



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2022 00218

(22) Data de depozit: 28/04/2022

(41) Data publicării cererii:
29/11/2023 BOPI nr. 11/2023

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL DE CHIMIE
MACROMOLECULARĂ "PETRU PONI" DIN
IAȘI, ALEEA GRIGORE GHICA VODĂ 41A,
IAȘI, IS, RO

(72) Inventatori:
• BUCĂTARIU SANDA-MARIA,
STR.DECEBAL, NR.14, BL.B3, SC.B, AP.1,
IAȘI, IS, RO;
• SUFLET MIHAELA DANA,
STR.VASILE LUPU, NR.118, BL.C1, SC.B,
ET.3, AP.14, IAȘI, IS, RO;

• FUNDUEANU CONSTANTIN MARIETA,
ALEEA TUDOR NECULAI, NR.57, BL.975,
SC.A, AP.15, IAȘI, IS, RO;
• COȘMAN BOGDAN-PAUL, STR.D8,
NR.14, SAT DOLINA, COMUNA LEORDA,
BT, RO;
• POPESCU IRINA, STR.CALAFAT, NR.2,
IAȘI, IS, RO;
• PELIN IRINA MIHAELA, STR. ANASTASIE
PANU NR. 56, BL. B1, SC. A, ET. 8,
SECT. 2, BUCUREȘTI, B, RO;
• FUNDUEANU CONSTANTIN GHEORGHE,
ALEEA TUDOR NECULAI NR.57, BL.975,
SC.A, ET.3, AP.15, IAȘI, IS, RO

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A UNUI FILM COMPOZIT
PE BAZĂ DE CHITOSAN, POLI(METIL VINIL ETER-ALT-ACID
MALEIC) ȘI NANOPARTICULE DE ARGINT CU ACTIVITATE
ANTIMICROBIANĂ**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui film compozit cu activitate antimicrobiană destinat tratamentului și regenerării tisulare și gingivale. Procedeu, conform invenției, constă în etapele: amestecare cu omogenizare a unei soluții de chitosan cu concentrația de 2% g/v cu glicerina și soluție de poli(metil vinil eter-*alt*-acid maleic) cu concentrația de 2% g/v la un raport masic de 1:2 față de chitosan, turnarea amestecului omogen pe o suprafață plană, deshidratarea la temperatura camerei, tratament termic la 60°C, purificarea și

generarea *in-situ* a nanoparticulelor de argint prin imersarea filmului în soluție de azotat de argint cu concentrații de 0,1...0,4 mM și borohidură de sodiu 10 mM, purificare și deshidratare treptată, rezultând un film ușor opac biocompatibil, având capacitate de reținere și eliberare treptată a agenților terapeutici la locul aplicării.

Revendicări: 1

Figuri: 2

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr.	a 2022 ee 218
Data depozit	28 -04- 2022

**PROCEDEU DE OBTINERE A UNUI FILM COMPOZIT PE BAZĂ DE
CHITOSAN, POLI(METIL VINIL ETER-alt-ACID MALEIC) ȘI
NANOPARTICULE DE ARGINT CU ACTIVITATE ANTIMICROBIANĂ**

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui film compozit pe bază de chitosan asociat cu poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) și nanoparticule de argint, film biocompatibil, netoxic destinat tratamentului și regenerării tisulare și gingivale prin asigurarea unei bariere antimicrobiene și a înglobării de principii active, pentru dezvoltarea domeniului medical și farmaceutic.

Obstacolul major în eradicarea cu succes a infecțiilor din cavitatea bucală (leziuni bucale, infecții parodontale) îl constituie diluarea și eliminarea rapidă a medicamentelor aplicate ca urmare a acțiunii continue a salivei ce spală zona afectată. Pentru a îmbunătăți acest aspect se poate recurge la dispozitive orale sub formă de filme subțiri, aderente/bioadezive sau implantabile în vederea transportului și eliberării controlate de medicamente [European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 117 (2018) 182–1941; International Journal of Biological Macromolecules 165 (2020) 2528–2540].

Filmele utilizate în medicina regenerativă sunt structuri polimerice obținute prin diverse procedee de reticulare chimică (legături covalente) sau fizică (interacțiuni electrostatice, legături de hidrogen, interacțiuni de tip Van der Waals, etc.) a unuia sau a mai multor polimeri. În domeniile strategice privind siguranța populației precum domeniile medicale și farmaceutice, biocompatibilitatea și biodegradabilitatea sunt cerințe primordiale pentru ca materialele polimere vizate să poată fi utilizate ca atare sau ca purtători de substanțe active sau bioactive. Având în vedere aceste cerințe, utilizarea polimerilor naturali, regenerabili, în special a polizaharidelor (chitosan, dextran, pululan, carboximetilceluloză, etc.) ca polimeri pentru obținerea de filme, rezolvă din start această cerință.

Chitosanul este o polizaharidă cationică, hidrofilă, insolubilă în apă sau solvenți organici, dar solubilă în soluții diluate de acizi cu valori ale pH-ului mai mic de 6. Este utilizat pe scară largă pentru obținerea de diverse formulări farmaceutice ca sisteme de eliberare a

principiilor active [US8735571B2; European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 81 (2012) 463–469] sau dispozitive medicale (hidrogeluri, filme, membrane) cu aplicabilitate în ingineria tisulară [RO135509A2; RO134936A2; US9278064], ortopedie [RO130663B1], precum și medicina dentară [US8735571B2; Composite: Part B 38 (2007) 311–316; Coloids and Surfaces B: Biointerfaces 178 (2019) 185–198] ca urmare a proprietăților sale native antimicrobiene, filmogene, mucoadezive, etc. [Journal of Drug Delivery and Technology 57 (2020) 101720; European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 81 (2012) 463–469].

Poli(metil vinil eter-alt-anhidrida maleică) și forma sa hidrolizată (poli(metil vinil eter-alt-acid maleic)) este un polimer biocompatibil [International Journal of Biological Macromolecules 165 (2020) 2528–2540] utilizat în industria farmaceutică ca agent de suspensie sau îngroșare [US4808400], ca adjuvant în prepararea de plasturi transdermali [RCS Advanced 6 (2016) 105487–105494] sau ca adeziv în medicina dentară [RO119064B1].

Poli(metil vinil eter-alt-anhidrida maleică) este utilizat în obținerea de filme, hidrogeluri sau nanoparticule în asocieri cu polimeri ce prezintă în structura lor grupări hidroxilice, aminice și/sau imidice, precum: pectina [European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 117 (2018) 182–194], poli(etilen glicolul) și celuloza [Biomacromolecules 11 (2010) 2660–2666], polialcoolul vinilic [RCS Advanced 6 (2016) 105487–105494], tween 85 [International Journal of Pharmaceutics 538 (2018) 147–157], poloxamer [International Journal of Pharmaceutics 459 (2014) 1–9], acidul hialuronic [Carbohydrate Polymers 181 (2018) 1194–1205; Journal of Drug Delivery and Technology 57 (2020) 101720; International Journal of Biological Macromolecules 165 (2020) 25282540], etc.

[European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 61 (2005) 195–200] raportează reticularea fizică a chitosanului cu poli(metil vinil eter-alt-anhidridă maleică) sub formă de microparticule obținute prin tehnica pulverizării la temperaturi înalte (110 °C), destinate înglobării și administrării nazale a unui medicament.

În literatură nu sunt menționate studii privind reticularea chimică prin legături esterice a chitosanului cu poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) cu scopul obținerii de filme cu proprietăți antimicrobiene ca urmare a încorporării de nanoparticule de argint.

Dezavantajul acestor microparticule îl reprezintă absența efectului antimicrobian și dificultatea menținerii la locul administrării, aspecte deosebit de importante pentru tratarea și vindecarea plăgilor cutanate sau a infecțiilor din cavitatea bucală (leziuni bucale, infecții parodontale).

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este realizarea unui procedeu de obținere a unui film compozit cu activitate antimicrobiană pe bază de chitosan asociat cu poli(metil vinil

eter-alt-acid maleic) și cu nanoparticule de argint, care extinde gama de biomateriale sau de dispozitive medicale.

Procedeul de obținere a filmului compozit pe bază de chitosan, poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) și nanoparticule de argint se realizează în două etape. Prima etapă decurge cu obținerea filmului pe bază de chitosan și poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) în raport masic de 2 la 1 și un adaos de glicerină de 50% față de conținutul total de polimeri, omogenizarea soluției prin agitare magnetică cu 800 rot/min, turnarea în diverse forme, uscarea la temperatura camerei timp de 48 de ore, urmată de un tratament termic la temperatura de 60 °C în etuvă cu vid înaintat (0,08 bari) pentru 24 de ore, răcire, purificare și deshidratare. În cea de-a doua etapă se generează *in-situ* nanoparticule de argint prin imersarea filmelor timp de 24 de ore în soluție de azotat de argint, reducerea ionilor de argint la argint metalic cu soluție de borohidruă de sodiu, purificarea și uscarea la temperatura de 23 °C și vid înaintat (0,08 bari).

Procedeul conform invenției prezintă următoarele avantaje:

- Este un procedeu ecologic, fără solvenți organici sau agenți de reticulare, fără emanații toxice, ce presupune costuri reduse (energo-economic);
- Filmul este biocompatibil, deci netoxic și cu activitate antimicrobiană;
- Filmul poate fi utilizat în diverse aplicații medicale și/sau farmaceutice;
- Se poate aplica ușor și menține un timp îndelungat la locul aplicării în cazul tratamentului și regenerării tisulare și gingivale;
- Filmul prezintă capacitate de reținere a agenților terapeutici cu posibilitatea de eliberare treptată a acestora.

Se dă, în continuare, un exemplu de realizare a invenției.

Exemplu

Procedeul de preparare a filmului compozit pe bază de chitosan asociat cu poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) și nanoparticule de argint conform invenției constă în prepararea unei soluții de chitosan cu concentrația finală de 2% (g/v) prin dizolvarea la temperatura camerei a 1 g chitosan (cu masa moleculară (M_w) de 340 kDa și un grad de deacetilare de 85%) în 50 mL soluție de acid clorhidric cu concentrația de 0,1 N, timp de 24 ore sub agitare magnetică la 600...1000 rot/min. Concomitent se prepară 25 mL soluție de poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) (cu M_w de 200 kDa și M_n de 80 kDa) cu concentrația de 2% (g/v) prin dizolvarea a 0,5 g poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) în 25 mL apă distilată, la temperatura camerei sub agitare magnetică la 600...1000 rot/min. În prima etapă are loc obținerea filmului polimeric astfel: într-un pahar Berzelius se introduce soluția de chitosan la care se adaugă sub agitare magnetică

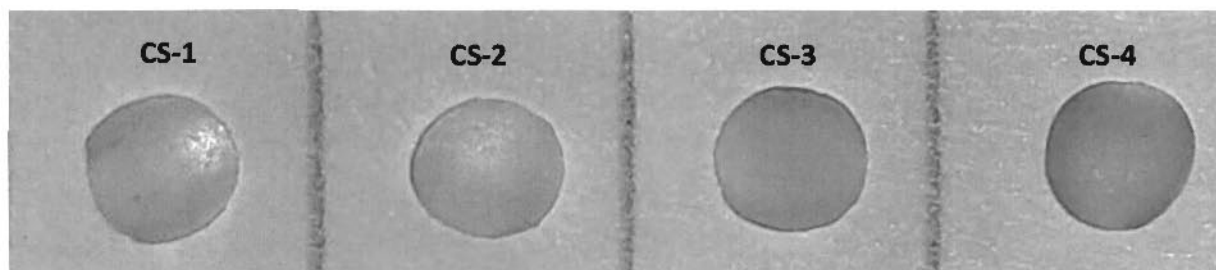
(600...1000 rot/min) 0,75 g glicerină (50% față de conținutul total de polimeri). Amestecul se menține sub agitare un timp de 4...5 ore până la completa omogenizare, apoi se adaugă prin picurare soluția de poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) cu menținerea agitării magnetice. În amestecul de polimeri, chitosanul se găsește într-un raport masic de 2 la 1 față de poli(metil vinil eter-alt-acid maleic).

Pentru obținerea unui film cu grosimea optimă de 0,3 mm, 17 mL din amestecul de polimeri se toarnă într-o placă Petri cu diametrul de 80 mm și se menține la temperatura camerei un timp de 48 de ore pentru evaporarea solventului. Filmul format se îndepărtează din placa Petri și se supune unui tratament termic în etuvă la temperatura de 60 °C și vid înaintat (0,08 bari) pentru 24 de ore. În acest timp are loc reticularea lanțurilor polimere prin formarea de legături esterice între grupele hidroxil din chitosan și grupele carboxil din poli(metil vinil eter-alt-acid maleic). Filmul uscat și răcit este supus unui proces de purificare pentru îndepărtarea excesului de ioni de clor rămași după procesul de solvire a chitosanului care constă în imersarea timp de 2 ore într-o soluție apoasă de NaOH cu concentrația de 0,1 N, spălarea cu apă distilată de trei, patru ori până la o conductivitate a apei de spălare egală cu cea a apei distilate (2,5 $\mu\text{S}/\text{cm}^2$). Filmul astfel purificat se usucă treptat prin deshidratare cu un amestec de apă-alcool etilic în raport volumetric variabil de la 75:25 până la 25:75, apoi cu alcool etilic absolut.

În cea de a doua etapă are loc generarea *in-situ* a nanoparticulelor de argint ce se realizează după cum urmează: 1 g film în stare deshidratată se imersează în 100 mL soluție de azotat de argint (AgNO_3) de diferite concentrații 0,1, 0,25 și 0,4 mM timp de 24 de ore. Apoi, filmele se spală cu apă distilată de trei, patru ori și se imersează într-o soluție de borohidură de sodiu (NaBH_4) cu concentrația de 10 mM, pentru reducerea ionilor de argint (Ag^+) la argint metalic (Ag^0). La final, filmul compozit se spală pentru îndepărtarea substanțelor nereacționate cu apă distilată și se deshidratează cu amestec de apă-alcool etilic în raport volumetric variabil de la 75:25 până la 25:75, apoi cu alcool etilic absolut și se usucă în etuvă la vid înaintat (0,08 bari) pentru 24 de ore.

În continuare, sunt prezentate date cu referire la invenție și în legătură cu Fotografiile 1, 2 și 3, cu Figurile 1 și 2, și cu Tabelul 1 și 2.

În Fotografia 1 sunt prezentate imaginile optice ale filmului pe bază de chitosan și poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) cu și fără nanoparticule de argint realizate cu o cameră digitală Lumix DMC-FX30, cu rezoluția de 7,2 mega pixeli (Panasonic, Japonia).



Fotografia 1. Imagine optică a probelor de film (în stare deshidratată) pe bază de chitosan asociat cu poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) fără (CS-1) și cu nanoparticule de argint (CS-2, CS-3 și CS-4).

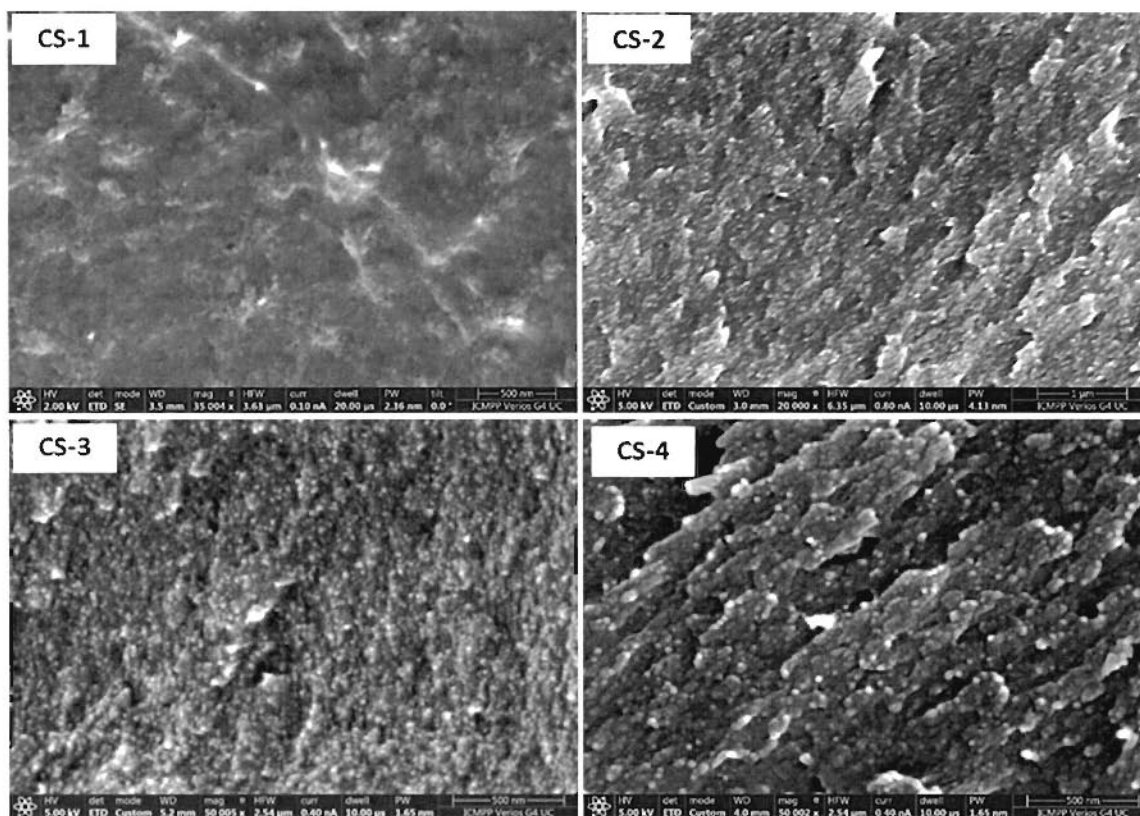
În tabelul 1 sunt înregistrate principalele caracteristici ale filmelor pe bază de chitosan asociat cu poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) fără (CS-1) și cu nanoparticule de argint (CS-2, CS-3 și CS-4).

Tabel 1. Principalele caracteristici ale filmelor pe bază de chitosan asociat cu poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) fără și cu nanoparticule de argint

Parametru	Caracteristică film			
	CS-1	CS-2	CS-3	CS-4
Concentrație soluție AgNO ₃ (mM) utilizată pentru generarea <i>in-situ</i> a nanoparticulelor de argint	-	0,1	0,25	0,4
Grad de umflare (%) $GU = \frac{m_f - m_0}{m_0} \times 100$	pH 7,4	219	164	148
	pH 6,8	113	108	85
	pH 1,2	870	720	623
Capacitate de reținere a apei la 25 °C (g apă/g film)	1,90	1,34	1,07	0,88
Capacitatea de încărcare cu nanoparticule de argint (mg /g film)	-	2,95	3,64	6,46
Rezistența la tracțiune (N/mm ²)	1,01	1,11	2,41	3,02

în care: gradul de umflare (GU) a filmelor, calculat cu ecuația din tabelul 1, m_0 – masa filmului în formă uscată (g); m_f – masa filmului în formă hidratată la echilibru (g); Capacitatea de încărcare a filmului reprezintă miligrame de nanoparticule de argint ce se găsesc într-un gram de film în formă uscată.

În fotografia 2 sunt prezentate imaginile de microscopie electronică ale filmelor pe bază de chitosan și poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) cu și fără nanoparticule de argint realizate cu microscopul electronic Verios G4 UC (Thermo Scientific, Bruno, Republica Cehă) echipat cu un spectrometru cu raze X cu dispersie de energie (EDS, EDAX Octane Elect Super SDD detector, Ametek, Mahwah, New Jersey, SUA).



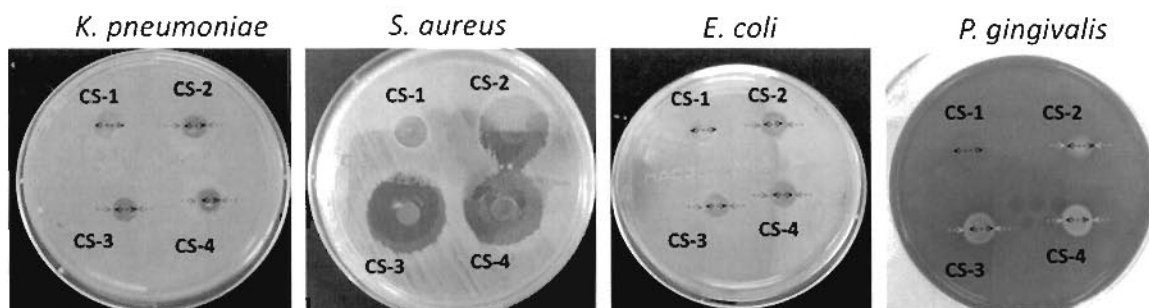
Fotografia 2. Imagini de microscopie electronică ale filmelor pe bază de chitosan asociat cu poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) fără (CS-1) și cu nanoparticule de argint (CS-2, CS-3 și CS-4).

În figura 1 sunt prezentate spectrele de analiză cu raze X cu dispersie de energie (EDAX) a filmelor compozit pe bază de chitosan asociat cu poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) cu nanoparticule de argint, alături de harta de distribuție a elementelor.

Testul de citotoxicitate a fost efectuat prin metoda contactului direct utilizând celule fibroblaste adulte, aderente, de proveniență dermică, probele fiind sterilizate în prealabil timp de 3 ore cu o soluție de alcool etilic 70% (v/v). Metoda constă în punerea în contact direct a celulelor fibroblaste cu filmele pe bază de chitosan asociat cu poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) fără și cu nanoparticule de argint, în vederea analizei efectului citotoxic asupra viabilității celulare. După 24 și respectiv 48 de ore de incubare, viabilitatea celulară este determinată prin metoda cu MTT (bromura de 3-(3,4-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliu).

În figura 2 este prezentată viabilitatea celulelor fibroblaste după 24 și respectiv 48 de ore de incubare în prezența filmelor.

Testarea activității antimicrobiene a filmelor a fost efectuată prin metoda difuzimetrică. Testele au fost efectuate pe tulpini de referință pentru bacteriile Gram-pozitive (*Staphylococcus aureus* ATTC 25923) și Gram-negative (*Escherichia coli* ATTC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATTC ATCC BAA-1705 și *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33377). Testul de difuzie a fost efectuat pe discuri disponibile comercial cu agar MacConkey pentru *E. coli*, *P. gingivalis* și *K. pneumoniae* și agar cu sare manitol pentru *S. aureus*, iar rezultatele obținute sunt prezentate în Fotografia 3 și tabelul 2.



Fotografia 3. Activitatea antibacteriană a filmelor pe bază de chitosan asociat cu poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) fără (CS-1) și cu nanoparticule de argint (CS-2, CS-3 și CS-4) împotriva *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *E. coli* și *P. Gingivalis*.

Tabel 2. Activitatea antibacteriană (diametrul zonei de inhibiție) a filmelor pe bază de chitosan asociat cu poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) fără (CS-1) și cu nanoparticule de argint (CS-2, CS-3 și CS-4)

Probă	zonă de inhibiție (mm)			
	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. gingivalis</i> *
CS-1	-	10	-	-
CS-2	8	22	8	6
CS-3	9	24	8	9
CS-4	15	25	9	10

* zona de inhibiție locală (la contact cu placa bacteriană)

BIBLIOGRAFIE

1. Demir, Y. K., Metin, A. Ü., Şatiroğlu, B., Etuğrul, M., Kayser, V., Mäder, K. Poly (methyl vinyl ether-co-maleic acid) – Pectin based hydrogel forming systems: Gel, film, and microneedles, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 117 (2018) 182–194.
2. Bucatariu, S.-M., Constantin, M., Varganici, C.-D., Rusu, D., Nicolescu, A., Prisacariu, I., Carnuta, M., Anghelache, M., Calin, M., Ascenzi, P., Fundueanu, G. A new sponge-type hydrogel based on hyaluronic acid and poly(methylvinylether-alt-maleic acid) as a 3D platform for tumor cell growth. *International Journal of Biological Macromolecules* 165 (2020) 2528–2540.
3. DeCarlo, A. A., Ellis, A., Dooley, T. P., Belousova, M. Composition, preparation, and use of dense chitosan membrane materials. (2013) US8735571B2.
4. Bernkop-Schnürch, A., Dünnhaupt, S. Chitosan-based drug delivery systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 81 (2012) 463–469.
5. Chirilă, L., Rădulescu, D.-E., Rădulescu, D.-M., Popescu, A., Mihai, C., Ene, A. G., Constantinescu R. R. Biomateriale textile cu efect antiinflamator și procedeul de obținere a acestora. (2020) RO135509A2.
6. Crăciunescu, O., Ilie, D., Oprea, E. I., Stanciu, A. M., Oancea, A. Hidrogel cosmeceutic cu probiotice încapsulate, peptide bioactive și prebiotice pentru reglarea microbiomului pielii și procedeul de obținere. (2019) RO134936A2.
7. Avramoff, A., Shoshani, E., Penhasi, A., Oren, D. Method for treating a periodontal disease. (2016) US9278064.
8. Ion, R.-M., Poinescu, A.-A., Rădulescu, C., Ion, N., Oros, C. Biomaterial compozit și procedeul de obținere a acestuia. (2014) RO130663B1.
9. Hong, H., Wei, J., Liu, C. Development of asymmetric gradational-changed porous chitosan membrane for guided periodontal tissue regeneration. *Composite: Part B* 38 (2007) 311–316.

10. Sah, A. K., Dewangan, M., Suresh, P. K.. Potential of chitosan-based carrier for periodontal drug delivery. *Coloids and Surfaces B: Biointerfaces* 178 (2019) 185–198.
11. Ashri, L. Y., Abou El Ela, A.E.S.F., Ibrahim, M. A., Alshora. D. H., Naguib M. J.. Optimization and evaluation of chitosan buccal films containing tenoxim for treating chronic periodontitis: In vitro and in vivo studies. *Journal of Drug Delivery and Technology* 57 (2020) 101720.
12. Gaffar, A., Polefka, T. G. Anticalculus oral composition. (1989) US4808400
13. Caló, E., Barros, J., Ballamy, L., Khutoryanskiy, V.V. Poly(vinyl alcohol)- Gantrez® AN cryogels for wound care applications. *RCS Advanced* 6 (2016) 105487–105494.
14. Clarke, H. C., Ahn, H.- K., Eddie, W., Robert, C. G., Alfred, J. S., Joseph, S. Sare adezivă și compoziție adezivă dentară. (1995) RO11064B1.
15. Goetz, L., Foston, M., Mathew, A. P., Oksman, K., Ragauskas, A. Poly(methyl vinyl ether-co-maleic acid) – polyethylene glycol nanocomposites cross-linked *in situ* with cellulose nanowhiskers. *Biomacromolecules* 11 (2010) 2660–2666.
16. Larrañeta, E., Barturen, L., Ervine, M., Donnelly, R. F. Hydrogels based on poly(methyl vinyl ether-co-maleic acid) and Tween 85 for sustained delivery of hydrophobic drugs. *International Journal of Pharmaceutics* 538 (2018) 147–157.
17. Mareno, E., Schwartz, J., Larrañeta, E., Nguewa, P. A., Sanmartin, C., Agüeros, M., Irache, J. M., Espuelas, S. Thermosensitive hydrogels of poly(methyl vinyl ether-co-maleic anhydride) – Pluronic® F127 copolymers for controlled protein release. *International Journal of Pharmaceutics* 459 (2014) 1–9.
18. Larrañeta, E., Henry, M., Irwin, N. J., Trotter, J., Perminova, A. A., Donnelly, R. F. Synthesis and characterization of hyaluronic acid hydrogels crosslinked using a solvent-free process for potential biomedical applications. *Carbohydrate Polymer* 181 (2018) 1194–1205.
19. Cerchiara, T., Luppi, B., Chidichimo, G., Bigucci, F., Zecchi V. Chitosan and poly(methyl vinyl ether-co-maleic anhydride) microparticles as nasal sustained delivery systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 61 (2005) 195–200.

REVENDICARE

Procedeu de obținere a unui film compozit pe bază de chitosan asociat cu poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) și nanoparticule de argint, **caracterizat prin aceea că se realizează în prima etapă prin amestecarea continuă la 800 rot./min până la omogenizare, timp de 4-5 ore la temperatura camerei, a unei soluții de chitosan în acid clorhidric 0,1N cu concentrația de 2% (g/v) cu glicerină, în raport masic de 50% față de conținutul de total de polimeri, urmată de adăugarea în picătură a unei soluții apoase de poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) cu concentrația de 2% (g/v) la un raport masic de 1:2 față de chitosan, amestecul omogen se toarnă pe o suprafață plană, se lasă 48 de ore la temperatura camerei, după care se desprinde filmul format și se supune unui tratament termic la 60 °C și vid de 0,08 bari timp de 24 de ore, apoi se purifică prin imersare în soluție de hidroxid de sodiu 0,1N timp de 2 ore, se spală de minim trei ori cu apă distilată și se deshidratează treptat cu un amestec de apă-alcool etilic în raport volumetric variabil de la 75:25 până la 25:75, apoi cu alcool etilic absolut, urmată de a doua etapă de generare in-situ a nanoparticulelor de argint prin imersarea filmului deshidratat, un timp de 24 de ore, în soluții de azotat de argint de diferite concentrații de la 0,1 la 0,4 mM, urmată de reducerea ionilor de argint la argint metalic cu o soluție de borohidruură de sodiu 10 mM și purificarea filmului compozit prin spălare cu apă distilată minim de trei ori apoi de deshidratarea treptată cu un amestec de apă-alcool etilic în raport volumetric variabil de la 75:25 până la 25:75, alcool etilic absolut, și uscare în etuvă la temperatura de 23 °C și vid de 0,08 bari timp de 24 de ore, produsul final fiind un film ușor opac de culoare albă până la ușor brun, cu un conținut de nanoparticule de argint de 2,95 - 6,46 mg /g film, un grad de umflare de 75 - 870 % și o capacitate de reținere a apei la 25 °C de 0,88 - 1,90 g apă/g film, produsul final fiind biocompatibil, cu o vitalitate celulară de 70% după 48 de ore și cu activitate antimicrobiană față de bacteriile *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *E. coli* și *P. gingivalis*, fiind destinat utilizării în domeniul medical și/sau farmaceutic.**

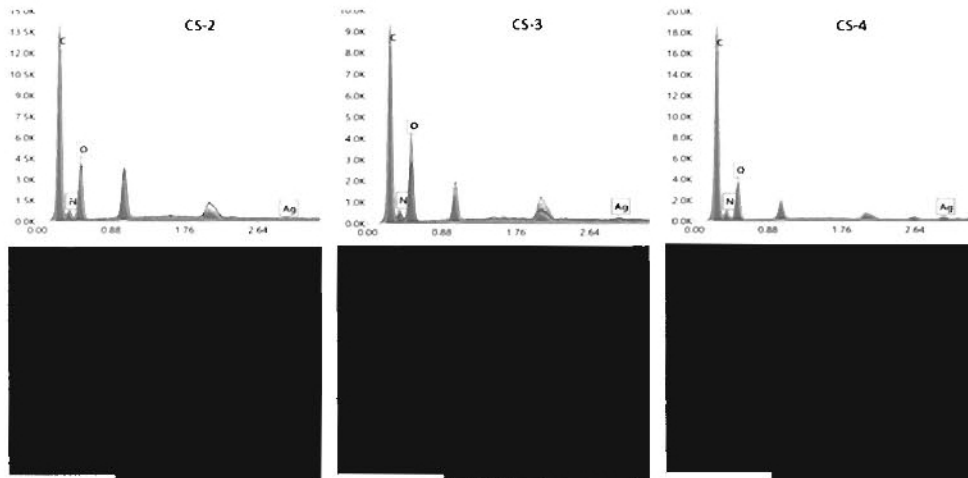


Figura 1. Spectrele EDX și harta distribuției elementale pentru argint în filmele compozit pe bază de chitosan asociat cu poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) cu nanoparticule de argint.

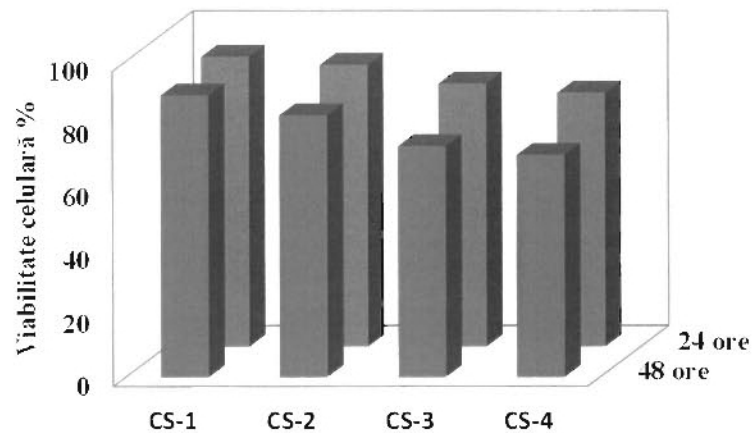


Figura 2. Viabilitatea celulelor fibroblaste după 24 și respectiv 48 de ore de incubare în prezența filmelor pe bază de chitosan asociat cu poli(metil vinil eter-alt-acid maleic) fără (CS-1) și cu nanoparticule de argint (CS-2, CS-3 și CS-4).