بسم الله الرحمن الرحيم

مدينة الملك عبدالعزيز للعلوم والتقنية KACST

المملكة العربية السعودية

مدينة الملك عبدالعزيز للعلوم والتقنية

إن المشرف العام على مكتب البراءات السعودي، وبموجب أحكام نظام براءات الاختراع والتصميمات التخطيطية للدارات المتكاملة والأصناف النباتية والنماذج الصناعية الصادر بالمرسوم الملكي الكريم رقم م/٢٧ وتاريخ ١٤٢٥/٠٥/٢٩هـ، واستناداً لأحكام اللائحة التنفيذية له الصادرة بالقرار الإداري رقم ١١٨٨٢٨/م/١٠ وتاريخ ١٤٢٥/١١/١٤هـ، يقرر منح:

جامعة الملك سعود

King Saud University

براءة اختراع رقم ٤٤٧٠

بتاريخ ١٤٣٧/٠١/٢٠هـ الموافق ٢٠١٥/١١/٠٢ م

عن الاختراع المسمى/ طريقة لتحضير جسيمات نانو لفلز نبيل

Method for preparing noble metal nanoparticles

ولمالك البراءة الحق في الانتفاع بكامل الحقوق التي يمنحها النظام في المملكة العربية السعودية.

المشرف العام على مكتب البراءات السعودي

م. سامي بن علي السديس

[19] المملكة العربية السعودية SA
مدينة الملك عبدالعزيز للعلوم والتقنية

[11] رقم البراءة: ٤٤٧٠
[45] تاريخ المنح: ١٤٣٧/٠١/٢٠ هـ
الموافـــق: ٢٠١٥/١١/٠٢ م

[12] براءة اختراع

[72] اسم المخترع: عواطف أحمد هندي، منال أحمد عوض، ندى الزين عيسى، خالد مصطفى عثمان أورتشي

[73] مالك البراءة: جامعة الملك سعود

عنوانه: ص. ب ١٠٥٤ الرياض ١١٣٣٣ ، المملكة العربية السعودية

جنسيته: سعودية

[74] الوكيل: كدسة للاستشارات القانونية

[21] رقم الطلب: ١١٤٣٦٠٠٦٥

[22] تاريخ الإيداع: ١٤٣٦/٠٢/٠٤ هـ
الموافق: ٢٠١٤/١١/٢٦ م

[30] بيانات الأسبقية:

EP	١٣١٩٤٦٩٣.١	٢٠١٣/١١/٢٧م

[51] التصنيف الدولي (IPC[8]):
B22F 09/24, A61K 33/24, B22F 01/00

[56] المراجع:

WO	٢٠٠٩١٤٠٦٩٤	٢٠٠٩/١١/١٩م
SA	١١٢٣٣٠٩٤٧	٢٠١٢/١٠/٢١م
SA	١١٢٣٣٠٩٤٨	٢٠١٢/١٠/٢١م
SA	١١٢٣٣٠٩٤٩	٢٠١٢/١٠/٢١م

JING-LIANG LI ET AL: "Gold-Nanoparticle-Enhanced Cancer Photothermal Therapy", IEEE JOURNAL OF SELECTED TOPICS IN QUANTUM ELECTRONICS, IEEE SERVICE CENTER, PISCATAWAY, NJ, US, vol. 16, no. 4, 6 October 2009 (2009-10-06), pages 989-996, XP011344399, ISSN: 1077-260X, DOI: 10.1109/JSTQE.2009.2030340

اسم الفاحص: عبدالله بن سعد العبدالجبار

[54] اسم الاختراع: طريقة لتحضير جسيمات نانو لفلز نبيل

Method for preparing noble metal nanoparticles

[57] الملخص : يكشف الاختراع الحالي عن طريقة لتحضير جسيمات نانو لفلز نبيل (noble metal nanoparticles)، تشمل الخطوات التالية: (أ) تحضير مستخلص فاكهة الزيتون الأوروبي (Olea Europaea)؛ (ب) تحضير مستخلص السنط النيلي (Acacia Nilotica)؛ (جـ) خلط مستخلص فاكهة الزيتون الأوروبي (Olea Europaea) ومستخلص السنط النيلي (Acacia Nilotica) من أجل تحضير مستخلص مختلط؛ (د) توفير محلول مائي محتوي على مركب فلز نبيل (noble metal) مذاب فيه؛ (هـ) خلط المستخلص المختلط الناتج في الخطوة (جـ) والمحلول المائي من الخطوة (د) لتشكيل الجسيمات النانو لفلز نبيل (noble metal nanoparticles)؛ بالجسيمات النانو لفلز نبيل (noble metal nanoparticles) الناتجة بذلك واستخدامها.

عدد عناصر الحماية (١٣)، عدد الأشكال (١٥)

طريقة لتحضير جسيمات نانو لفلز نبيل

Method for preparing noble metal nanoparticles

الوصف الكامل

خلفية الاختراع

يتعلق الاختراع الحالي بجسيمات نانو لفلز نبيل (noble metal nanoparticles)، طريقة لتحضيرها، واستخدامها. الجسيمات النانو لها فائدة علمية كبيرة حيث يمكن استخدامها في العديد من التطبيقات الصناعية أو الطبية. يكون مقاس جسيمات النانو نموذجيا بين ١ إلى١٠٠ نانومتر.

تحديدا، تمت دراسة الجسيمات النانو الذهب بصورة مكثفة حيث تكون مواد متعددة الاستخدامات ولها خواص كيميائية، إلكترونية وبصرية مثيرة للاهتمام من أجل نطاق واسع من التطبيقات المختلفة. إن خواص وتطبيقات الجسيمات النانو الذهب تعتمد بدرجة كبيرة على شكلها ومقاسها الخاص. إن التطبيقات الممكنة لجسيمات النانو الذهب تقع، على سبيل المثال، في مجالات تطوير الإلكترونات النانو، التصوير، الاستشعار، التحفيز، البصريات، الصناعة البيئية، الطاقة والطب الحيوي. بسبب احتمال أكسدة الفلز المنخفضة من جسيمات النانو الذهب ، فإنه يمكن استخدامها في الاختبارات التشخيصية الطبية، مثل وضع العلامات (labeling)، تباين آشعة X، دراسات تتبع السلالة المناعية (immunestrain) وحركية البلعم (phago kinetic)، في تقنيات توصيل شحنة موجهة، بالإضافة إلى العلاجات الطبية. تكون الجسيمات النانو الفضة لها تطبيقات متنوعة ومهمة. تاريخيا، تعرف الفضة بأن لها تأثير التعقيم ووجدت في تطبيقات تتراوح من الأدوية التقليدية إلى أدوات الطهي. ذُكر أن الجسيمات النانو الفضة (silver nanoparticles) (AgNPs) غير سامة للآدميين وأكثر فعالية ضد البكتيريا، الفيروس والكائنات المتعضية الدقيقة الأخرى حقيقية النواة عند تركيزات منخفضة وبدون أي تأثيرات جانبية. علاوة على ذلك، تُصنع تجاريا الأملاح المتعددة من الفضة ومشتقاتها كعوامل مضادة للميكروبات. في تركيزات قليلة، تكون الفضة آمنة للخلايا الآدمية، لكنها قاتلة للكائنات المتعضية الدقيقة. إن قدرة AgNPs المضادة للميكروبات تسمح باستخدامهم بصورة مناسبة في العديد من المنتجات المنزلية مثل المنسوجات، بالإضافة إلى التعقيم في معالجة الماء، حاويات تخزين الطعام، الأدوات المنزلية وفي الأجهزة

الطبية. يكون التطبيق الأكثر أهمية للفضة و AgNPs في الصناعة الطبية مثل المراهم الموضعية لمنع الإصابة بالعدوى ضد الحرق والجروح المفتوحة. تطورت طرق عديدة لإنتاج جسيمات النانو لفلز نبيل التي تستخدم شروط قاسية. غالبا ما تتطلب طرق البلل تطبيق عوامل الاختزال التوسعية (aggressive reducing agents)، على سبيل المثال sodium borhydride، عوامل التغطية (capping agents) وقد تحتاج إضافيا إلى مذيبات عضوية مثل toluene أو chloroform. علاوة على ذلك، غالبا يجب استخدام المركبات السامة أو إنتاجها أثناء تخليق الجسيمات النانو النبيلة. على الرغم من أن الطرق المعروفة قد تنتج بنجاح جسيمات النانو لفلز نبيل، تكون تأثيرات التلوث واستهلاك الطاقة عالية نسبيا، بالإضافة إلى التكاليف المادية والبيئية. حتى توفير بعض المواد، تحديدا المواد الحيوية، على سبيل المثال المواد النباتية، قد يمثل مشكلة. نتيجة لذلك، تبقى الحاجة لطرق بديلة أكثر فاعلية من حيث التكلفة ولا تضر البيئة لإنتاج جسيمات نانو لفلز نبيل لها خواص مُحسّنة على نطاق واسع. تكون المعايير الأساسية من أجل تخليق الكيمياء الخضراء للجسيمات النانو المثبتة هي انتقاء عوامل الاختزال، عوامل التغطية والمذيبات الصديقة للبيئة وغير الخطيرة، على وجه الخصوص من أجل الجسيمات النانو لفلز نبيل التي يجب استخدامها في العلاج الطبي. إن التخليق الحيوي للجسيمات النانو عن طريق المستخلصات النباتية يكون في الوقت الحاضر في إطار الاستكشاف حيث يعمل بعض الباحثون على ذلك واختبارها من أجل الأنشطة المضادة للميكروبات. تستخدم على نطاق واسع طرق الاختزال الكيميائية من أجل تخليق Ag–NPs بسبب استعدادها لتوليد Ag–NPs تحت شروط معتدلة وقدرتها على تخليق Ag–NPs على نطاق واسع. يكشف الطلب الأمريكي رقم: (١أ) ٢٠١٠/٠٠٥٥١٩٩ عن أنظمة وطرق لتخليق الجسيمات النانو الفضة باستخدام Trichoderma funghi. في أحد الجوانب، يستخدم Trichoderma reesei من أجل تخليق الجسيمات النانو الفضة خارج الخلية. في التخليق الحيوي لجسيمات النانو للفلز عن طريق فطر، ينتج إنزيم أو ناتج أيض واحد أو أكثر الذي يقلل أيونات الفضة إلى الجسيمات النانو الصلبة الفلزية الخاصة بها خلال عملية حفزية. يتعلق الطلب الأمريكي رقم: (١أ) ٢٠١٠/٠٢٠٠٥٠١ بطرق تصنيع واستخدام بالإضافة إلى تركيبات جسيمات النانو للفلز المتشكلة عن طريق تقنيات تخليق الكيمياء الخضراء. يوصف إنتاج جسيمات النانو للفلزات Ag، Au، Pt، Pd، Fe، Mn، Cu و In في طريقة وعاء فردي باستخدام مستخلصات نباتية مثل البن و/أو مستخلص الشاي واستخدام هذه الجسيمات النانو

للفلزات في إزالة الملوثات من التربة، المياه الجوفية ومواقع أخرى ملوثة. يمكن أن تكون عوامل الاختزال المستخدمة من أجل تحضير جسيمات النانو للفلز ضمن غيرها هي مركب phenolic أو flavonoid أو اتحاد من ذلك. خلال العقدين الأخيرين تم القيام بعمل مكثف لتطوير عقاقير جديدة من المنتجات الطبيعية بسبب مقاومة الكائنات المتعضية الدقيقة للعقاقير الموجودة. كانت الطبيعة مصدر هام للمنتجات المستخدمة حاليا في الممارسة الطبية. هناك استراتيجيات متنوعة من أجل استخدام الجسيمات النانو الذهب كناقل توصيل عقار، بما في ذلك أنظمة معتمدة على الارتباط التساهمي أو كبسلة العقاقير. علاوة على ذلك، ذُكر أن المضادات الحيوية غالبا ما تزعج الحياة النباتية البكتيرية لمجرى الهضم الذي يطوّر العديد من المواد العازلة المقاومة للعقار، بالتالي تكون الطرق الجديدة لصياغة المواد المبيدة الحيوية هي أحد مجالات الجذب القادمة. لهذا السبب، هناك حاجة لاستخدام عامل لا يولد مقاومة ويقدم خاصية جيدة مبيدة للبكتيريا. يكون للجسيمات النانو الذهب تأثير كبير مبيد للبكتيريا على نطاقات عديدة للكائنات المتعضية الدقيقة. تم استخدام عدد من الطرق التخليقية من أجل تخليق جسيمات نانو معتمدة على الفضة متمضنة تقنيات فيزيائية، كيميائية وكيميائية حيوية. مع ذلك، تستخدم طرق التخليق الكيميائية مواد كيميائية سامة في الطريقة التخليقية التي قد يكون لها تأثير سلبي في التطبيقات الطبية وضارة على البيئة. لذلك، يكون تحضير Ag–NPs بواسطة طريقة تخليق صديقة للبيئة له فوائد عن الطرق الفيزيائية والكيميائية حيث أنه يكون صديقا للبيئة، وفعال من حيث التكلفة وتكون الميزة الأكثر أهمية هي أن شروط الطاقة، الضغط، درجة الحرارة العالية والمواد الكيميائية السامة ليست مطلوبة في بروتوكول التخليق.

الوصف العام للاختراع

غرض الاختراع الحالي هو توفير طريقة لتحضير جسيمات نانو لفلز نبيل باستخدام تقنيات تخليقية للكيمياء صديقة البيئة التي تتغلب على عيوب الفن السابق. على وجه الخصوص، يجب توفير طريقة تسمح باستخدام مادة غير سامة، وفيرة وصديقة للبيئة ومتاحة حيويا والتي تُمكّن من توفير الطاقة والتكاليف. غرض إضافي هو توفير جسيمات نانو لفلز نبيل توضح خواص طبية مُحسّنة ويمكن استخدامها في التطبيقات الصناعية والطبية.

يتحقق الغرض الأول بواسطة طريقة لتحضير جسيمات نانو لفلز نبيل، تشمل الخطوات التالية: (أ) تحضير مستخلص فاكهة الزيتون الأوروبي (Olea Europaea)؛ (ب) تحضير مستخلص السنط النيلي (Acacia Nilotica)؛ (جـ) خلط مستخلص فاكهة Olea Europaea ومستخلص Acacia Nilotica من أجل تحضير مستخلص مختلط؛ (د) توفير محلول مائي محتوي على مركب فلز نبيل مذاب فيه؛ (هـ) خلط المستخلص المختلط الناتج في الخطوة (جـ) والمحلول المائي من الخطوة (د) لتشكيل جسيمات نانو لفلز نبيل.

يعني بالمصطلح "جسيم نانو (nanoparticle)" جسيم مجهري له بُعد واحد على الأقل أقل من ١٠٠ نانومتر.

على نحو أفضل، يحتوي المستخلص المختلط في الخطوة (جـ) على flavonoids، phenols و/أو penthacyclic triterpenoids كمجموعة فعالة.

في إطار التطبيق الحالي، يعني المصطلح "مجموعة فعالة (effective group)"، أن تلعب المجموعة الفعالة المحتوية على مركب من المستخلص المختلط دورا هام، على سبيل المثال، كعامل اختزال و/أو تثبيت من أجل الجسيمات النانو لفلز نبيل المبتكرة. قد تكون واحدة أو أكثر من المجموعات الفعالة المختلفة بمفردها أو معا مسئولة عن هذه التأثيرات.

يفضل تحضير مستخلص الفاكهة Olea Europaea بإضافة ماء مُزال أيوناته أو مُقطر إلى فاكهة Olea Europaea، يفضل طحنها وبعدئذ ترشيح المستخلص.

في تجسيد مفضل، يحضر مستخلص Acacia Nilotica بإضافة ماء مُزال أيوناته أو مُقطر إلى Acacia Nilotica، يفضل نقعه وبعدئذ ترتشيح المستخلص.

بطريقة بديلة، يعني المصطلح "المستخلص (extract)" من الاختراع الحالي مستخلص ناتج من النبات المتاح حيويا و/أو مواد الفاكهة. قد ينتج المستخلص باستخدام تقنيات استخلاص قياسية، مثل قمع فصل (separatory funnel)، جهاز soxhlet، إلخ. إضافيا، قد يشمل المستخلص واحدة أو أكثر من خطوات الاستخلاص المختلفة التي قد تستخدم فيها تقنيات استخلاص متماثلة أو مختلفة.

على نحو أفضل أكثر، يخلط مستخلص الفاكهة Olea Europaea والمستخلص Acacia Nilotica في نطاق نسب الخلط من ١:٥ إلى ٥:١، يفضل بنسب من ٣:٧، ١:٣، ١:١ أو ٣:١.

يفضل أيضا أن يتضمن الخلط في الخطوة (هـ) التقليب عند ٢٥°مئوية، وضع الخليط في رجاج لمدة ٣٠ دقيقة عند ١٤٥ دورة في الدقيقة، رج الخليط في حمام ماء عند ١٢٥ دورة في الدقيقة عند ٦٠°مئوية أو ترك الخليط لمدة حوالي ٣ شهور عند درجة حرارة الغرفة.

على نحو أفضل أكثر، يفضل أن يكون الخلط من الخطوة (هـ) عند درجة حرارة الغرفة.

طبقا للاختراع الحالي، قد تستخدم أي تقنية خلط مستخدمة في الفن.

يفضل أيضا، أن ينتقى الفلز النبيل من Au أو Ag.

يفضل إضافيا أن تحضر الجسيمات النانو الذهب باستخدام حمض غير عضوي محتوي على Chloroauric Acid (HAuCl4). عند تحضير الجسيمات النانو الفضة، قد يستخدم محلول من نيترات الفضة وتوفيرها في الخطوة (د).

الأكثر تفضيلا، يشمل أيضا المحلول المائي المتوافر في الخطوة (د) منشط سطح، يفضل cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB). على وجه الخصوص تكون الجسيمات النانو للفلز النبيل المحضرة في وجود منشط سطح، والتي يفضل أن تكون قضبان نانو (nanorods) غروانية لفلز نبيل، فعالة كعامل مضاد للبكتيريا.

يتحقق الغرض الثاني عن طريق تحضير الجسيمات النانو للفلز النبيل بواسطة الطريقة المبتكرة حيث يكون متوسط مقاس الجسيم في نطاق من ١٠-١٠٠ نانومتر، يفضل من ٢٠-٦٠ نانومتر، يفضل أكثر أن يكون متوسط مقاس الجسيم هو ٤٠ نانومتر.

يفضل إضافيا أن تكون الجسيمات النانو للفلز النبيل كروية جوهريا. يفضل أيضا، يكون للجسيمات النانو للفلز النبيل الناتجة تشكيل سطح أملس، أي تشكيلات وأشكال منتظمة.

في تجسيد إضافي، تكون جسيمات النانو للفلز النبيل أحادية التشتيت جوهريا.

على نحو أفضل أكثر، تكون الجسيمات النانو الذهب غروانية.

في تجسيد مفضل آخر، تكون جسيمات النانو في شكل قضبان نانو، يفضل أن يكون لها متوسط مقاس ٩٦ نانومتر.

يتحقق غرض إضافي باستخدام الجسيمات النانو للفلز النبيل المبتكرة في التطبيقات الحفزية، الإلكترونية، التصويرية، الاستشعارية، الفوتونية، الطاقة، البصرية، البيئية، الكيميائية الحيوية أو الطبية.

على نحو أفضل أكثر، يفضل استخدام الجسيمات النانو للفلز النبيل في المعالجة المضادة للبكتيريا والسرطان، ويفضل أكثر استخدامها بالعلاج الضوئي الحراري في معالجة خلايا كارسينوما Ehrlich Ascites.

وجد أيضا أنه يمكن استخدام الجسيمات النانو للفلز النبيل المبتكرة في صناعة النسيج، في حاويات تخزين الطعام، كعامل مضاد للبكتيريا ضد بكتيريا Kleb، pseudomonas، salmonella و Escherichia coli، في الإلكترونيات النانو، كمجسات حيوية (biosensors)، كأدوات طبية حيوية، في تطوير الطاقة المستدامة، في المعالجة الحيوية للنفايات الإشعاعية، كطلاء كهربي وظيفي، في تخليق إلكترودات الإنزيم وتحديدا في الطب، مثلا من أجل توصيل مولد مضاد للتلقيح، توصيل الجين من أجل معالجة أو منع اضطرابات جينية، وتوصيل عقار، في معالجة مياه النفايات، إلخ.

على نحو مثير للدهشة، وجد أن الطريقة المبتكرة توفر إمكانية تخليق الجسيمات النانو للفلز النبيل بطريقة سهلة، موفرة للطاقة وفعالة من حيث التكلفة من مواد غير سامة، وفيرة وطبيعية ونباتات طبية. إضافة لذلك، تتحقق طريقة التخليق من الاختراع في وقت قصير وتكون مناسبة من أجل التحضير على نطاق واسع. علاوة على ذلك، وجد أن الطريقة المبتكرة تسمح بنمو أسرع للجسيم النانو، إمكانية تحقيق تشكيلة واسعة من أشكال الجسيم وتحكم أفضل في توزيع مقاس الجسيم، مقارنة مع الفن السابق (الطلب الأمريكي رقم: (١أ) ٢٠١٠/٠٠٥٥١٩٩). قد يكون لجسيمات النانو للفلز النبيل المبتكرة تطبيقات عديدة، مثل المعالجة المضادة للبكتيريا ومعالجة السرطان، حفاز في التفاعلات الكيميائية، البطاريات الكهربية، في أغلفة انتقائية طيفيا من أجل

امتصاص الطاقة الشمسية، كعناصر بصرية، في المكونات الدوائية، الاستشعار الكيميائي، الاستشعار الحيوي أو في تخزين الطعام والماء.

يركز هذا الاختراع على وجه الخصوص على طريقة جديدة لتخليق قضبان النانو الذهب والأشكال الكروية النانو. إن الوجود المفضل لجزيئات مُنشط السطح على سطح قضبان النانو والأشكال الكروية النانو الذهب يؤثر بشدة في نشاطها وثباتها. إن تحضير القضبان النانو Au والأشكال الكروية النانو الذهب طبقا للاختراع له مميزات عن الطرق الفيزيائية والكيميائية حيث يكون صديقا للبيئة، اقتصاديا، نظيفا ولا يشمل استخدام أي مادة كيميائية سامة، بالإضافة إلى التطبيق البسيط والتخزين عند درجة حرارة الغرفة والثبات العالي. إضافيا، تتم دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا لقضبان النانو الذهب والأشكال الكروية النانو المبتكرة ضد سلالات متنوعة من Escherichia coli، العنقودية الذهبية (Staphylococcus aureus)، وتقترن مع المضاد الحيوي ampicillin، وتوضح النتائج أن قضبان النانو الذهب والأشكال الكروية النانو الصديقة للبيئة تُظهر نشاط مضاد للبكتيريا فعّال بدرجة كبيرة نحو كائنات متعضية دقيقة موجبة الجرام وسالبة الجرام وأيضا مع مضاد حيوي، المفحوصة بطريقة انتشار آجار في العين.

إن تحضير Ag–NPs بالطريقة المبتكرة له مميزات عن الطرق الفيزيائية والكيميائية حيث يكون صديق للبيئة، فعّال من حيث التكلفة وتكون الميزة الأكثر أهمية هي أن شروط الطاقة، الضغط، درجة الحرارة العالية والمواد الكيميائية السامة ليست مطلوبة في بروتوكول التخليق.

<u>شرح مختصر للرسومات</u>

يوضح الاختراع الآن إضافيا بواسطة الأشكال المرفقة والوصف التفصيلي الذي تؤخذ منه السمات والمزايا الإضافية. يلاحظ أن التفسيرات التالية تُقدم لغرض التوضيح والوصف فقط؛ ولا يعني أنها شاملة أو تقيد الاختراع بالشكل الدقيق المعلن عنه.

شكل ١: يوضح رسم بياني لطيف تحليل طيفي مرئي بأشعة فوق بنفسجية (Ultraviolet visible spectroscopy) (UV–Vis) للجسيمات النانو الذهب المخلقة بواسطة تقنيات تخليقية كيميائية للطريقة المبتكرة طبقا لمثال ١.

شكل ٢: يوضح رسم بياني لأداة تحليل مقاس الجسيم Zeta (zetasizer) لقياس متوسط مقاس الجسيمات النانو الذهب المُحضرة طبقا للاختراع.

الأشكال ٣(أ)، ٣(ب) و٣(ج): توضح رسم بياني لصورة فحص مجهري بإلكترون انبعاث (transmission electron microscopy) (TEM) للجسيمات النانو الذهب المخلقة بواسطة الطريقة المبتكرة (١٠٠ كيلوفولط) مع تكبيرات وأشكال مختلفة.

شكل ٤: يوضح رسم بياني لصورة فحص مجهري بإلكترون ماسح (scanning electron microscopy) (SEM) وتحليل عنصري عن طريق تحليل طيفي مشتت للطاقة (energy-dispersive spectroscopy) (EDS) للجسيمات النانو الذهب المبتكرة.

عنصر	وزن ٪	ذري صفر ٪
Au M	١٠٠	١٠٠
الإجمالي	١٠٠	

شكل ٥: يوضح رسم بياني للتحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء بتحويل Fourier (Fourier transform infrared spectroscopy) (FTIR) من (أ) مستخلص مختلط، (ب) الجسيمات النانو الذهب المخلقة بالطريقة المبتكرة.

شكل ٦: يمثل رسم بياني لطيف UV-Vis لقضبان النانو الذهب المحضرة طبقا للاختراع الحالي، مثال ٢.

شكل ٧: يمثل رسم بياني لأداة تحليل مقاس الجسيم Zeta (zetasizer) لقياس متوسط مقاس قضبان النانو الذهب المُحضرة طبقا للاختراع الحالي، مثال ٢.

العرض (نانومتر)	الشدة ٪	القطر (نانومتر)
ذروة ١: ٠,٤٢٠٤	٦٩	٢,٠٥٠
ذروة ٢: ١٠٢,٩	٢٨,٩	٤٨٢
ذروة ٣: 3.052e-5	٢,١	٢٧٨٠

متوسط Z (r نانومتر): ٩٦,٠١
PdI: ٠,٥٦٢
الاعتراض: ٠,٨٦٠

توزيع المقاس بالشدة

الأشكال ٨(أ)، ٨(ب) و٨(ج) تُقدم رسم بياني لصورة فحص مجهري بإلكترون انبعاث (TEM) لقضبان النانو الذهب المخلقة طبقا للاختراع، مع تكبيرات مختلفة.

شكل ٩: يُقدم رسم بياني لصورة فحص مجهري بإلكترون ماسح (SEM) وتحليل عنصري عن طريق تحليل طيفي مشتت للطاقة (EDS) لقضبان النانو الذهب المُحضرة طبقا للاختراع الحالي، مثال ٢.

العنصر	وزن٪	ذري٪
Au M	١٠٠	١٠٠
الإجمالي	١٠٠	

شكل ١٠: يُقدم رسم بياني لطيف FTIR من (أ) قضبان النانو الذهب المخلقة بالطريقة المبتكرة، (ب) المستخلص المختلط.

شكل ١١: يُقدم رسم بياني لاختبار نشاط مضاد للبكتيريا لقضبان النانو الذهب الصديقة للبيئة ومع مضاد حيوي (٥، ١٠ ميكروجرام/ ملليلتر) على التوالي ضد (أ) E. coli و(ب) العنقودية الذهبية.

شكل ١٢: يوضح رسم بياني لأداة تحليل مقاس الجسيم Zeta لقياس متوسط مقاس الجسيمات النانو الفضة المُحضرة طبقا للاختراع الحالي.

العرض (نانومتر)	الشدة ٪	القطر (نانومتر)
ذروة ١: ٣٩,٥٨	١٠٠,٠	١٠١,٧
ذروة ٢: صفر	صفر	صفر
ذروة ٣: صفر	صفر	صفر

متوسط Z (r نانومتر): ٨٣,٣٤
PdI: ٠,١٨٣
الاعتراض: ٠,٩١٩
الجودة الناتجة: جيدة

توزيع المقاس بالشدة

الأشكال ١٣(أ)، ١٣(ب) و١٣(جـ): توضح رسم بياني لصورة فحص مجهري بإلكترون انبعاث (TEM) للجسيمات النانو الفضة المخلقة بالطريقة المبتكرة (١٠٠ كيلوفولط) مع تكبيرات وأشكال مختلفة.

شكل ١٤: يوضح رسم بياني لصورة فحص مجهري بإلكترون ماسح (SEM) وتحليل عنصري عن طريق تحليل طيفي مشتت للطاقة (EDS) للجسيمات النانو الفضة المبتكرة.

العنصر	وزن٪	ذري٪
Ag L	١٠٠	١٠٠
الإجمالي	١٠٠	

الأشكال ١٥(أ)، ١٥(ب) و١٥(جـ): توضح اختبار النشاط المضاد للبكتيريا من أجل الجسيمات النانو Ag الخضراء المحضرة طبقا للاختراع الحالي ضد (أ) E. Coli (ب) العنقودية الذهبية، (جـ) المكور العقدي (Streptococcus).

<u>الوصف التفصيلي:</u>

مثال ١

تُخلق الجسيمات النانو الذهب الغروانية عن طريق الاختزال الحيوي لأيونات $AuCl_4^-$. يغسل بحرص ١٥ جم من فاكهة Olea Europaea ويضاف إلى ١٥ ملليلتر ماء مزال أيوناته. بعدئذ يطحن، يرشح ويبقى المستخلص لحين استخدامه. يضاف ١٥ جم من Acacia Nilotica إلى ١٥ ملليلتر ماء مزال أيوناته، ينقع طوال الليل، يرشح وبعدئذ يبقى المستخلص لحين استخدامه. تخلط أحجام متساوية من مستخلص فاكهة Olea Europaea ومستخلص Acacia Nilotica لتحضير مستخلص مختلط يفضل أن يحتوي على flavonoids، phenols و/أو pentacyclic triterpenoids. يضاف ٥ ملليلتر من المستخلص المختلط إلى ٥٠ ملليلتر محلول مائي من ٠.١ جزيئي جرامي $HAuCl_4$. بعد ذلك، يقلب الخليط لمدة حوالي ١٠ دقائق عند ٣٥°مئوية، أو يوضع في رجاج لمدة ٣٠ دقيقة عند ١٤٥ دورة في الدقيقة و٣٩°مئوية، أو في حمام ماء بالرج عند ١٢٥ دورة في الدقيقة و٦٠°مئوية أو يبقى عند درجة حرارة الغرفة لمدة ٣ شهور، تقريبا. إن

تغيير اللون من الأصفر الشفاف إلى الأسود وبعدئذ إلى البنفسجي المحمر يشير إلى تشكيل الجسيمات النانو الذهب الخاصة.

تجرى عملية فصل للمستخلصات من مستخلص الفاكهة Olea Europaea ومستخلص Acacia Nilotica، باستخدام قمع فاصل وتختبر الأجزاء المفصولة بواسطة TLC. وجد بوضوح أن المجموعات الفعالة أو تحضير الجسيمات النانو تشمل flavonoids، phenols و/أو pentacyclic triterpenoids. تكون هذه المجموعات الفعالة هي المسئولة بالفعل وتلعب دورا أساسيا كعامل اختزال وتثبيت من أجل التشكيل السريع لقضبان نانو لها درجة تشتيت أحادي عالية.

تم تحليل الجسيمات النانو الذهب المتشكلة: يوضح شكل ١ ذروة الامتصاص (absorption peak) (SPR) الناتجة في النطاق المرئي عند ٥٦٥.٩٧ نانومتر بواسطة تحليل طيفي مرئي بالأشعة فوق البنفسجية (Lambda 25, PerkinElmer, United Kingdom). يشير هذا إلى التشتيت الأحادي والجسيمات النانو الذهب الغراونية. يوضح شكل ٢ أن متوسط مقاس جسيم الجسيمات النانو الذهب هو ٤٠ نانو متر، مقاس بواسطة أداة تحليل مقاس الجسيم Zeta (ZEN 3600, MALVERN, United Kingdom). توضح الأشكال ٣(أ)، ٣(ب)و٣(جـ) صور فحص مجهري بإلكترون انبعاث (TEM) (JEM-1011, JEOL, Japan) من الجسيمات النانو الذهب المحضرة. تكون الجسيمات النانو الذهب غير العضوية كروية الشكل لها شكل سطح أملس. يستخدم طيف EDS، متصل مع SEM (JEOL-FE_SEM)، لتحليل عنصر من الجسيمات النانو الذهب (شكل ٤)، بالإضافة إلى مقياس طيف NICOLET FTIR) 6700, Thermo, USA) (شكل ٥). في هذا التحليل، تُركز الأشعة الإلكترونية فقط على التكتلات الذهبية، بحيث يمكن أن تُمثل النتائج التركيبة الحقيقية لمعلق الذهب. يؤكد التحليل الكمي EDS على إجمالي التركيبة العنصرية للذهب.

لفهم الوصف التفصيلي المذكور أعلاه انظر الرسومات البيانية والصور أدناه.

تلقيح الفئران بخلايا ورم:

نحصل على فئرات إناث سويسرية، عمرها ٦-٧ أسابيع، من وحدة الحيوانات المعملية بجامعة الملك سعود، مركز البحث-السعودية العربية-الرياض. تحقن الفئرات تحت الجلد في جانب الفخذ السفلي مع ٢٠٠ ميكرولتر (٣ × ١٠٧) خلايا كارسينوما Ehrlich Ascites معلقة في ١٠ مللي جزيئي جرامي PBS. يجرى علاج ضوئي حراري بلازموني (plasmonic photothermal therapy) (PPTT) بالأشعة القريبة من تحت الحمراء (Near-infrared) (NIR) مجرد أن يصل حجم الورم إلى قطر ١٠-١٢ ملليمتر (٧-٩ أيام).

PPTT بالأشعة القريبة من تحت الحمراء في الجسم الحي:

يحقن مباشرة في الورم ١٠٠ ميكرولتر من الجسيمات النانو الذهب المبتكرة (الكثافة البصرية لشعاع الليزر λ = ٨٠٨ نانومتر = ٤٠). تتعرض أورام الفأرة خارج الجسم إلى إشعاع ليزر NIR (٠.٩-١.١ وزن/ سم٢، قطر ٦ مم، ١٠ دقائق) خلال الحقن لمدة دقيقتين للحد من انتشار الجسيمات خارج حدود الورم. بسبب معدلات النمو السريعة بشكل غير عادي الملاحظة في نموذج
Ehrlich Ascites، تُحصد الأورام والأعضاء الحيوية في الأيام ١١-١٤ من أجل الاستخدام بصورة منفصلة، تستمر البحوث عن وظائف الكبد والكلى.

التحليل الإحصائي:

تظهر النتائج على أنها متوسط (متوسط ± الانحراف المعياري (standard deviation) (SD))، بينما يكون SD هو الانحراف المعياري. تحلل البيانات إحصائيا باستخدام تحليل التباين في اتجاه واحد يليه اختبار t. تعتبر قيمة ($P < ٠.٠٥$) ذات دلالة إحصائية.

النتائج:

١. حجم الورم:

جدول ١: متوسط التغير في حجم الأورام يليه PPTT بالأشعة القريبة من تحت الحمراء عند إشعاع ٨٠٨ نانومتر للجسيمات النانو الذهب

الزمن	١	٢	٣	٤	٥
اليوم الأول (ملليمتر)	١٠.٨	١٢.١	٥.٦	٩.٧	١١.٥
اليوم السادس (ملليمتر)	٩.٦	٨.٩	١.٧	٤.١	٦.٣

تشير بوضوح النتائج في الجدول ١ إلى خصوصية PPTT بالأشعة القريبة من تحت الحمراء عن طريق خفض حجم الورم عند حقن الجسيمات النانو الذهب المبتكرة بصورة مباشرة.

٢. التغيرات في وظيفة الكبد:

جدول ٢: التغيرات في وظيفة الكبد عن طريق المعالجة مع الجسيمات النانو (NPs) الذهب وفئران صحية بمجموعات المقارنة بدون ورم (المقارنة).

عدد الفئران	١	٢	٣	٤	٥
GOT (الجسيمات النانو) وحدة/ لتر	٤٥٣	٤٤٤	٤٤٥	٤٤٤	٤٦٥
GPT (الجسيمات النانو) وحدة/ لتر	٤٢.٧	٣٠.٥	٤٦.٧	٤٣.٢	٥١.٣
GOT (المقارنة) وحدة/ لتر	٤٤٥	٤٦٦	٤٥١	٤٤٧	٤٤٦
GPT (المقارنة) وحدة/ لتر	٧٠.٧	٧٧	٥٩.٩	٦٩.٨	٥٩.٩

يقاس عموما GPT وGOT لتحديد صحة الكبد. إن GPT (Glutamic–pyruvic transaminase)، المعروف أيضا بأنه ALT (Alanine aminotransferase)، هو إنزيم خلية كبدية سيتوبلازمي، والذي تكون زيادته في الدم مؤشر كبير على تلف الكبد، مثلا عن طريق

التهاب الكبد، تليف الكبد أو أورام كبدية. يطبق GOT (Glutamic oxaloacetic transaminase) كعلامة على صحة الكبد أيضا. عند القياس من أجل البيانات السريرية، تتحدد نموذجيا قيم GPT وGOT بالوحدات لكل لتر (units per liter) (U/l).

جدول ٣ اختبار t غير مزدوج (GPT) بين المجموعتين

المجموعة	المجموعة (مقارنة)	المجموعة (الجسيمات النانو)
المتوسط	٤١.٨٠٠٠	٦٧.٤٦
الانحراف المعياري	١٣.٧٦٨٩	٧.٤٣٧٩٤
متوسط الخطأ المعياري	٦.١٥٨٠٨	٣.٣٢٦٣٥
مقاس العينة	٥	٥

جدول ٤ اختبار t غير مزدوج (GOT) بين المجموعتين:

المجموعة	المجموعة (مقارنة)	المجموعة (الجسيمات النانو)
المتوسط	٣٧٦	٤٥١
الانحراف المعياري	١١٥.٠١٧٣٩	٨.٦٨٩٠٧
متوسط الخطأ المعياري	٥١.٤٣٧٣٤	٣.٨٨٥٨٧
مقاس العينة	٥	٥

في الجدولين ٣ و٤ توضح البيانات من أجل اختبار t غير المزدوج لقياسات GPT وGOT من الجدول ٢، بينما يكون SD الانحراف المعياري، ويكون SEM هو متوسط الخطأ المعياري ويكون N هو مقاس العينة.

باختصار، لا تلاحظ تغيرات جوهرية لوظيفة الكبد بين الفئران المعالجة بجسيمات النانو الذهب (Np) وفئران صحية (المقارنة) عن طريق تحديد GPT. توضح نتائج اختبار t غير المزدوج أن هذا الاختلاف يعتبر ليس له دلالة إحصائية (٩٥٪) (t = -٠.١٤٢، df = ٨، الخطأ

المعياري للاختلاف = ٤.٧٩٦٧٧). حتى بالنسبة لتحديد GOT، لم تلاحظ تغيرات جوهرية في وظيفة الكبد. توضح نتائج اختبار t غير المزدوج أن هذا الاختلاف يعتبر ليس له دلالة إحصائية (٩٥٪) (t = ٢.٠٠٦، df = ٨، الخطأ المعياري للاختلاف = ٥.٦٢).

٣. التغيرات في وظيفة الكلى:

٥ جدول ٥: التغيرات في وظيفة الكلى عن طريق المعالجة بجسيمات النانو الذهب (NPs) وفئران صحية مقارنة بدون ورم (المقارنة).

عدد الفئران	١	٢	٣	٤	٥
Creatinine (جسيمات نانو) مجم/ ديسيلتر	< ٠.٥	< ٠.٥	< ٠.٥	< ٠.٥	< ٠.٥
Urea (جسيمات نانو)	٦١	٧٠	٥٣.٢	٤٨.١	١١٨.٣
Creatinine (المقارنة) مجم/ ديسيلتر	< ٠.٥	< ٠.٥	< ٠.٥	< ٠.٥	< ٠.٥
Urea (المقارنة) مجم/ ديسيلتر	٣٨.١	٤٦.٤	٤٤.٨	٤٦.٥	٤٧.٣

إن urea هو منتج متخلف متشكل من هضم البروتينات. عادة ما يتم نقل urea في البول. يشير مستوى urea العالي في الدم (ارتفاع مستوى urea في الدم (ureamia)) إلى أن الكلى لا تعمل بشكل صحيح أو إلى حدوث الجفاف (انخفاض محتوى الماء في الجسم). يكون ١٠ creatinine هو منتج نفاية تنتجه العضلات. يمر creatinine في تيار الدم، وعادة يخرج في البول. يشير مستوى الدم العالي لأجل creatinine إلى أن الكلى لا تعمل بشكل صحيح. يكون

creatinine عادة علامة على وظيفة الكلى أكثر دقة من urea. نموذجيا، يُذكر urea و creatinine بالمللي جرام لكل ديسيلتر (milligrams per deciliter) (mg/dl).

جدول ٦: اختبار t غير مزدوج (Urea) بين المجموعتين

المجموعة	المجموعة (المقارنة)	المجموعة (الجسيمات النانو)
المتوسط	٦٦.٤٢٠٠	٤٤.٦٢٠٠
الانحراف المعياري	١٠.٠٥٩٦٧	٣.٧٥٥٩٣
متوسط الخطأ المعياري	٤.٤٩٨٨٢	١.٦٧٩٧٠
مقاس العينة	٥	٥

لا توضح التغيرات في بعض وظائف الكلى التي يحددها urea و creatinine اختلافات ضمن الفئران المعالجة بجسيمات النانو (Np) الذهب والفئران الصحية (المقارنة)، كما هو مبين في الجدولين ٥ و٦. بالنسبة لاختبار urea، توضح نتائج اختبار t غير المزدوج من جدول ٦ أن هذا الاختلاف يعتبر ليس له دلالة إحصائية (٩٥٪) (t = ٢.٠٠٦، df = ٨، الخطأ المعياري للاختلاف = ١٢.٧١٢٣٩). يوضح جدول ٥ نفس النتائج لأجل creatinine.

بالنسبة لكل هذه النتائج، توضح أهمية الطريقة المبتكرة والجسيمات النانو المبتكرة المحضرة باستخدام تقنيات تخليقية للكيمياء الخضراء، المشتملة على المستخلص المختلط من مستخلص فاكهة Olea Europaea ومستخلص Acacia Nilotica. تكون الفائدة على وجه الخصوص هي الانجذاب الكبير للجسيمات النانو المبتكرة نحو خلية كارسينوما Ehrlich Ascites.

تم النظر إلى دراسات مماثلة من قبل E. B. Dickerson وآخرون، ٢٠٠٨، الذي قدّم عمل يوضح إمكانية معالجة PPTT في الجسم الحي لأورام خبيثة بالأنسجة العميقة باستخدام قضبان نانو ذهب بلازمونية محضرة بسهولة وليزر الأشعة القريبة من تحت الحمراء (NIR) صغير، منقول، غير مكلف. تلاحظ انخفاضات المقاس المثير في رقعات دخيلة لكارسينوما خلية

حرشفية من أجل الإعطاء المباشر (P < ٠.٠٠٠١) والإعطاء داخل الوريد (P < ٠.٠٠٠٨) لقضبان نانو ذهب pegylated مع إعادة امتصاص > ٥٧٪ من الأورام المحقونة مباشرة و ٢٥٪ من الأورام المعالجة داخل الوريد. تكون الفائدة الجوهرية للاختراع الحالي مقارنة مع هذه الدراسات هي أن استخدام مادة طبيعية خضراء لتخليق جسيمات النانو الذهب كعوامل مضادة للسرطان، يؤدي إلى معالجة أفضل لخلية كارسينوما Ehrlich Ascites.

يذكر Moo-Sung Kim وآخرون، ٢٠١٣، دراسات في المعمل من أجل البحث عن إمكانيات مضادة للأكسدة ومضادة للالتهاب العصبي من مستخلص لب الفاكهة (Olea Europaea Linn. fruit pulp) (OFP-EA) في خلايا دبيقية BV-2 يحفزها LPS. تشير النتائج إلى أن المستخلص OFP-EA يُظهر خواص قوية مضادة للأكسدة.

مثال ٢

تُخلق قضبان النانو الذهب الغروانية لفلز نبيل عن طريق الاختزال الحيوي لأيونات $AuCl_4^-$. يغسل بحرص ١٥ جم فاكهة Olea Europaea ويضاف إلى ١٥ ملليلتر ماء مزال أيوناته. بعدئذ يطحن، يرشح ويبقى المستخلص لحين استخدامه. يضاف ١٥ جم من Acacia Nilotica إلى ١٥ ملليلتر ماء مزال أيوناته، ينقع طوال الليل، يرشح وبعدئذ يبقى المستخلص لحين استخدامه. تخلط أحجام متساوية من مستخلص فاكهة Olea Europaea ومستخلص Acacia Nilotica لتحضير مستخلص مختلط يفضل أن يحتوي على flavonoids، phenols و/أو pentacyclic triterpenoids. يضاف ٥ ملليلتر من المستخلص المختلط إلى ٥٠ ملليلتر محلول مائي من ٠.٠٩ جزيئي جرامي $HAuCl_4$ و cetyl trimethylammonium bromid (CTAB) ٠.٣٥ جزيئي جرامي. يقلب الخليط لمدة حوالي ١٠ دقائق عند ٣٥°مئوية. عند إضافة المستخلص يتغير اللون من البرتقالي الشفاف إلى عديم اللون، وبعدئذ تسقط نقطة واحدة أو أكثر من NaOH ٠.٥ جزيئي جرامي، يشير عديم اللون إلى تشكيل قضبان النانو الخاصة. يجرى اختبار مضاد للبكتيريا Au للقضبان النانو الذهب، يوضح تثبيط كبير ضد كل من بكتيريا موجبة الجرام وسالبة الجرام. كإشارة على ذلك، تحضر أيضا الجسيمات النانو باستخدام مستخلص عضوي حسب الوصف في الفن السابق. تم تحليل القضبان النانو المتشكلة: يوضح شكل ٦ ذروة الامتصاص (SPR) الناتجة في النطاق المرئي عند نطاق ٥١٥.٠٤-٥٦٠ نانومتر بواسطة

تحليل طيفي مرئي بالأشعة فوق البنفسجية (Lambda 25, PerkinElmer, United Kingdom). يشير هذا إلى التشتيت الأحادي للقضبان النانو الذهب. يوضح شكل ٧ أن متوسط مقاس الجسيمات هو ٩٦ نانو متر، مقاس بواسطة أداة تحليل مقاس الجسيم Zeta (ZEN 3600, MALVERN, United Kingdom). توضح الأشكال ٨(أ)، ٨(ب) و٨(جـ) صور فحص مجهري بإلكترون انبعاث (TEM) (JEM-1011, JEOL, Japan) من القضبان النانو الذهب المحضرة. يكون شكل القضبان النانو الذهب له شكل سطح أملس. يستخدم طيف EDS، متصل مع SEM (JEOL-FE_SEM)، لتحليل عنصر من الجسيمات النانو الذهب (شكل ٩). في هذا التحليل، تُركز الأشعة الإلكترونية فقط على التكتلات الذهبية، بحيث يمكن أن تُمثل النتائج التركيبة الحقيقية لمعلق الذهب. يؤكد التحليل الكمي EDS على إجمالي التركيبة العنصرية للذهب، بالإضافة إلى مقياس طيف FTIR (NICOLET 6700, Thermo, USA)، شكل ١٠.

الكائنات المتعضية الدقيقة والنشاط المضاد للبكتيريا

تستخدم مزرعة نقية من Escherichia coli، العنقودية الذهبية، Kleb sp.، Pseudomonas sp.، Salmonella sp.، والمكور العنقودي من البكتيريا. تجرى النشاطات المضادة للبكتيريا لجسيمات النانو والقضبان النانو الذهب المخلقة حيويا بطريقة انتشار قرص. تحضر أطباق وسط آجار لمادة تغذية، تعقم وتتصلب. بعد التصلب تنظف المزارع البكتيرية على هذه الأطباق. تغمر الأقراص المعقمة في محلول جسيمات نانو وقضبان نانو الذهب (١، ٥، ١٠ ميكروجرام/ ملليلتر) وتوضع في وسط آجار لمادة تغذية وتبقى للتحضين عند ٣٧°مئوية لمدة ٢٤ ساعة، حتى يلاحظ النشاط التثبيطي لمنطقة التنظيف حول العيون. يقاس قطر مناطق التنظيف بالملليمتر باستخدام مقياس مسطرة (ruler scale). تكرر التجارب ٣ مرات ويُقدم متوسط قيم قطر المنطقة (N. Savithramma et al., 2011).

النتائج:

جدول ٧: منطقة تثبيط (ملليمتر) القضبان النانو الذهب المحضرة طبقا لمثال ٢، ضد السلالات البكتيرية المختلفة.

العوامل الكاشفة	أقطار منطقة تفسير E coli (ملليمتر)		أقطار منطقة تفسير العنقودية الذهبية (ملليمتر)	
التركيزات	٥ ميكروجرام/ ملليلتر	١٠ ميكروجرام/ ملليلتر	٥ ميكروجرام/ ملليلتر	١٠ ميكروجرام/ ملليلتر
القضبان النانو الذهب	١٥	١٦	١٩	٢٤
مضاد حيوي من القضبان النانو الذهب	٢٧	٣٠	٤٠	٤٥

مثال ٣

تُخلق الجسيمات النانو الفضة الغروانية عن طريق الاختزال الحيوي لأيونات +Ag. يغسل بحرص ١٥ جم من فاكهة Olea Europaea ويضاف إلى ١٥ ملليلتر ماء مزال أيوناته. بعدئذ يطحن، يرشح ويبقى المستخلص لحين استخدامه. يضاف ١٥ جم من Acacia Nilotica إلى ١٥ ملليلتر ماء مزال أيوناته، ينقع طوال الليل، يرشح وبعدئذ يبقى المستخلص لحين استخدامه. يخلط مستخلص فاكهة Olea Europaea ومستخلص Acacia Nilotica لتحضير مستخلص مختلط يفضل أن يحتوي على flavonoids، phenols و/أو pentacyclic triterpenoids. يضاف ٥ ملليلتر من المستخلص المختلط إلى ٥٠ ملليلتر محلول مائي من ٠.١ جزيئي جرامي Ag (No3)2 . بعد ذلك يقلب الخليط لمدة حوالي ١٠ دقائق عند ٣٥°مئوية، أو يوضع في رجاج لمدة ٣٠ دقيقة عند ١٤٥ دورة في الدقيقة و٣٩°مئوية، أو يوضع في حمام ماء بالرج عند ١٢٥ دورة في الدقيقة و٦٠°مئوية أو يبقى عند درجة حرارة الغرفة. إن تغيير اللون من شفاف عديم اللون إلى اللون البني يشير إلى تشكيل الجسيمات النانو الفضة الخاصة.

تجرى عملية فصل للمستخلصات من مستخلص الفاكهة Olea Europaea ومستخلص Acacia Nilotica، باستخدام قمع فاصل وتختبر الأجزاء المفصولة بواسطة TLC. وجد بوضوح أن المجموعات الفعالة أو تحضير الجسيمات النانو تشمل flavonoids، phenols و/أو pentacyclic triterpenoids. تكون هذه المجموعات الفعالة هي المسئولة بالفعل وتلعب دورا أساسيا كعامل اختزال وتثبيت من أجل التشكيل السريع لقضبان نانو لها درجة تشتيت أحادي عالية.

تم تحليل الجسيمات النانو الفضة المتشكلة: يوضح شكل ١٢ أن متوسط مقاس الجسيم للجسيمات النانو الفضة هو ٨٣ نانومتر، مقاس بواسطة أداة تحليل مقاس الجسيم Zeta (ZEN 3600, MALVERN, United Kingdom). توضح الأشكال ١٣(أ)، ١٣(ب) و١٣(جـ) صور فحص مجهري بإلكترون انبعاث (TEM) (JEM-1011, JEOL, Japan) للجسيمات النانو الفضة المحضرة. يكون لجسيمات النانو الفضة غير العضوية أشكال مختلفة مثلا كروية، قضيبية وأشكال أخرى كما هو مبين في الشكل ١٣. يستخدم طيف EDS، متصل مع SEM (JEOL-FE_SEM)، لتحليل عنصر من الجسيمات النانو الفضة (شكل ١٤). يؤكد التحليل الكمي EDS على إجمالي التركيبة العنصرية للفضة.

الكائنات المتعضية الدقيقة والنشاط المضاد للبكتيريا

يوضح اختبار مضاد للبكتيريا للجسيمات النانو الفضة، المحضر باستخدام خليط من مستخلص فاكهة Olea Europaea ومستخلص Acacia Nilotica بنسبة ٣:١ مع نيترات الفضة بالتقليب، تثبيط كبير ضد كل من بكتيريا موجبة الجرام وسالبة الجرام.

تستخدم مزرعة نقية من Escherichia coli، العنقودية الذهبية، Salmonella sp.، والمكورة العنقودية من البكتيريا. تجرى النشاطات المضادة للبكتيريا لجسيمات النانو الفضة المخلقة حيويا بطريقة انتشار قرص. تحضر أطباق وسط آجار لمادة تغذية، تعقم وتتصلب. بعد التصلب تنظف المزارع البكتيرية على هذه الأطباق. تغمر الأقراص المعقمة في محاليل جسيمات نانو فضة (٥، ١٠، ١٥ ميكروجرام/ ملليلتر) وتوضع في وسط آجار لمادة تغذية وتبقى للتحضين عند

٣٧°مئوية لمدة ٢٤ ساعة، حتى يلاحظ النشاط التثبيطي لمنطقة التنظيف حول العيون. يقاس قطر مناطق التنظيف بالملليمتر باستخدام مقياس مسطرة (ruler scale). تكرر التجارب ٣ مرات ويُقدم متوسط قيم قطر المنطقة (N. Savithramma et al., 2011).

النتائج:

جدول ٨: منطقة تثبيط (ملليمتر) الجسيمات النانو الفضة، المحضرة طبقا للاختراع الحالي، ضد السلالات البكتيرية المختلفة.

العوامل الكاشفة	أقطار منطقة تفسير E coli (ملليمتر)			أقطار منطقة تفسير العنقودية الذهبية (ملليمتر)			أقطار منطقة تفسير المكورة العنقودية (ملليمتر)		
التركيزات بالميكروجرام/ ملليلتر	٥	١٠	١٥	٥	١٠	١٥	٥	١٠	١٥
الجسيمات النانو الفضة	١٠	١٢	١٤	١٢	١٤	١٧	١٢	١٣	١٥

إن السمات المعلن عنها في الوصف السابق، عناصر الحماية والرسومات، بمفردها أو في أي اتحاد، قد تكون مادة من أجل تحقيق الاختراع في أشكال متنوعة له.

عناصر الحماية

١- طريقة لتحضير جسيمات نانو لفلز نبيل (noble metal nanoparticles)، تشمل الخطوات التالية:

(أ) تحضير مستخلص فاكهة الزيتون الأوروبي (Olea Europaea)

(ب) تحضير مستخلص السنط النيلي (Acacia Nilotica)

(جـ) خلط مستخلص فاكهة الزيتون الأوروبي (Olea Europaea) ومستخلص السنط النيلي (Acacia Nilotica) من أجل تحضير مستخلص مختلط

(د) توفير محلول مائي محتوي على مركب فلز نبيل مذاب فيه

(هـ) خلط المستخلص المختلط الناتج في الخطوة (جـ) والمحلول المائي من الخطوة (د) لتشكيل جسيمات نانو لفلز نبيل (noble metal nanoparticles).

٢- الطريقة طبقا لعنصر الحماية ١، حيث يحتوي المستخلص المختلط في الخطوة (جـ) على flavonoids، phenols و/أو penthacyclic triterpenoids.

٣- الطريقة طبقا لعنصر الحماية ١ أو ٢، حيث يجرى تحضير مستخلص الفاكهة Olea Europaea بإضافة ماء مُزال أيوناته أو مُقطر إلى فاكهة الزيتون الأوروبي (Olea Europaea).

٤- الطريقة طبقا لأي من عناصر الحماية السابقة، حيث يجرى تحضير مستخلص السنط النيلي (Acacia Nilotica) بإضافة ماء مُزال أيوناته أو مُقطر إلى السنط النيلي (Acacia Nilotica).

٥- الطريقة طبقا لأي من عناصر الحماية السابقة، حيث يخلط مستخلص الفاكهة الزيتون الأوروبي (Olea Europaea) ومستخلص السنط النيلي (Acacia Nilotica) في نطاق نسب الخلط من ١:٥ إلى ٥:١.

٦- الطريقة طبقا لأي من عناصر الحماية السابقة، حيث يكون الخلط من الخطوة (هـ) عند درجة حرارة الغرفة.

٧- الطريقة طبقا لأي من عناصر الحماية السابقة، حيث ينتقى الفلز النبيل من Au أو Ag.

٨- الطريقة طبقا لعنصر الحماية ٧، حيث يكون مركب الفلز النبيل هو Chloroauric Acid.

٩- الطريقة طبقا لأي من عناصر الحماية السابقة، حيث يشمل أيضا المحلول المائي المتوافر في الخطوة (د) منشط سطح.

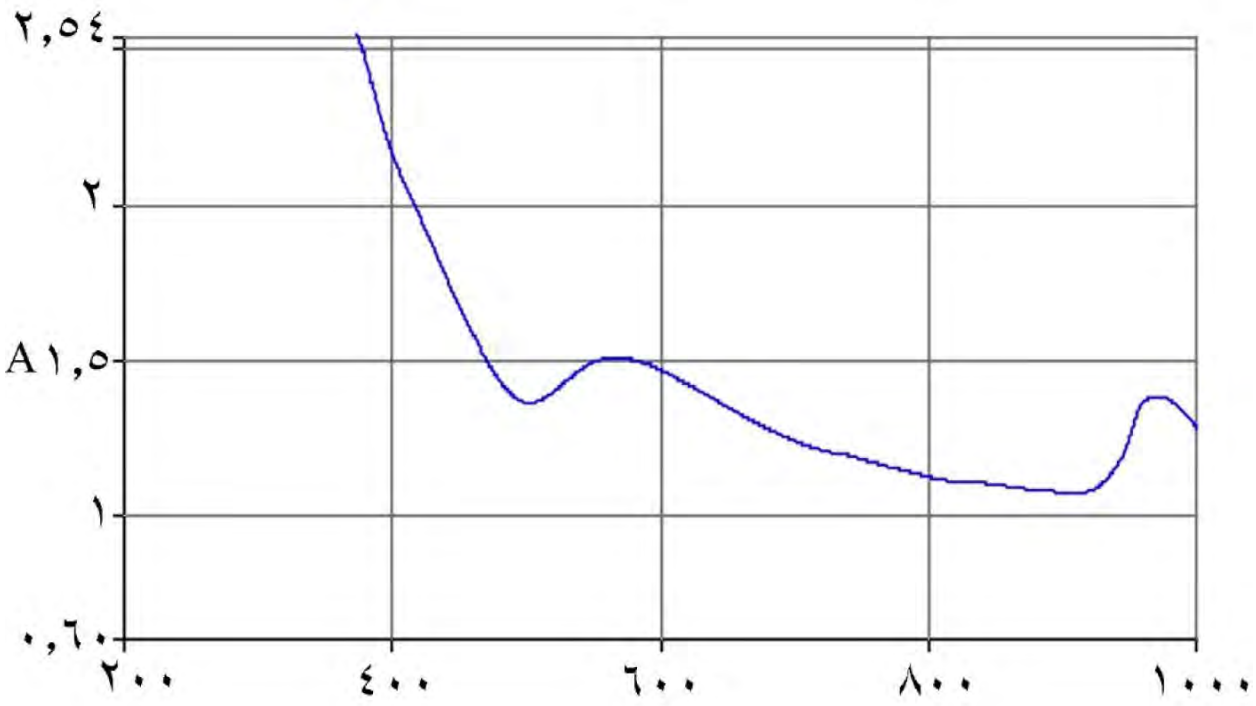
١٠- الجسيمات النانو للفلز النبيل (noble metal nanoparticles) المحضرة بواسطة الطريقة من أي واحد من عناصر الحماية ١-٩، حيث يكون متوسط مقاس الجسيم في نطاق من ١٠-١٠٠ نانومتر.

١١- الجسيمات النانو للفلز النبيل (noble metal nanoparticles) طبقا لعنصر الحماية ١٠، حيث تكون الجسيمات النانو للفلز النبيل (noble metal nanoparticles) كروية.

١٢- الجسيمات النانو للفلز النبيل (noble metal nanoparticles) طبقا لأي واحد من عناصر الحماية ١٠ و ١١، حيث تكون الجسيمات النانو للفلز النبيل (noble metal nanoparticles) أحادية التشتيت.

١٣- الجسيمات النانو للفلز النبيل (noble metal nanoparticles) طبقا لأي واحد من عناصر الحماية ١٠-١٢، حيث تكون الجسيمات النانو (nanoparticles) غروانية.

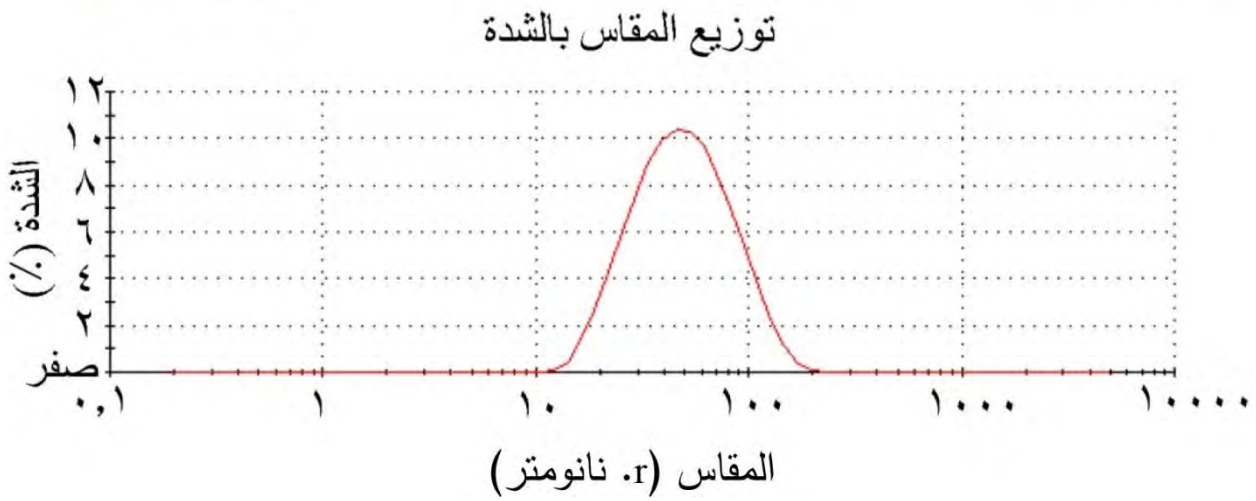
شكل ١



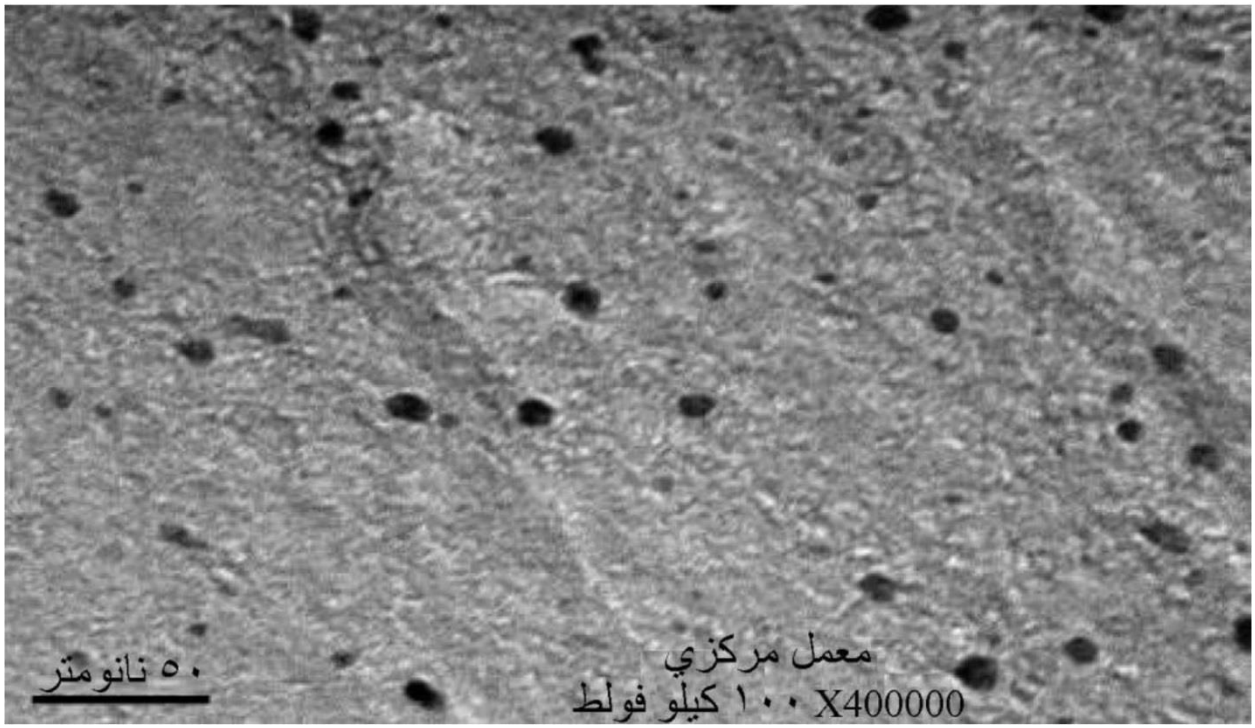
شكل ٢

	العرض (نانومتر)	الشدة ٪	القطر (نانومتر)
ذروة ١:	٢٨,٨٧	١٠٠	٥٤,٧٥
ذروة ٢:	صفر	صفر	صفر
ذروة ٣:	صفر	صفر	صفر

متوسط Z (r نانومتر): ٤٠,٠٣
Pdl: ٠,٢٦٠
الاعتراض: ٠,٩١٥
الجودة الناتجة: جيدة



شكل ٣(أ)

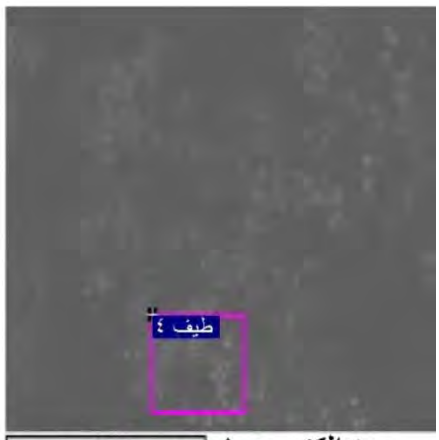


شكل ٣(ب)

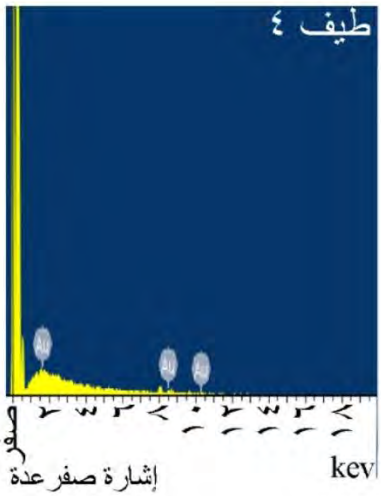
٦,٢٦ نانومتر
٥,٢٢ نانومتر
٨,٣٥ نانومتر
معمل مركزي
١٠٠ كيلو فولط X400000
٥٠ نانومتر

شكل ٣(جـ)

شكل ٤



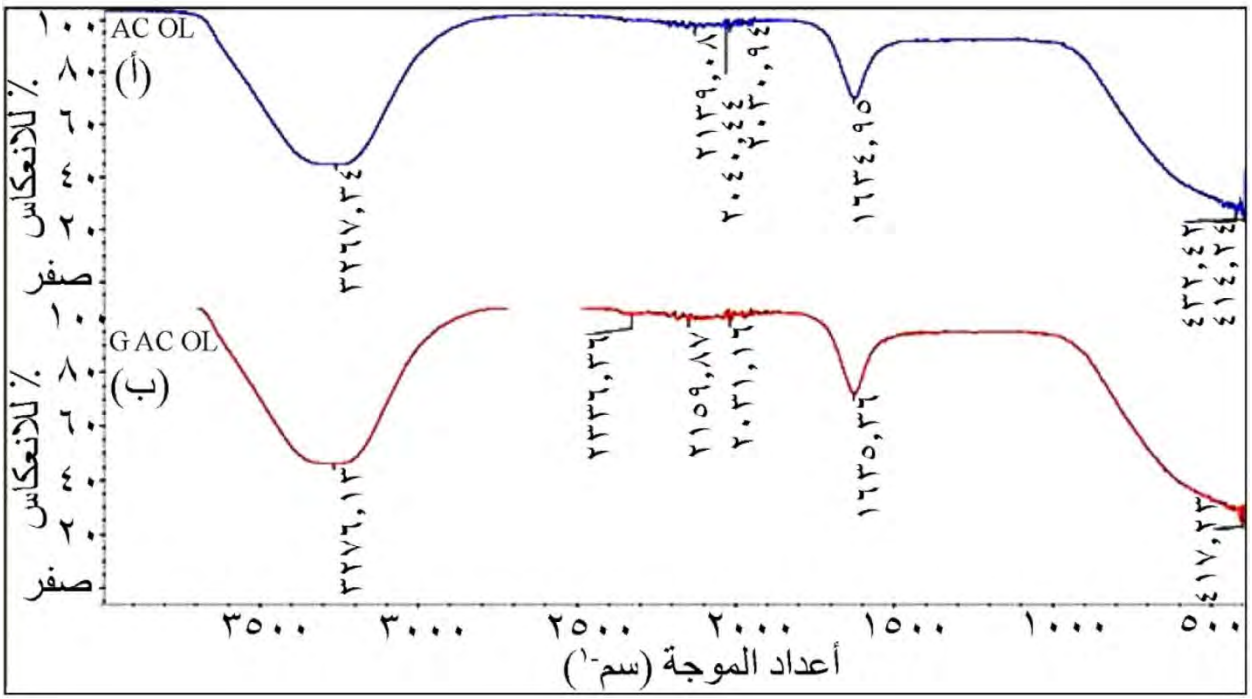
صورة إلكترون ١ ٢ ميكرومتر



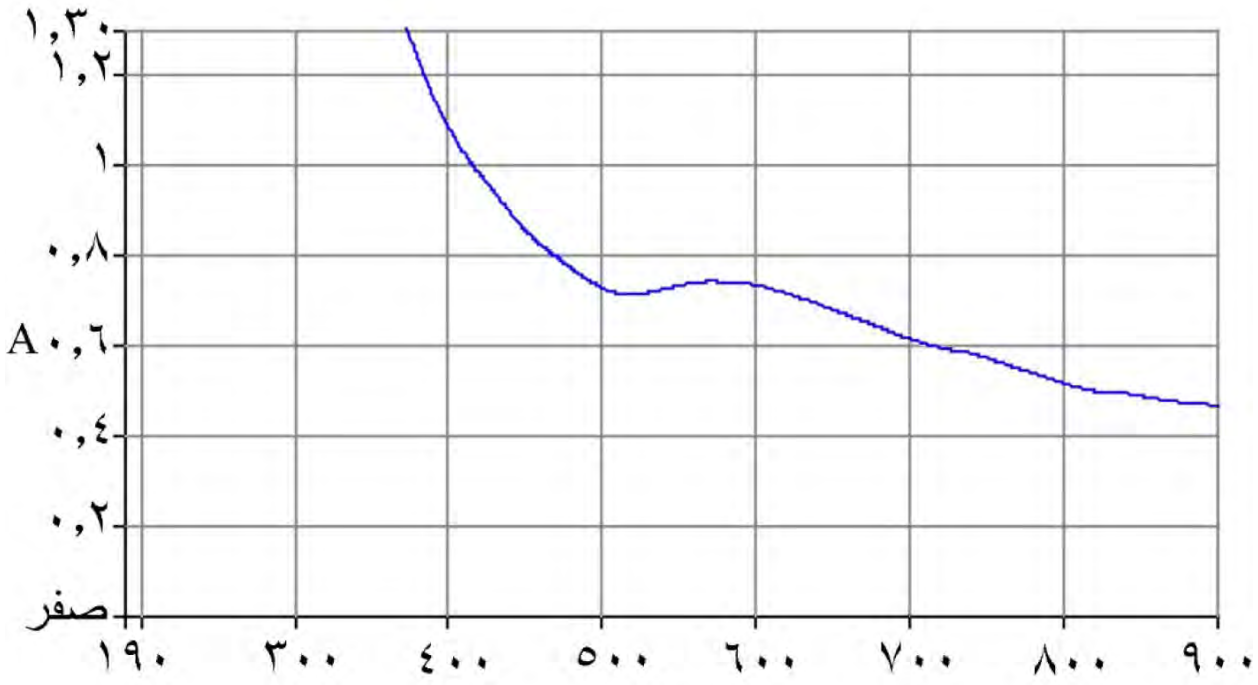
إشارة صفر عدة
تامة النطاق: صفر

عنصر	وزن ٦٪	ذري صفر٪
Au M	١٠٠	١٠٠
الإجمالي	١٠٠	

شكل ٥


AC OL
(أ)
GAC OL
(ب)
% للانعكاس
صفر
٣٢٦٧,٣٤
٢١٣٩,٠٨
٢٠٤٠,٤٤
٢٠٣٠,٩٤
١٦٣٤,٩٥
٤٣٢,٤٢
٤١٤,٢٤
٣٢٧٦,١٣
٢٣٣٦,٣٦
٢١٥٩,٨٧
٢٠٣١,١٦
١٦٣٥,٣٦
٤١٧,٢٣
٣٥٠٠
٣٠٠٠
٢٥٠٠
٢٠٠٠
١٥٠٠
١٠٠٠
٥٠٠
أعداد الموجة (سم-١)

شكل ٦



شكل ٧

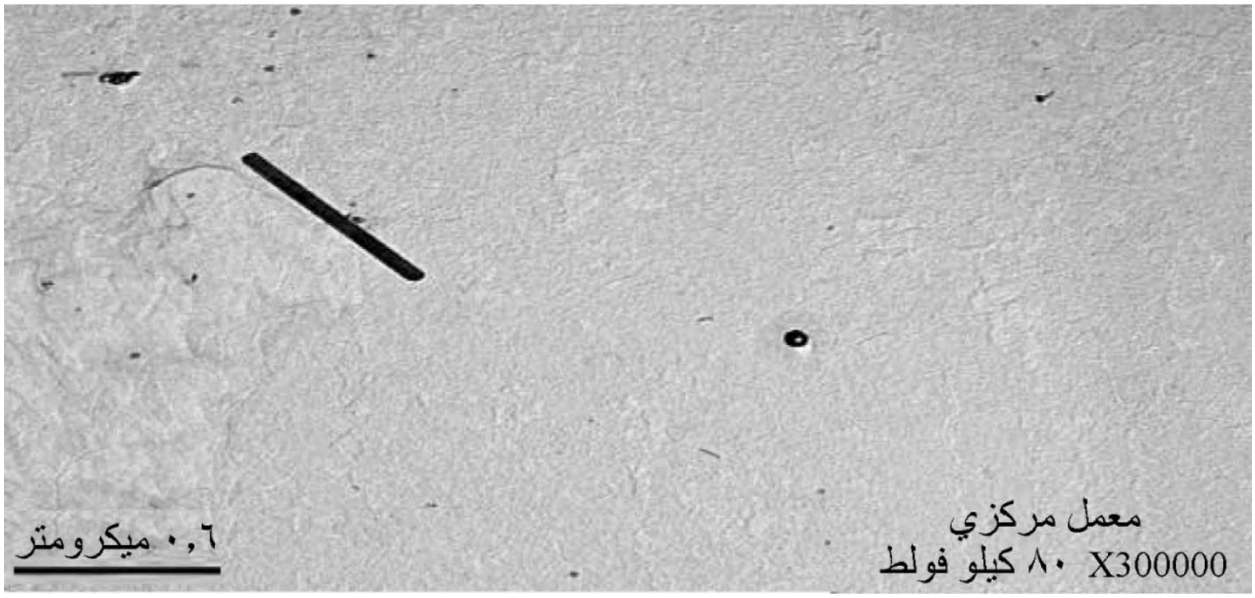
	العرض (نانومتر)	الشدة ٪	القطر (نانومتر)
ذروة ١:	٠,٤٢٠٤	٦٩	٢,٠٥٠
ذروة ٢:	١٠٢,٩	٢٨,٩	٤٨٢
ذروة ٣:	3.052e-5	٢,١	٢٧٨٠

متوسط Z (r نانومتر): ٩٦,٠١
Pdl: ٠,٥٦٢
الاعتراض: ٠,٨٦٠

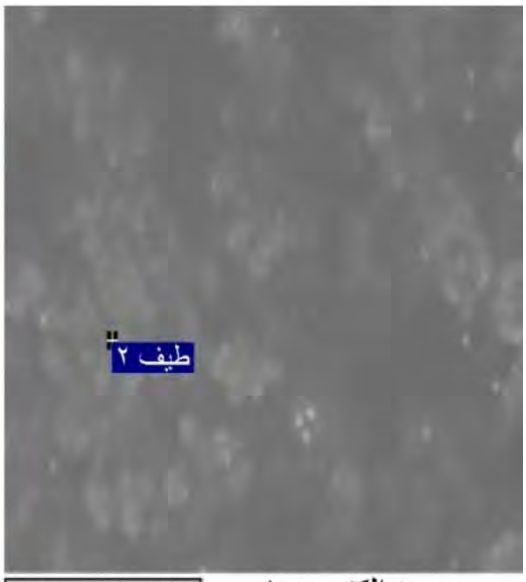
شكل ٨(أ)

شكل ٨(ب)

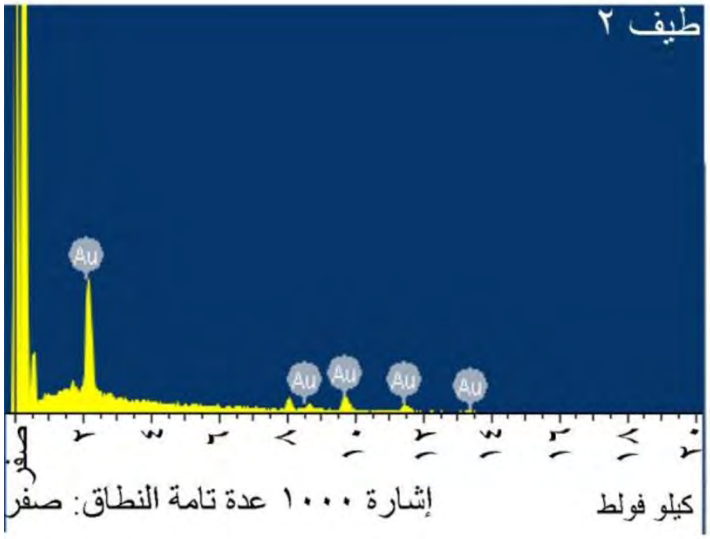
شكل ٨(جـ)



شكل ٩

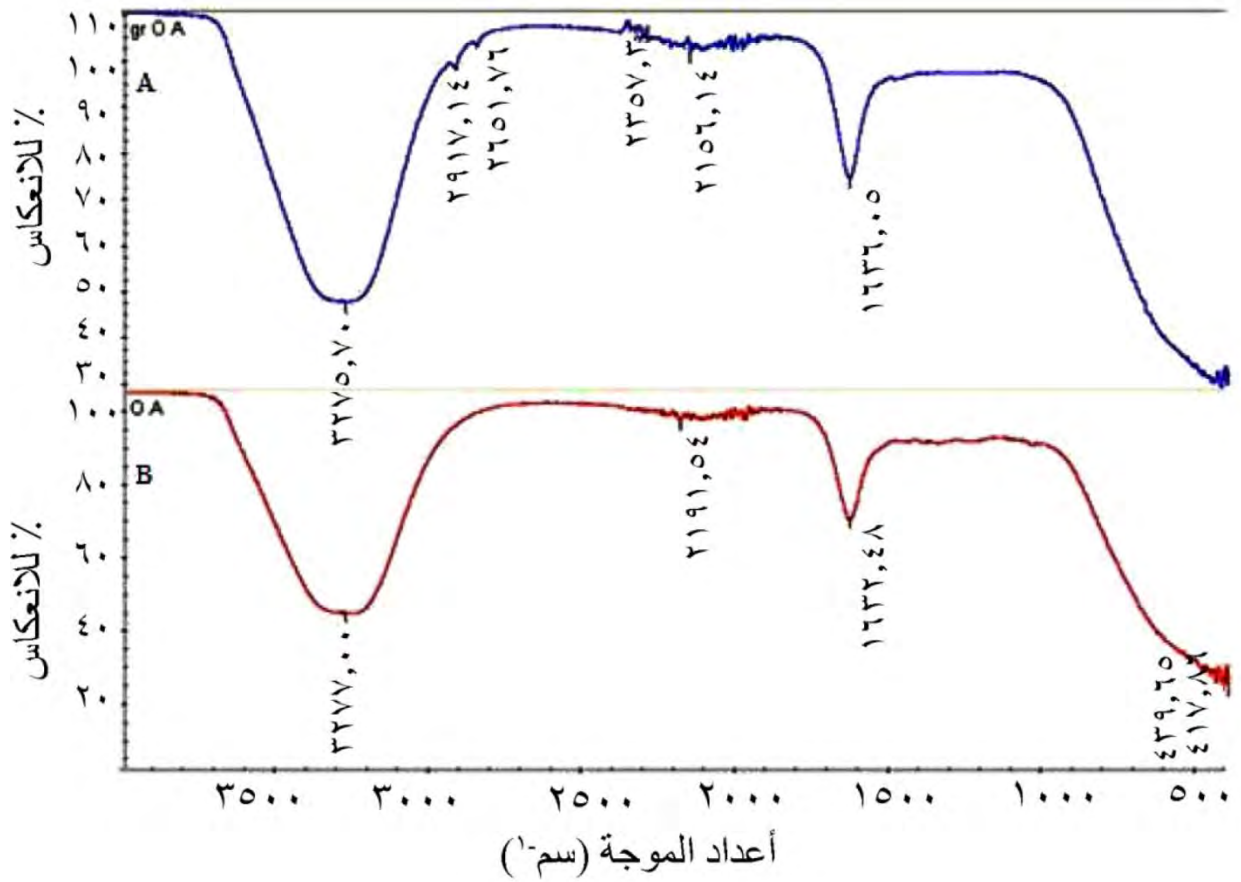


صورة إلكترون ١ ٢ ميكرومتر

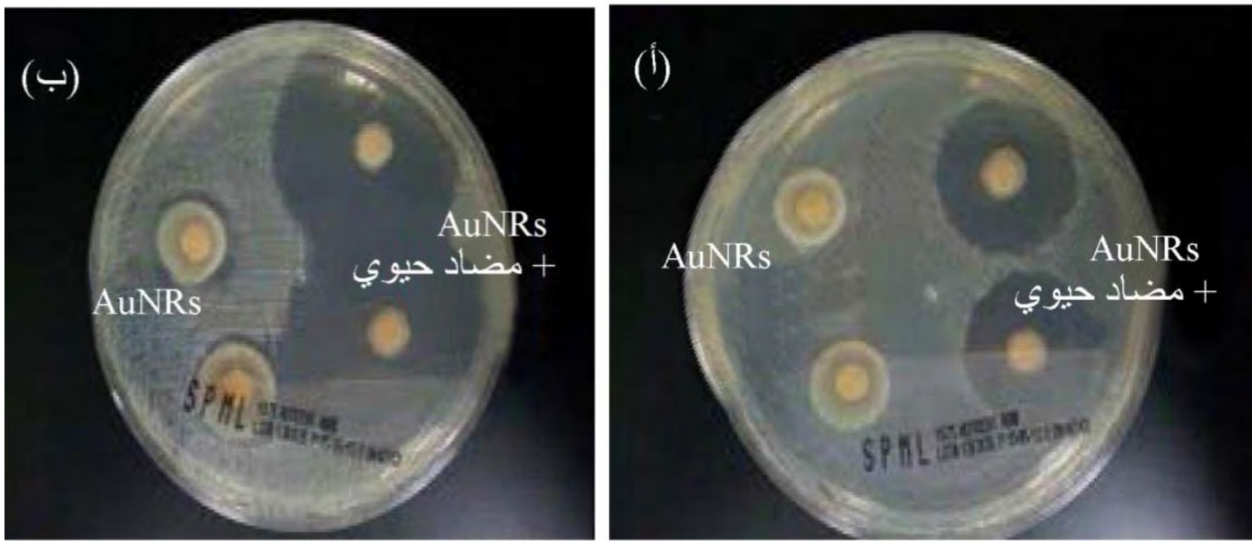


العنصر	وزن٪	ذري٪
Au M	١٠٠	١٠٠
الإجمالي	١٠٠	

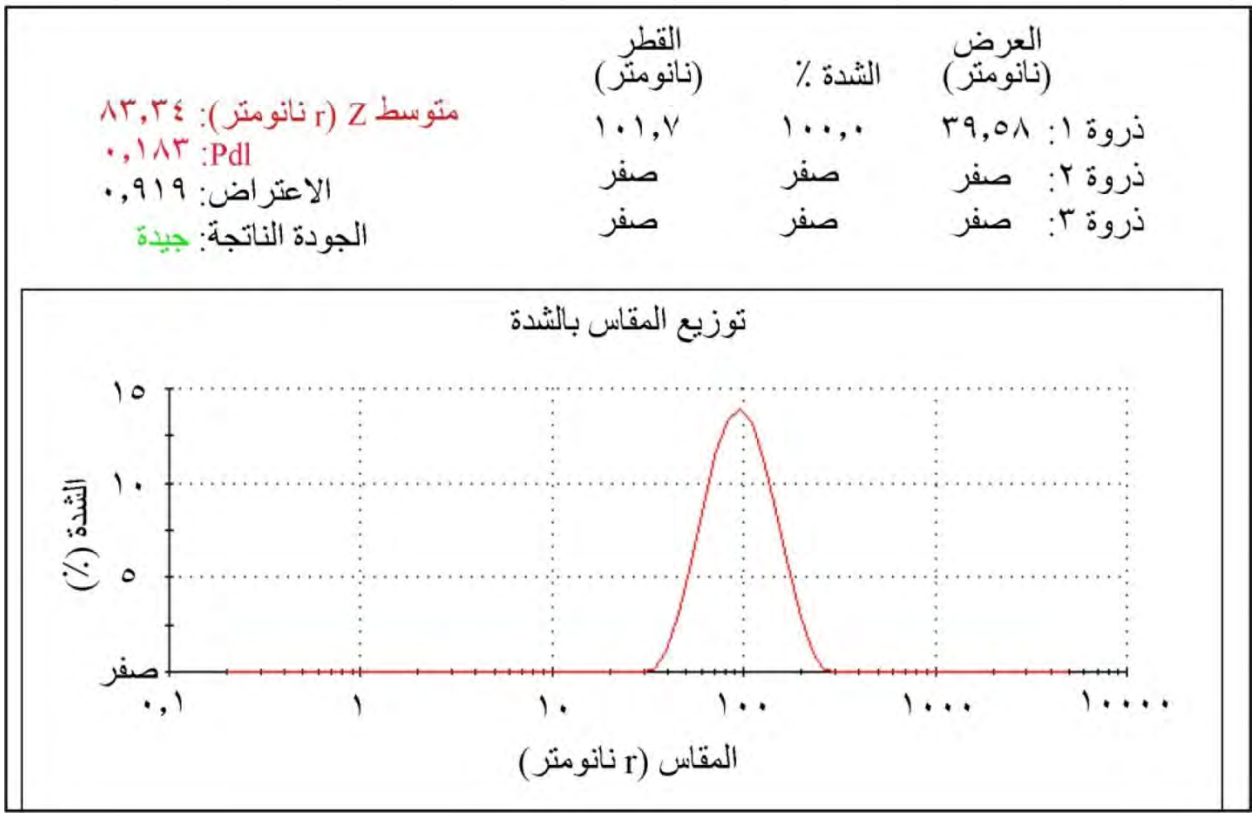
شكل ١٠


gr 0A
A
% للانعكاس
١١٠
١٠٠
٩٠
٨٠
٧٠
٦٠
٥٠
٤٠
٣٠
٣٢٧٥,٧٠
٢٩١٧,١٤
٢٦٥١,٧٦
٢٣٥٧,٣٠
٢١٥٦,١٤
١٦٣٦,٠٥
0A
B
% للانعكاس
١٠٠
٨٠
٦٠
٤٠
٢٠
٣٢٧٧,٠٠
٢١٩١,٥٤
١٦٣٢,٤٨
٤٣٩,٦٥
٤١٧,٨٧
٣٥٠٠
٣٠٠٠
٢٥٠٠
٢٠٠٠
١٥٠٠
١٠٠٠
٥٠٠
أعداد الموجة (سم-١)

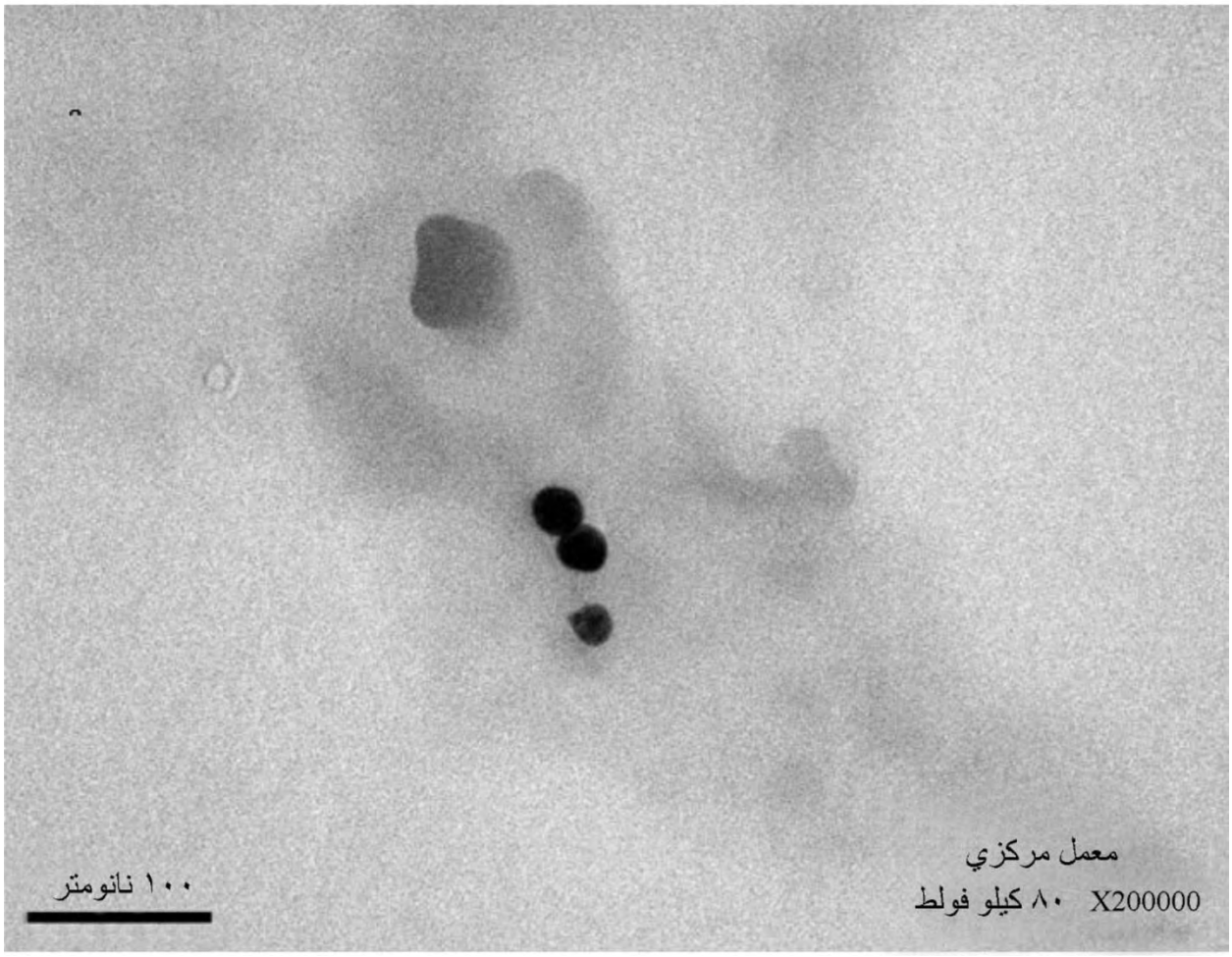
شكل ١١



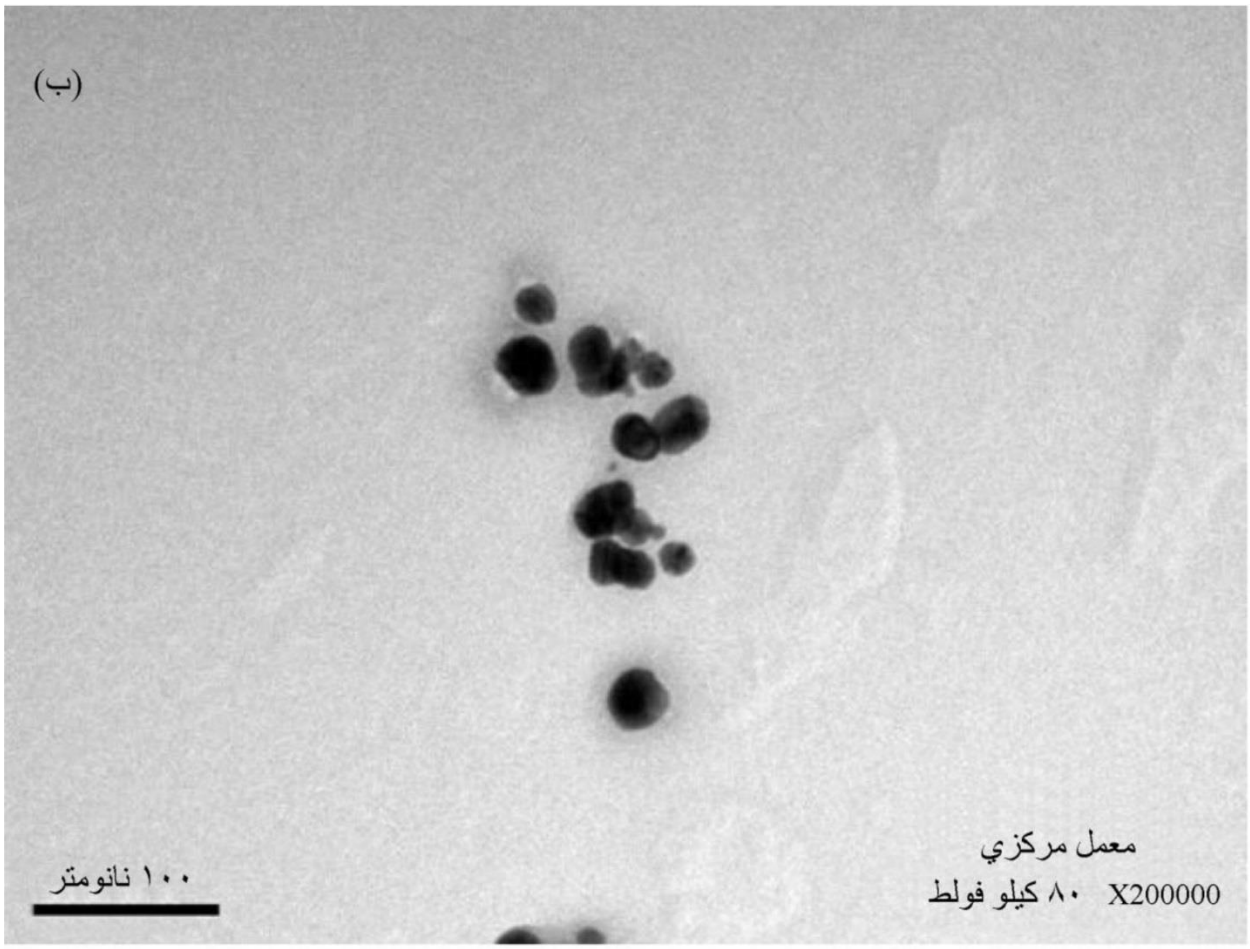
شكل ١٢


العرض (نانومتر)
الشدة ٪
القطر (نانومتر)
ذروة ١: ٣٩,٥٨ ١٠٠,٠ ١٠١,٧
ذروة ٢: صفر صفر صفر
ذروة ٣: صفر صفر صفر
متوسط Z (r نانومتر): ٨٣,٣٤
Pdl: ٠,١٨٣
الاعتراض: ٠,٩١٩
الجودة الناتجة: جيدة
توزيع المقاس بالشدة
١٥
١٠
٥
صفر
الشدة (٪)
٠,١
١
١٠
١٠٠
١٠٠٠
١٠٠٠٠
المقاس (r نانومتر)

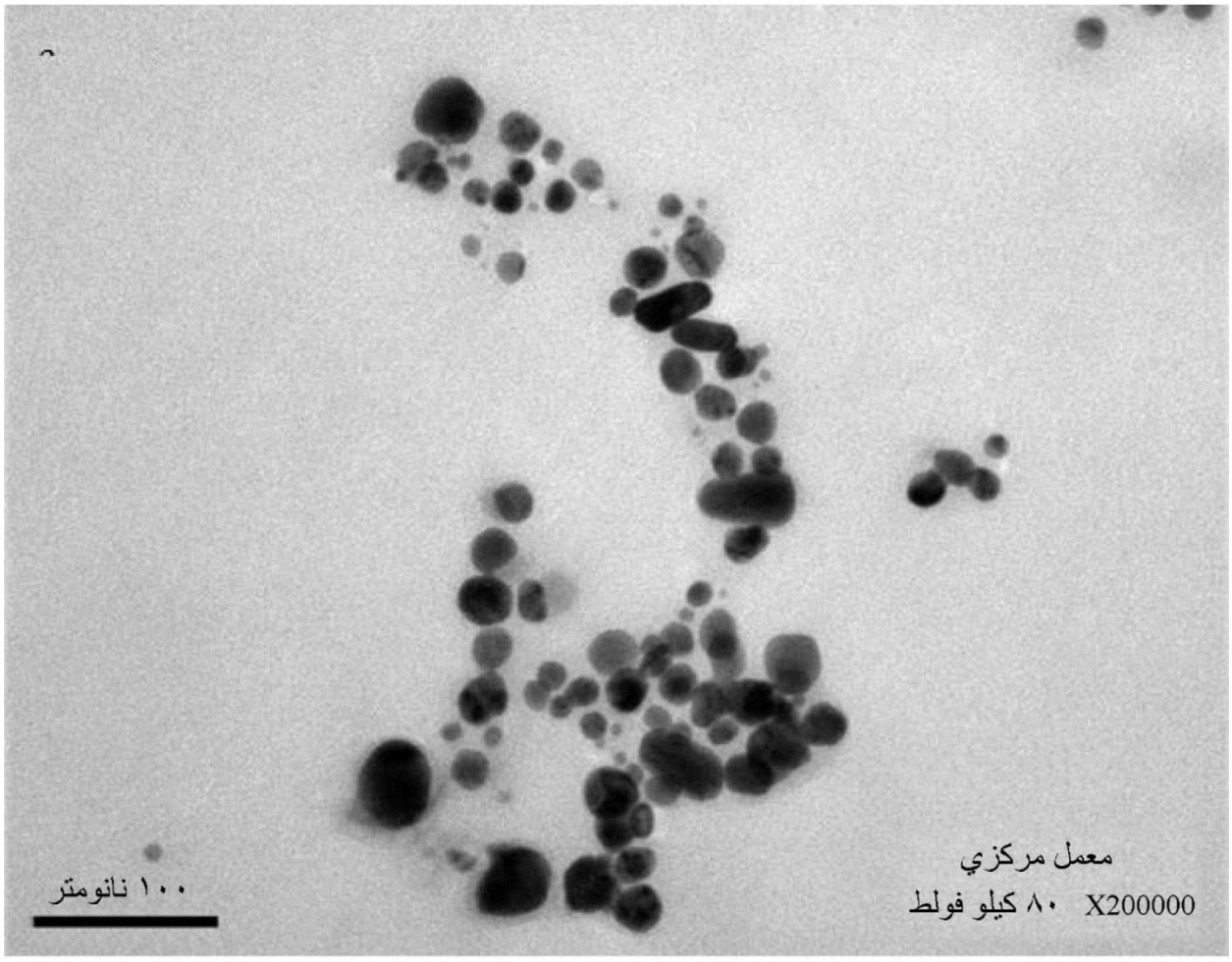
شكل ١٣(أ)



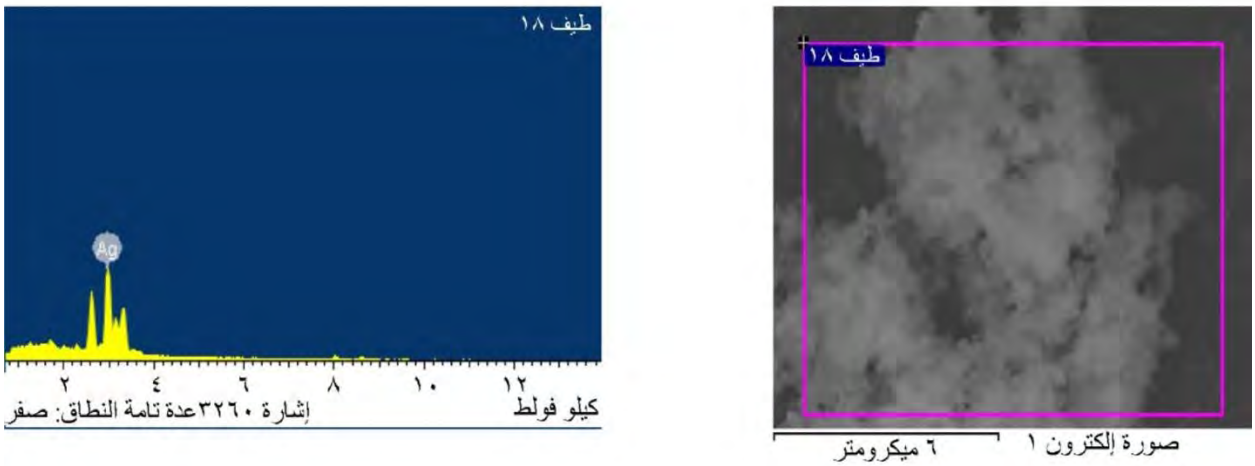
شكل ١٣(ب)



شكل ١٣(جـ)



شكل ١٤



العنصر	وزن٪	ذري٪
Ag L	١٠٠	١٠٠
الإجمالي	١٠٠	

شكل ١٥(أ)

شكل ١٥(ب)

شكل ١٥(جـ)

مدة سريان هذه البراءة عشرون سنة من تاريخ إيداع الطلب

وذلك بشرط تسديد المقابل المالي السنوي للبراءة وعدم بطلانها أو سقوطها لمخالفتها
لأي من أحكام نظام براءات الاختراع والتصميمات التخطيطية للدارات المتكاملة والأصناف النباتية
والنماذج الصناعية أو لائحته التنفيذية

صادرة عن
مدينة الملك عبدالعزيز للعلوم والتقنية ، مكتب البراءات السعودي
ص ب ٦٠٨٦ ، الرياض ١١٤٤٢ ، المملكة العربية السعودية
بريد الكتروني: patents@kacst.edu.sa