultrasonat timp de 20...40 minute, la temperatură cuprinsă între de 20...50°C.

Timpul de extracție este de 2...3 h, la temperatura de reflux a solventului. Extractul se răcește la temperatura de +4°C și se filtrează pe hartie de filtru industrială ultra-pură cu un conținut de  $\alpha$ -celuloza 100%.

Soluțiile hidro alcoolice obținute în urma celor 3...4 cicluri de extracție, se reunesc și se supun concentrării la vid, în rapoarte de concentrare diferite cuprinse între 1:2...1:6 (v/v), față de filtratul total, până la obținerea unui extract concentrat de culoare brun galbui. Operația de concentrare la vid se realizează la presiune redusă cuprinsă între 1.1...1.3 kPa la o temperatură de 30... 50°C, utilizând un rotovapor tip Digital Rotary Evaporator RE100, prevăzut cu baie de apă termostată.

Astfel, se obține extractului vegetal selectiv cu un conținut de polifenoli totali cuprins între 4. 83...8.85% exprimat în acid galic.

## Biosinteza nanoparticulelor de argint

### a) Obținerea extractelor apoase

Materialul vegetal constituit din rhizomii speciei *Cyperus rotundus* L. 100 g/proba, uscat și maruntit, se extrage în solvent apa ultrapură, raportul material vegetal: solvent având valori cuprinse între 1:10...1:15 (m/v). Extracția se realizează prin metoda clasică solid – lichid la temperatura de reflux a solventului timp de 3...4 h, proces urmat de staționare la temperatură scăzută de 4 °C, centrifugare la 3000 rpm, timp de 20...30 minute, la temperatura camerei, filtrare la vid pe hartie de filtru industrială ultra-pură cu un conținut de  $\alpha$ -celuloză 100%

### b) Obținerea nanoparticulelor de argint

Nanoparticulelor de argint se obțin prin aplicarea tehnologiei de sinteză care se realizează prin reacția de reducere a soluțiilor apoase de nitrat de argint de diferite concentrații 0.6...1.4 mM în prezența extractelor vegetale apoase obținute din specia *Cyperus rotundus* L. (*rhizoma*), raportul volumic dintre extractul vegetal apos selectat și soluțiilor de nitrat de argint fiind de 1:32...1:40 (v/v).

Nanoparticulelor de argint sunt evaluate din punct de vedere al dimensiunii și al stabilității în timp, pe durata a 12 luni, prin tehnică de difuzie dinamică a luminii.

Astfel, se obțin nanoparticulelor de argint având dimensiune standardizată a volumului hidrodinamic de 56.18...62.55nm, determinate prin difuzia dinamică a luminii.

### Obținere produselor de tip bionanostructuri

Produsele de tip **bionanostructuri**, sunt obținute prin combinarea optimă a trei componente: soluție de chitosan:nanoparticule de argint:extracte vegetale selective obținute din specia *Cyperus rotundus* L. (*rhizoma*) într-un raport de asociere, părți în volum de 3:1:2 (v/v/v) și omogenizarea acestora prin ultra-mixare cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 2...5 minute la viteza de 600... 1000 rot/min, urmată de operația de ajustare a pH-ului la o valoare cuprinsă între 4.5...5.2 prin adăugarea de soluție de NaOH 1M, adăugarea soluției de agent de reticulare ionică tripolifosfat de sodiu de concentrație cuprinsă între 0.25...1.75 mg/mL, proces realizat în mod constant și uniform cu un debit de 20...50  $\mu$ l/s cu ajutorul unei instalații de tip Syringe Pump Systems, cu un raportul de combinare între amestecul rezultat din cele trei componente și agentul de reticulare cuprins între 5:1...10:1 (v/v), după care procesul de gelare se realizează timp de 180...240 de minute, sub agitare magnetică la 300 rpm, urmat de centrifugarea soluției obținute la viteza de 8000 rpm la temperatura de -10°C timp de 15...20 minute, rezultând produse de tip de tip bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan, în care sunt încapsulate nanoparticule de argint și extracte vegetale selective standardizate în polifenoli totali, obținute din specia *Cyperus rotundus* L. (*rhizoma*), cu proprietăți fizico-chimice standardizate.

Produsele de tip bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan, în care sunt încapsulate nanoparticule de argint și extracte vegetale selective standardizate în polifenoli totali, obținute din specia *Cyperus rotundus* L. (*rhizoma*), prezintă dimensiune standardizată a acestora având volumul hidrodinamic de 193...198 nm cu indice de polidispersie cuprins între 0.315 ...0.433 și stabilitate fizico-chimică având potențialul zeta 23...26 mV, determinate prin difuzia dinamică a luminii, precum și topologie și morfologie de suprafață specifică determinată prin AFM microscopie de forță atomică (figura 1). Rezultatele evaluării eficienței de încapsulare, demonstrează valori semnificative acestea fiind cuprinse între 75...89% pentru extractul vegetal selectiv și valori cuprinse între 68...74% pentru nanoparticulele de argint.



## REVENDICĂRI

1. Produsele bionanostructuri pe bază de chitosan și nanoparticule de argint, **caracterizate prin aceea că**, prezintă dimensiuni nanometrice standardizate, stabilitate fizico-chimică cu dimensiuni de particule cuprinse între 193...198nm, indice de polidispersie cuprins între 0.315...0.433 și potențial zeta cuprins între 23...26 mV și topologie și morfologie de suprafață specifică.
2. Produsele bionanostructuri pe bază de chitosan și nanoparticule de argint, conform revendicării 1, **caracterizate prin aceea că**, sunt constituite din nanoparticule de chitosan în care sunt încapsulate nanoparticule de argint și extracte vegetale selective, obținute din specia *Cyperus rotundus* L. *rhizoma* și prezintă o eficiență de încapsulare, cuprinsă între 75...89% pentru extractul vegetal selectiv și o eficiență de încapsulare, cuprinsă între 68...74% pentru nanoparticulele de argint a căror dimensiune standadizata a volumului hidrodinamic este cuprinsă între 56.18...62.55nm .
3. Procedeu de obținere a produselor bionanostructuri pe bază de chitosan și nanoparticule de argint, conform revendicării 1,2 **caracterizat prin aceea că**, se obțin prin combinarea optima a: soluției de chitosan:nanoparticulelor de argint:extracte vegetale selective obținute din rizomii specie *Cyperus rotundus* L. într-un raport de asociere, părți în volum de 3:1:2 (v/v/v) și omogenizarea prin ultra-mixare cu un echipament de tip Ultra-Turrax Digital High-Speed, timp de 2...5 minute la viteza de 600... 1000 rot/min a celor trei componente:

Soluție de chitosan este obținută prin solubilizarea realizata prin procesul de ultrasonare timp de 20...40 minute, urmată de dizolvare sub agitare magnetică timp de 3...4 ore la temperatură cuprinsă între 30...40°C

Extracte selective standardizate cu un continut de polifenoli totali de 4.83...8.85% exprimat în acid galic, obținute din rizomii specie vegetale *Cyperus rotundus* L., care se prezintă sub forma lichida, cu miros și culoare caracteristice, sunt obținute în urma procesului de extractia clasică solid – lichid a materialului vegetal uscat și macinat, utilizand solvent alcool etilic 70...85 %(v), în raport material vegetal: solvent = 1:10...1:20 (m/v) la temperatura de reflux a solventului timp de 2...3 h, în 3...4 cicluri extractive, urmat de stationare la temperatură scăzută de 4 °C, filtrarea la vid pe hartie de filtru industrială ultra-pura cu un continut de  $\alpha$ -celuloza 100%, netratată chimic, reunirea filtratelor și prelucrarea acestora prin concentrare la vid sub presiune redusă cuprinsă între 1.1...1.3 kPa la o temperatură cuprinsă între 30...50 °C

Nanoparticulele de argint cu dimensiuni ale volumului hidrodinamic cuprins între 56.18...62.55nm se obțin prin aplicarea tehnologiei de biosinteza realizata prin reacția de reducerea a soluțiilor apoase de nitrat de argint de diferite concentrații (de ordin milimolar) în prezenta extractelor vegetale apoase obținute din specia *Cyperus rotundus* L., printr-un proces care constă în extractia clasică solid – lichid a materialului vegetal uscat și macinat, utilizand solvent apa ultrapura în raport material vegetal: solvent = 1:10...1:15 (m/v) la temperatura de reflux a solventului timp de 3...4 h, urmat de stationare la temperatură scăzuta de 4 °C, centrifugare, filtrarea la vid pe hartie de filtru industrială ultra-pura cu un continut de  $\alpha$ -celuloza 100%.

4. Procedeu de obținere a produselor bionanostructuri pe bază de chitosan și nanoparticule de argint, conform revendicării 3, **caracterizat prin aceea că**,



procesul de omogenizarea a celor trei componente soluție de chitosan:nanoparticule de argint:extracte vegetale selective obținute din specia *Cyperus rotundus* L.(rhizoma) este urmat de operația de ajustare a pH-ului la o valoare cuprinsă între 4.5...5.2 prin adăugarea de soluție de NaOH 1M, adăugarea soluției de agent de reticulare ionică tripolifosfat de sodiu de concentrație cuprinsă între 0.25...1.75 mg/mL, proces realizat în mod constant și uniform cu un debit de 20...50  $\mu$ l/s cu ajutorul unei instalații de tip Syringe Pump Systems, cu un raportul de combinare între amestecul rezultat din cele trei componente și agentul de reticulare cuprins între 5:1...10:1 (v/v), după care procesul de gelare se realizează timp de 180...240 de minute, sub agitare magnetică la 300 rpm, urmat de centrifugarea soluției obținute la viteza de 8000 rpm la temperatura de  $-10^{\circ}\text{C}$  timp de 15...20 minute, rezultând produse de tip bionanostructuri pe bază de nanoparticule de chitosan, în care sunt încapsulate nanoparticule de argint și extracte vegetale selective standardizate în polifenoli totali, obținute din specia *Cyperus rotundus* L.(rhizoma), cu proprietăți fizico-chimice standardizate.

DESEN FIGURA 1

