



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2021 00754

(22) Data de depozit: 07/12/2021

(41) Data publicării cererii:
30/06/2023 BOPI nr. 6/2023

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
METALE NEFEROASE ȘI RARE - IMNR,
BD.BIRUIȚEI NR.102, PANTELIMON, IF,
RO

(72) Inventatori:
• TUDOR IOAN ALBERT, ȘOS.COLENTINA,
NR.53, BL.59, SC.D, ET.10, AP.158,
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;

• PITICESCU ROXANA MIOARA,
ȘOS.NICOLAE TITULESCU NR.155, BL.21,
SC.C, ET.2, AP.90, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;
• SLOBOZEANU ANCA ELENA,
STR.DR. CONSTANTIN ISTRATI, NR.3,
CÂMPINA, PH, RO;
• POPESCU DIANA MIHAELA,
STR. CORMORANULUI, NR.23,
PANTELIMON, IF, RO

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A UNOR SUSPENSII STABILE
PE BAZĂ DE NANOPARTICULE DE ZnO
PENTRU OBTINEREA DE HIDROGELURI CU APLICAȚII
ÎN TRATAMENTUL PLĂGILOR INFECTATE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor hidrogeluri pe bază de nanoparticule de ZnO și extracte de plante utilizate pentru fabricarea pansamentelor medicale. Procedeu, conform invenției, constă în etapele: sinteza hidrotermală a pulberii de ZnO cu dimensiuni hidrodinamice ale particulelor sub 100 nm, uscare prin pulverizare sau la etuvă, dispersia prin agitare mecanică urmată de ultrasonare într-o suspensie

apoasă cu concentrația de 20...30% surfactat non-ionic comercial, rezultând suspensii stabile cu potențial zero și polidispersie redusă, cu viabilitate celulară de peste 50% indiferent de diluția suspensiilor.

Revendicări: 1
Figuri: 2



Procedeu de obținere a unor suspensii stabile pe bază de nanoparticule de ZnO pentru obținerea de hidrogeluri cu aplicații în tratamentul plăgilor infectate

24

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor hidrogeluri pe bază de nanoparticule de ZnO și extracte de plante utilizate la obținerea de pansamente cu aplicații în vindecarea rănilor și profilaxia infecțiilor.

Vindecarea rănilor este definită ca o succesiune de procese complexe care implică diferiți compuși, mediatori solubili, celule sanguine, matrice extracelulare și celule parenchimele. Pentru tratarea rănilor sunt folosite tratamente locale sau la nivel sistemic. Tratamentele se bazează pe diferiți agenți cum ar fi: antibiotice și antiseptice, agenți de îndepărtarea a crustei (de ex, apa oxigenată), eusol și unguente cu collagenază, promotori de vindecare a rănilor, grefe de țesuturi, vitamine, minerale și extracte vegetale [1, 2].

Kumar și colaboratorii [3, 4] au raportat obținerea unui nanocompozit antibacterian pe baza de chitina și oxid de zinc (ZnO) pentru fabricarea pansamentelor medicale, pornind de la proprietățile antiseptice și antifungice ale nanoparticulelor de ZnO. Ca medicament pentru vindecarea rănilor s-au utilizat antibiotice dar utilizarea abuzivă și de lungă durată a acestora a făcut ca diferiți agenți patogeni să devină rezistenți la medicamente [5].

Pentru vindecarea rănilor, hidrogelurile asigură o bună sigilare a zonei afectate împotriva pătrunderii agenților patogeni, reduc pierderea de lichide de la suprafața rănii și promovează proliferarea fibroblastelor și restructurarea collagenului și pot îngloba numeroase materiale sub formă de pulberi (formare de compozite) și compuși chimici cu rol în vindecare și protecție la infecții [6].

Yadolahi și colaboratorii [7] au încărcat ZnO în matricea de hidrogel de carboximetilceluloză (CMC) pentru formarea in situ a nanocompozitului. A fost raportată obținerea unui film flexibil nanocompozit pe bază de nanoparticule de ZnO impregnate cu silice mezoporoasă ca nano-purtător de medicamente în hidrogel de CMC [8].

Compușii vegetali obținuți prin diferite procedee de extracție sprijină procesul de vindecare a rănilor prin diferite mecanisme cum ar fi: promovarea coagulării sângelui, prevenirea infecțiilor prin scăderea numărului de bacterii, stimularea producției de collagen, creșterea fibroblastelor și a fibrocitelor, aportul de proteine. Studii din literatura de specialitate au arătat că plantele medicinale îmbunătățesc vindecarea rănilor în rănilor diabetice, infectate și deschise.

Principala problemă în obținerea de hidrogeluri conținând oxid de zinc nanostructurat și extracte din plante medicinale cu rol antibiotic este legată de compatibilitatea între componente și stabilitatea

acestora în hidrogel, astfel încât să nu apară separări ale acestora și să se asigure tratamentul plăgilor infectate cu o durată de utilizare care să nu afecteze confortului pacientului.

Prezenta invenție elimină dezavantajele menționate prin utilizarea unei metode de sinteză facilă a unor suspensii stabile pe bază de nanoparticule de ZnO care nu prezintă cito-toxicitate și care pot fi utilizate la obținerea de hidrogeluri pentru tratamentul plăgilor infectate.

Tabelul 1 prezintă rezultatele măsurătorilor diametrului hidrodinamic (D), polidispersității (Pdi) și potențialului Zeta pentru suspensiile analizate

Figurile atașate reprezintă:

Figura 1: Variația viabilității celulare în timp pentru linia celulară nHDF

Figura 2: Variația viabilității celulare în timp pentru linia celulară MSC

Se prezintă în continuare un exemplu de realizare a invenției fără ca acesta să limiteze utilizarea acestui procedeu în domeniul tehnic propus.

Exemplul 1.

Pulberile de oxid de zinc nanostructurat au fost obținute prin sinteză hidrotermală timp de 2 ore la 100 atm și 200°C și uscate prin pulverizare sau în etuvă. Pulberile au o morfologie controlată, cu formă și compoziție chimică omogenă, fiind utilizate pentru obținerea de suspensii stabile. Pentru a controla dispersia nanoparticulelor a fost utilizat un surfactant non-ionic comercial TWEEN 80, cunoscut și sub denumirea de polisorbitat 80 (C₆₄H₁₂₄O₂₆) sau polioxietilen sorbitan monooleat, utilizat ca emulgator în alimente industria farmaceutică și cosmetică, în loțiuni, preparate medicale [9]. Au fost preparate suspensii apoase conținând dispersant TWEEN 80 în concentrații 20%, 25% și 30% în care au fost dispersate 0,1 g și 0,05 g nanoparticule de ZnO prin agitare magnetică urmată de ultrasonare. Stabilitatea suspensiilor a fost analizată prin măsurarea dimensiunilor hidrodinamice medii, polidispersității și ale potențialului zeta al nanoparticulelor dispersate utilizând metoda împrăștierii dinamice a luminii (DLS). Tabelul 1 prezintă rezultatele măsurătorilor efectuate.

Se poate observa că cele mai bune rezultate atât pentru pulberea uscată în etuvă cât și prin pulverizare au fost obținute în cazul suspensiei pe bază de TWEEN 80 cu o concentrație de 25%, la care se adaugă 0.1g pulbere. Pentru aceste dispersii distribuția granulometrică confirmă obținerea de nanoparticule de ZnO cu dimensiuni medii sub 100 nm stabile hidrodinamic, suspensia fiind stabilă, cu valori negative ale potențialului zeta și polidispersitate minimă.

Pentru a demonstra potențialul de utilizare în tratamentul plăgilor infectate au fost efectuate teste de citotoxicitate in-vitro a suspensiilor cu oxid de zinc utilizând 2 linii celulare: fibroblaste umane normale nHDF (Normal human dermal fibroblast cells) și celule stem mezenchimale derivate

din țesut adipos ADSC (Adipose tissue-derived stem cells) folosind kit-ul comercial MTT Assay Kit (Sigma).

22

Linia celulară de fibroblaste nHDF a fost cultivată în Fibroblast Basal Medium (Sigma) suplimentat cu 10% ser fetal bovin (FBS) și 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de gentamicină, în flask de 25 cm^2 .

Celulele stem mezenchimale ADSC au fost cultivate în Mesenchymal Stem Cell Basal Medium for Adipose, Umbilical and Bone Marrow-derived MSCs (Sigma) suplimentat cu 10% ser fetal bovin (FBS) și 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de gentamicină, în flask de 25 cm^2 .

Rezultatele viabilității celulare, determinată prin utilizarea testului MTT demonstrează că la niciuna din suspensii nu a fost evidențiat efect citotoxic, viabilitatea celulară fiind peste 50% pentru suspensiile testate indiferent de diluția suspensiilor.

Tabelul 1. Rezultatele măsurătorilor diametrului hidrodinamic (D), polidispersității (Pdi) și potențialului Zeta pentru suspensiile analizate

Caracteristici dispersant		Tip probă					
		ZnO uscat în etuvă			ZnO uscat prin pulverizare		
Concentrație TWEEN [%]	Cantitate probă [g]	D (nm)	Pdi	Zeta (mV)	D (nm)	Pdi	Zeta (mV)
20	0.05	64.78	0.136	-10	68.42	0.404	-7.38
	0.1	17.59	0.291		60.20	0.428	-14.9
25	0.05	161.9	0.081	-20.4	137.7	0.152	-31.0
	0.1	74.02	0.264	-22.3	83.00	0.129	-18.8
30	0.05	27.42	0.041				
	0.1				76.55	0.075	

Revendicări:

1. Procedeu de obținere a unor suspensii stabile pe bază de nanoparticule de ZnO pentru obținerea de hidrogeluri cu aplicații în tratamentul plăgilor infectate, caracterizat prin aceea că 0,05g – 0,1g pulbere de ZnO sintetizată hidrotermal 2 ore la 100 atm. și 200°C cu dimensiuni hidrodinamice ale particulelor sub 100 nm după uscare prin pulverizare sau în etuvă, sunt dispersate prin agitare mecanică urmată de ultrasonare într-o suspensie apoasă cu concentrații de 20 – 30% surfactant non-ionic comercial TWEEN 80 (polisorbat 80 - $C_{64}H_{124}O_{26}$ - sau polioxietilen sorbitan monooleat), obținându-se suspensii stabile caracterizate prin potențial zeta negativ și polidisperitate redusă. Rezultatele viabilității celulare, determinată prin utilizarea testului MTT in-vitro demonstrează că nu apar efecte citotoxice, viabilitatea celulară fiind peste 50% pentru suspensiile testate indiferent de diluția suspensiilor.

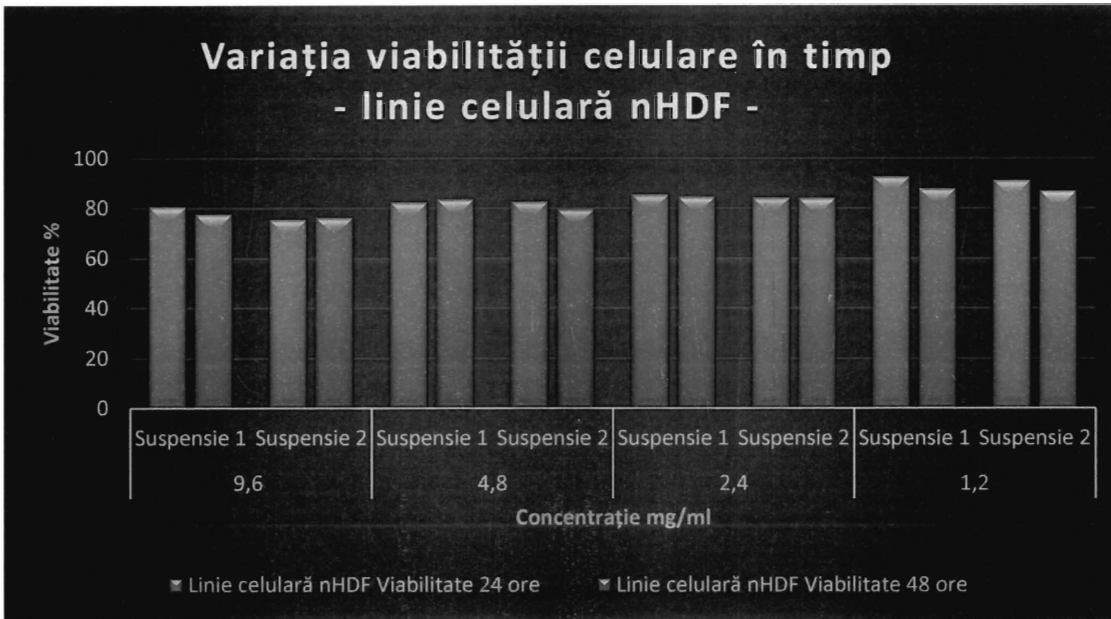


Figura 1: Variația viabilității celulare în timp pentru linia celulară nHDF

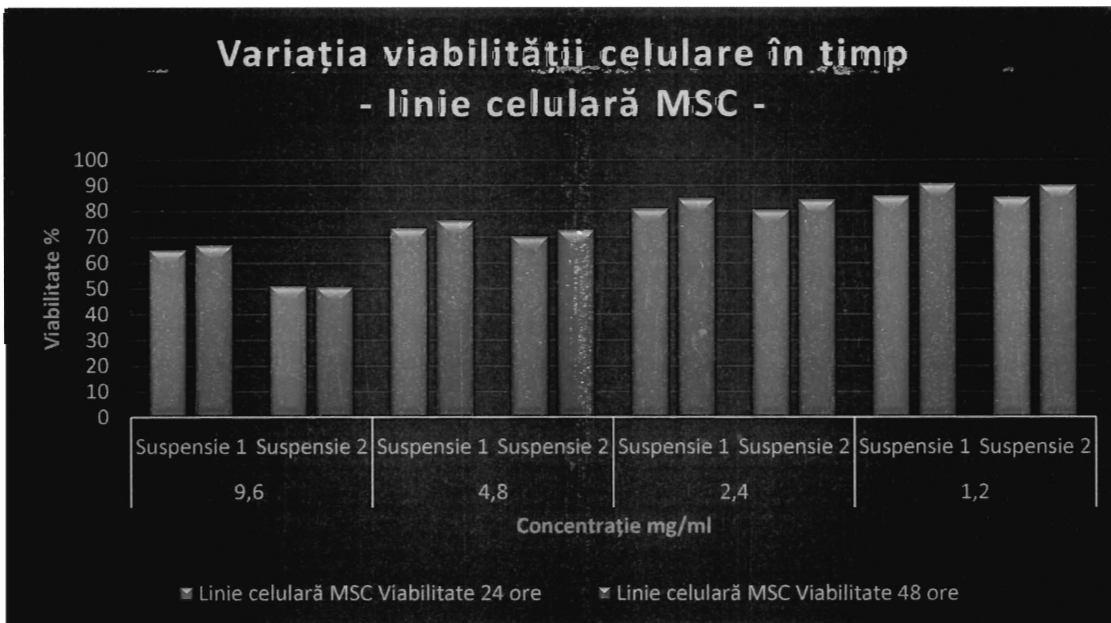


Figura 2: Variația viabilității celulare în timp pentru linia celulară MSC