



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2023 00014**

(22) Data de depozit: **17/01/2023**

(41) Data publicării cererii:  
**30/05/2023** BOPI nr. **5/2023**

(71) Solicitant:  
• **INSTITUTUL DE CHIMIE FIZICĂ "ILIE MURGULESCU" AL ACADEMIEI ROMÂNE, SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.202, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:  
• **TUĐOȘE MĂDĂLINA, CALEA 13 SEPTEMBRIE NR.235, BL.V 3, SC.1, ET.3, AP.14, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO**

(54) **METODĂ DE OBTINERE A UNOR BIOMATERIALE PE BAZĂ DE DIOXID DE TITAN ȘI NANOPARTICULE METALICE CU TOXICITATE REDUSĂ ȘI ACTIVITATE ANTIMICROBIANĂ CRESCUTĂ**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor biomateriale pe bază de dioxid de titan și nanoparticule metalice pentru aplicații biologice. Procedeu, conform invenției, constă în etapa de sinteză din materii prime nanoparticule de dioxid de titan și azotat de argint sau acid tetracloroauric în solvent apă distilată, se adaugă ca agent reducător un derivat aminat de acid hialuronic pentru stabilizarea nanoparticulelor metalice depuse pe

dioxidul de titan, după care reacția se lasă la temperatura camerei timp de 24 h, urmează separarea prin decantare și spălare cu apă, rezultând un material biodegradabil cu activitate antimicrobiană crescută și toxicitate scăzută asupra celulelor umane.

Revendicări: 5



**Metodă de obținere a unor biomateriale pe bază de dioxid de titan și nanoparticule  
metalice cu toxicitate redusă și activitate antimicrobiană crescută**

Autor: Mădălina Tudose

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI
Cerere de brevet de Invenție
Nr. a 2023 00014
Data depozit ..... 17-01-2023

Această invenție prezintă detaliile de obținere a unor materiale avansate folosind un procedeu simplu și rapid pornind de la dioxidul de titan (nanoparticule) și azotatul de argint sau acidul tetracloroauric. Procedeeul respectă criteriile și recomandările privind folosirea unor sinteze verzi, implicând acidul hialuronic (polizaharidă naturală, cu avantaje de bună biodegradabilitate și non-toxicitate) și tehnici care nu afectează mediul.

Obținerea unor materiale cu aplicații biologice în scopul reducerii toxicității și creșterii potențialului antimicrobian reprezintă un obiectiv de interes major în dezvoltarea unor noi procedee/tehnologii simple, fără impact negativ asupra mediului, utilizând ca materii prime produse deja disponibile.

Dioxidul de titan s-a dovedit a fi cel mai potrivit datorită faptului că este larg răspândit, nu este toxic, este stabil din punct de vedere chimic, inert și ieftin [1]. Aceste nanoparticule de dioxid de titan au stârnit interes în multe domenii, de la cataliză, unde pot funcționa ca fotocatalizator pentru a degrada moleculele organice [2], până la cel medical, unde pot fi folosite ca instrument pentru prevenirea contaminării bacteriene și pentru dezinfecție [3]. De asemenea, făcând referire la nanoparticulele metalice, argintul este cunoscut de secole pentru sterilizarea apei și conservarea alimentelor, deci cu mult înainte să fie aprobat oficial pentru uz medical. Această aprobare datează din 1920, când argintul coloidal a fost acceptat de către **Food and Drug Administration** (FDA) în SUA ca agent antibacterian pentru terapia rănilor [4]. Recent, potențialul antitumoral al nanoparticulelor metalice a atras atenția cercetătorilor prin efectul citotoxic al nanoparticulelor asupra diferitelor tipuri de celule tumorale. În ciuda faptului că aceste nanoparticule metalice pot funcționa ca agenți antimicrobieni, ele pot fi toxice pentru celulele umane [5]. Pentru a evita această toxicitate, acestea pot fi combinate cu biomolecule, pentru a le îmbunătăți biocompatibilitatea [6] și eficacitatea antimicrobiană.

Polizaharidele sunt biomolecule care în ultima vreme au fost din ce în ce mai folosite ca alternative naturale la agenții chimici tradiționali de reducere și sinteză, oferind multiple

beneficii ca: agenți de protecție care scad toxicitatea nanoparticulelor metalice asupra celulelor umane, stabilizatori și amplificatori ai proprietăților antimicrobiene ale nanoparticulelor metalice [7]. O astfel de polizaharidă naturală este acidul hialuronic care se cunoaște din literatură că sporește biocompatibilitatea nanoparticulelor metalice prin reducerea toxicității acestora asupra celulelor umane. De asemenea, în sinteza biomaterialelor, această biomacromoleculă poate juca rol de agent reducător [7, 8] pentru sarea metalică corespunzătoare, generând nanoparticule stabile cu o dispersie bună.

Cercetări anterioare au demonstrat că nanoparticulele metalice depuse pe nanoparticulele de dioxid de titan ( $\text{Ag/TiO}_2$  și  $\text{Au/TiO}_2$ ) pot fi obținute prin diferite metode de sinteză ca sol-gel, electrofilare, impregnare, metoda de reducere [9] etc. Metoda de reducere constă în absorbția precursorilor sărurilor metalice pe suprafața  $\text{TiO}_2$  pentru ca apoi ionii de  $\text{Au}^{3+}/\text{Ag}^+$  să fie reduși la forma metalică  $\text{Au}^0/\text{Ag}^0$  cu agenți reducători toxici, cunoscuți în literatură ca borohidrua de sodiu, hidrazina hidrat [9] și alții. Pe lângă aceștia, metoda presupune și utilizarea unor stabilizatori de genul surfactanților (de exemplu, bromură de cetrimoniu, CTAB) [3, 9] necesari pentru a menține stabilitatea coloidală, de altfel și aceștia cunoscuți ca având o toxicitate ridicată. Astfel, odată cu creșterea necesității de protecție a mediului, s-a făcut remarcată nevoia ca materialele utilizate în obținerea nanoparticulelor metalice pe dioxid de titan să fie produse naturale, precum polizaharidele. Un exemplu în acest sens este acidul hialuronic și derivații lui care pot funcționa atât ca agenți reducători, cât și ca stabilizatori.

În aceste condiții, procedeul descris de prezenta invenție este simplu, decurgând într-o singură etapă, nu folosește compuși toxici sau corozivi, este rapid scalabil la cantități mari și mai ales este ieftin.

*Soluția propusă rezolvă într-o manieră simplă și elegantă mai multe probleme, cum ar fi:*

- materii prime scumpe sau rare (se folosesc acidul hialuronic și precursorii sărurilor metalice, produse disponibile);
- utilizarea unor compuși toxici (compușii folosiți nu sunt toxici);
- utilizarea solvenților organici (se folosește apa ca solvent);
- tratamente chimice complicate (o singură etapă de sinteză);
- tehnologii poluante (nu se folosesc compuși corozivi/poluanți), sau care produc reziduuri (nu se formează compuși secundari);

- reproductibilitate perfectă și scalabilitate (aceiași rezultat se obține lucrând pe cantități diferite).

**Procedul conform invenției prezintă următoarele avantaje:**

- ✓ agent reducător/stabilizator biocompabil (un derivat al acidului hialuronic);
- ✓ protocol de sinteză simplu, utilizând apa ca solvent;
- ✓ o singură etapă de sinteză;
- ✓ temperatura camerei;
- ✓ separarea biomaterialului se poate face prin simpla decantare și spălare cu apă;
- ✓ nu este necesară o condiționare ulterioară a materialului;
- ✓ proprietățile biomaterialului funcționalizat pot fi modificate prin simpla schimbare a unor condiții de lucru (temperatura, timpul de reacție);
- ✓ reproductibilitate perfectă.

*În continuare se prezintă două exemple de realizare a invenției:*

**Exemplul I**

50 mg de nanoparticule de  $\text{TiO}_2$  (dioxid de titan) în 100 ml apă distilată se agită la temperatura camerei. Sub agitare se adaugă 200 mg de azotat de argint ( $\text{AgNO}_3$ ) și 400 mg de derivat aminat de acid hialuronic ( $\text{HA-NH}_2$ ), iar apoi se lasă la incubat 24 h la  $50^\circ\text{C}$ . A doua zi se separă, se spală cu apa distilată și se lasă la uscat.

**Exemplul II**

Într-un pahar Berzelius soluția formată din 15 mg de  $\text{HAuCl}_4$  (acid tetracloroauric) în 90 mL apă distilată se încălzește până la fierbere. În momentul fierberii se adaugă 170 mg de derivat aminat de acid hialuronic ( $\text{HA-NH}_2$ ) și după primele 10 minute se observă cum soluția își schimbă culoarea din galben în roz, care la final virează în roșu. Separat, în alt pahar se pun în 100 ml apă distilată 50 mg de nanoparticule de  $\text{TiO}_2$  și sub agitare se adaugă soluția de culoare roșie făcută în prima etapă. Reacția se lasă la temperatura camerei 24 h, până a doua zi când a fost separată, spălată cu apă distilată și uscată.

**Referințe bibliografice**

- [1] H. Shi, R. Magaye, V. Castranova, J. Zhao, Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data, *Particle and Fibre Toxicology* 10 (2013).
- [2] M. Rocha, C. Pereira, C. Freire, Au/Ag nanoparticles-decorated TiO<sub>2</sub> with enhanced catalytic activity for nitroarenes reduction, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 621 (2021) 126614.
- [3] X. H. Yang, H. T. Fu, X. C. Wang, J. L. Yang, X. C. Jiang, A. B. Yu, Synthesis of silver-titanium dioxide nanocomposites for antimicrobial applications, *Journal of Nanoparticles Research* 16 (2014) 2526.
- [4] C. Rigo, L. Ferroni, I. Tocco, M. Roman, I. Munivrana, C. Gardi, W.R.L. Cairns, V. Vindigni, B. Azzena, C. Barbante, B. Zavan, Active Silver Nanoparticles for Wound Healing, *International Journal of Molecular Science* 14 (2013) 4817-4840.
- [5] D. F. Báez, E. G. Toledo, M. P. Oyarzún, E. Araya, M. J. Kogan, The Influence of size and chemical composition of silver and gold nanoparticles on in vivo toxicity with potential applications to central nervous system diseases, *International Journal of Nanomedicine* 16 (2021) 2187–2201.
- [6] X. Zhang, M. Yao, M. Chen, L. Li, C. Dong, Y. Hou, H. Zhao, B. Jia, Fan Wang, Hyaluronic acid-coated silver nanoparticles as a nanoplatform for in vivo imaging applications, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 8 (2016) 25650–25653.
- [7] J. Liang, F. Zeng, M. Zhang, Z. Pan, Y. Chen, Y. Zeng, Y. Xu, Q. Xu, Y. Huang, Green synthesis of hyaluronic acid-based silver nanoparticle and its enhanced delivery to CD44<sup>+</sup> Cancer Cells, *RSC Adv.* (2015) DOI:10.1039/C5RA03083H.
- [8] G. Ferreres, S. Pérez-Rafael, J. Torrent-Burgués, T. Tzanov, Hyaluronic acid derivative molecular weight-dependant synthesis and antimicrobial effect of hybrid silver nanoparticles, *International Journal of Molecular Science* 22 (2021) 13428.
- [9] S. Angkaew, P. Limsuwan, Preparation of silver-titanium dioxide core-shell (Ag@TiO<sub>2</sub>), nanoparticles: Effect of Ti-Ag mole ratio, *Procedia Engineering* 32 (2012) 649–655.

### Revendicări

1. Procedeu de obținere a unor biocompozite, caracterizat prin aceea că se obține într-o etapă unică de sinteză, respectând criteriile chimiei verzi, fiind astfel sustenabil, nepoluant, rapid și ieftin de obținut.
2. Obținerea materialelor este caracterizată prin aceea ca are loc simultan;
3. Etapele de sinteză sunt de impregnare și reducere, caracterizate prin aceea că utilizează apa ca solvent, la temperatura camerei, iar ca materii prime dioxidul de titan, azotat de argint, acidul teracloroauric și un derivat de acid hialuronic.
4. Derivatul aminat de acid hialuronic este obținut din acidul hialuronic și etilendiamina și este utilizat pentru prima dată ca agent reductor și stabilizator al nanoparticulelor metalice depuse pe dioxidul de titan.
5. Biomaterialele astfel obținute au potențial biologic, caracterizându-se prin activitate antimicrobiană crescută și o toxicitate scăzută asupra celulelor umane.