



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2013 00833**

(22) Data de depozit: **13/11/2013**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **29/11/2017** BOPI nr. **11/2017**

(41) Data publicării cererii:
29/05/2015 BOPI nr. **5/2015**

(73) Titular:
• **INSTITUTUL DE CHIMIE
MACROMOLECULARĂ "PETRU PONI"
DIN IAȘI, ALEEA GRIGORE GHICA VODĂ
NR.41 A, IAȘI, IS, RO**

(72) Inventatori:
• **CHIRIAC AURICA,
STR.ALEXANDRU VLAHUȚĂ NR.7B, AP.16,
IAȘI, IS, RO;**
• **NIȚĂ LOREDANA ELENA, BD.COPOU
NR.42, BL.A 3, SC.B, PARTER, AP.3, IAȘI,
IS, RO;**

• **NEAMȚU IORDANA,
STR.THEODOR PALLADY NR.8, SC.B,
ET.3, AP.9, IAȘI, IS, RO;**
• **TUDORACHI NIȚĂ, STR. DECEBAL
NR. 14, SC. A, AP. 19, IAȘI, IS, RO;**
• **DIACONU ALINA, STR. VIILOR NR. 17,
TÂRGU BUJOR, GL, RO;**
• **BĂLAN VERA, STR. HLINCEA NR. 23,
BL. 1054, SC. C, ET. 3, AP. 16, IAȘI, IS, RO;**
• **MUNTEANU CONSTANȚA,
STR.SPRĂPUNGHERA SILVESTRU NR.56
BL.T3A SC.B ET.2 AP.9, IAȘI, IS, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
RO 125752 B1; JPH 09208788 A

(54) **PROCEDEU DE SINTEZĂ A UNUI COMPOZIT MAGNETIC**



1 Invenția se referă la un procedeu de sinteză a unui compozit magnetic sub formă de
microparticule de copolimer cu caracteristici combinate de hidrofilie și hidrofobie, și sensi-
3 bilitate la temperatură și/sau pH, cu magnetită încapsulată în matricea polimerică în sinteză,
aplicabil ca instrument terapeutic magnetic în transportul la țintă și eliberarea controlată a
5 medicamentelor.

Documentația în domeniu prezintă sinteza de microparticule polimerice cu caracteris-
7 tici magnetice cu aplicații atât tehnice (separare, transportul fluidelor, tonere), cât și biome-
dicale, analitice sau clinice, cum sunt: transportul la o țintă specifică al medicamentelor, puri-
9 ficarea acizilor nucleici și a proteinelor, separarea celulară, extracția ADN-ului, imobilizarea
enzimatică, sau ca sondă magnetică cu capacitatea de creștere a semnalului sau a
11 contrastului în imagistica de rezonanță magnetică.

Astfel de particule pot fi funcționalizate în scopul de a interacționa cu entitatea bio-
13 logică de interes. Datorită caracteristicilor magnetice, pot fi manipulate de către un câmp
magnetic exterior, așa cum se practică în transportul țintit al principiilor bioactive (medica-
15 mente), separarea magnetică celulară, hipotermie, etc. Aplicațiile biomedicale necesită bio-
compatibilitate, biodegradabilitate, absența reacțiilor imunitare și a toxicității. De asemenea,
17 sunt necesare hidrofilia suprafeței și dimensiuni relativ reduse, în așa fel încât să poată
evada din țesutul reticuloendotelial.

Din punct de vedere tehnologic, s-au dezvoltat metode multifazice de preparare a
19 particulelor polimerice cu caracteristici magnetice prin tehnica de polimerizare în fază etero-
genă (emulsie, suspensie, dispersie, micro- și miniemulsie) sau depunere strat cu strat.
21 Materialul compozit rezultat prezintă una dintre structuri: (1) material magnetic ca miez
încapsulat în coajă polimerică, (2) material magnetic dispersat în matricea polimerică după
23 polimerizare și (3) material magnetic coajă adsorbit în porii polimerului pre-format ca miez.
Proiectarea de matrici polimerice cu segmente hidrofile și hidrofobe, cu diferite funcționalități
25 prezente de-a lungul lanțului macromolecular constituie o premiză pentru cerințele impuse
de eliberarea controlată cu efect retard a principiilor active înglobate (prevenirea agregării,
27 conservarea activității substanței înglobate, cinetica de eliberare) și pentru modelarea
porozității și a dimensiunii porilor.

Totodată, polimerii receptivi la stimuli, de asemenea numiți polimeri „inteligenti” sau
31 „sensibili la mediu”, suferă schimbări rapide de microstructură de la starea hidrofilă la cea
hidrofobă, la mici perturbări de mediu. Modificarea unora dintre stimulii externi, cum ar fi tem-
33 peratura, pH-ul, produc schimbări macroscopice reversibile în structura polimerului, acesta
fiind capabil să revină la starea inițială prin îndepărtarea elementului declanșator. Elementul
35 cheie care asigură caracterul termo sau pH senzitiv este prezența grupelor funcționale, slab
acide sau bazice, ionizabile, atașate pe catena hidrofobă.

O caracteristică esențială este temperatura critică LCST, la care soluția de polimer
are separare într-o fază (stare izotropică) sau în două faze (stare anizotropică), bogate sau
39 sărace în polimer. La temperaturi plasate sub temperatura critică prin legăturile de hidrogen
dintre polimer și moleculele de apă, se realizează dizolvarea polimerului, în timp ce la valori
41 peste temperatura critică, polimerul poate precipita. Valoarea temperaturii critice poate fi
modulată prin încorporarea de grupe funcționale hidrofobe sau hidrofile. Prin asigurarea unui
43 echilibru a proprietăților hidrofil - hidrofobe, mici schimbări de temperatură în jurul tempera-
turii critice fac ca lanțurile macromoleculare fie să colapseze, fie să se extindă, ca răspuns
45 la noile aranjamente ale interacțiunilor hidrofobe și hidrofile dintre lanțurile polimerice și
mediul apos. Astfel, în domenii mici de temperatură sau pH, polimerii senzitivi prezintă reor-
47 ganizări abrupte, ce se pot traduce prin tranziții ale lanțului macromolecular între stările

extinse și compactate de lanț. Proprietățile unice ale polimerilor sensibili la stimuli le oferă acestora multe aplicații în domeniul proceselor chimice și biologice ca suporturi pentru transportul țintit și eliberarea controlată a principiilor bioactive, bio-conjugare, inginerie tisulară, biosenzori, bio-separare, etc.

Poli(N-izopropilacrilamida) PNIPAM este cunoscută ca material termo senzitiv, cu multe aplicații în domeniul tehnic, cât și biomedical, ca suport pentru biomolecule: proteine, enzime, anticorpi, în transportul țintit al principiilor bioactive în asociere cu particule magnetice, medii de cultură tisulară, produse cosmetice, agenți de reținere a apei, adezivi. Polimerul a fost selectat datorită prezenței grupelor amidice puternic polare, pentru a promova activitate programabilă termic. În apă, acest polimer prezintă temperatura minimă critică a soluției LCST, de aproximativ 32°C. La această temperatură sau la una mai joasă, polimerul se dizolvă în apă. Peste temperatura critică, suprafața polimerului devine mai hidrofoabă și polimerul colapsează. Metacrilatul de (2-dimetilamino)etil (DMAEMA) este un monomer acrilic cu două grupe funcționale, metacrilică și aminică. Acest monomer reacționează cu ușurință prin mecanism de adiție cu o mare varietate de compuși organici și anorganici și este folosit în sinteza de polimeri și copolimeri, conferindu-le adeziune față de suporturi metalice și materiale plastice, proprietăți filmogene și afinitate excelentă față de piele și păr. Grupa aminică din DMAEMA conferă solubilitate în apă, prin cuaternizare la săruri de amoniu pentru preparare de polimeri cationici. Polimerul obținut din acest monomer poli[(metacrilatul de (2-dimetilamino)etil] (PDMAEMA) este un polielectrolit cationic tipic cu grupe aminice terțiare, care sunt ionizate în zona de pH acid și încărcat pozitiv. PDMAEMA prezintă sensibilitate atât la pH, cât și la temperatură, tranziția de fază critică pKa este 7,6 în apă pură, iar temperatura minimă critică a soluției LCST este în domeniul 38...50°C, ambele valori fiind apropiate de valoarea fiziologică. În consecință, introducerea acestui monomer în structura copolimerului conferă sensibilitate la mediu, cu efect asupra domeniului de aplicații biomedicale, cum ar fi: sisteme de transport genetic și eliberare controlată sensibilă la glucoză. Având în vedere proprietățile prezentate, acest monomer intră în compoziția agenților de floculare/coagulare pentru tratamentul apei, promotori de adeziune, îmbunătățire a strălucirii și a viscozității vopselelor, lacurilor destinate acoperirilor arhitecturale sau în industria automobilelor, cât și la sinteza de produse cosmetice sau de îngrijire personală.

Acidul itaconic (AI) intră în compoziția copolimerilor destinați atât materialelor cu aplicații tehnice (lentile specializate, aglutinanți, materiale de legătură, agenți chelatori), cât și ca biomateriale (de exemplu: adezivi dentari, compatibili fiziologic).

În brevetul **US 8338562**, se descrie sinteza de polimeri biocompatibili, netoxici și nebiodegradabili, care au în compoziție N-izopropilacrilamidă, destinați unor formulări farmaceutice pentru substanțe bioactive, slab solubile în apă.

US 7001589 se referă la nanosfere compozite, cu dimensiuni de 100...500 nm, conștând din nanoparticule anorganice distribuite într-o fază organică ce conține cel puțin un polimer hidrofil derivat de N-alchilacrilamidă sau N-N-dialchilacrilamidă, capabile să se cupleze cu liganzi selectați din grupa substanțelor de interes terapeutic (anticorp, fragment de anticorp, polipeptidă, proteină, enzimă, fragment de acid nucleic și biotină) sau agenți de blocare sau inhibare a activității proteice, pentru a forma un conjugat.

Un exemplu specific, prezentat în **EP 2139932**, descrie obținerea de particule compozite ce conțin un polimer pe bază de NIPAM și un acid carboxilic, în toluen ca mediu de reacție, cu particule metalice în proporție de 50...80% gravimetric. Separarea și purificarea particulelor compozite sintetizate se face prin precipitare repetată în dietil eter. Particulele compozite sunt destinate unui domeniu larg de aplicații tehnice și medicale (materiale electronice, optice, biomateriale). Procedul prezintă dezavantajul că reacția implică folosirea de solvenți organici poluanți pentru mediu.

US 8404347 prezintă particule compozite magnetice amfifile formate din miez și coajă, obținute printr-un proces secvențial în mai multe etape: miezul conține atât copolimer hidrofof vinilic grefat, homopolimer vinilic hidrofof, cât și nanoparticule magnetice, iar coaja este un polimer hidrofil ce conține azot. Procesul descris include radicalii generați la atomii de azot ai polimerului solubil în apă și inițierea copolimerizării cu monomerul vinilic ce conține nanoparticulele magnetice, acestea urmând a fi încapsulate în matricea polimerică. Brevetul **US 6866838** descrie nanosfere compozite cu dimensiuni de 50...1000 nm, tip coajă-miez, în care miezul constă dintr-o fază organică în care sunt distribuite nanoparticule anorganice, iar coaja este cel puțin un polimer hidrofil, derivat din polimerizarea unui monomer solubil în apă, în particular o N-alchil acrilamidă (cum ar fi N-izopropilacrilamida) sau o N-N-dialchil-acrilamidă. Comonomerii ce intră în structura copolimerului sunt selectați din grupa alchil acrilatilor sau a alchil metacrilatilor și un monomer hidrofof selectat din grupa celor vinil-aromatici. Reacția se desfășoară în prezența unui inițiator radicalic selectat din grupa sărurilor de peroxidisulfati. Nanosferele compozite conform invenției au aplicații în domeniul tehnic (cerneluri, vopsele, plastice), iar când sunt funcționalizate, în domeniul biomedical (separarea moleculelor biochimice sau biologice, teste de diagnosticare, compoziții terapeutice, profilactice sau cosmetice).

Aplicarea N-izopropilacrilamidei și a acidului itaconic în sinteza de materiale polimerice sub formă de geluri cu rezistență mecanică ridicată este descrisă în brevetul **US 6960617**. Conform procedeului descris, amestecul de monomeri în prezența unui agent de întărire este supus condițiilor de reticulare pentru a genera hidrogelul.

În brevetul **US 5814687** se prezintă sinteza de particule polimerice magnetice pe bază de blocuri hidrofile și hidrofofe, de tip amidic, cum ar fi: N-metilolacrilamida, acrilamida, metacrilamida, sau metilenbisacrilamida, și (met)acrilati, cum ar fi metacrilatul de N,N'-diaminoetil.

US 6048522 prezintă o compoziție pentru aplicații în transportul de medicament cu eliberare controlată, sub formă de emulsie, ce cuprinde: 5...70% monomer vinilic în soluție a unui ulei (siliconic, mineral sau ester organic insolubil în apă), cu un inițiator radicalic și un agent tensioactiv, în mediu apos, pentru a se realiza emulsia. Monomerul vinilic este vinil amidă sau vinil lactamă, opțional cu un comonomer, cum ar fi metacrilatul de N,N'-diaminoetil.

Brevetul **US 7160971** descrie copolimeri metacrilici multifuncționali care manifestă o comportare cationică pH-senzitivă, cât și solubilitate în apă în mediu acid. Copolimerii sunt alcătuiți din metacrilati de dietilaminoetil sau dimetilaminoetil și sunt propuși pentru aplicații biomedicale la transportul țintit al medicamentelor. De asemenea, pot fi asociați cu material genetic pentru a genera un vector de transformare genetică, cu proteine în vederea separării lor sau cu medicamente pentru eliberare controlată. Avantajul este faptul că sunt pH-senzitivi, iar eliberarea principiului bioactiv este asociată cu pH-ul mediului înconjurător. Alt avantaj subliniat în brevet este lipsa de citotoxicitate.

De asemenea, în **RO 125752 B1**, se dezvăluie un procedeu de sinteză a unui compozit magnetic utilizat ca purtător în aplicații terapeutice, în care, într-o primă fază, are loc dispersia a 3,9-divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5,5]undecanului în prezență de dodecilbenzen-sulfonat de sodiu, agent tensioactiv, și ferită sub formă de ferrofluid stabilizat, având o concentrație de 2,8%, cu agitare la 70°C, după care, în a doua fază, se adaugă azoizobutironitril ca inițiator radicalic, dispersat în apă cu metacrilat de 2-hidroxietyl sau amestec de metacrilat de 2-hidroxietyl și metacrilat de glicidil, după care produsul rezultat este prelucrat și liofilizat, obținându-se un compozit magnetic având un grad de gonflare la echilibru de 149% și o conductivitate electrică de 0,584 mS/cm.

În **JPH 09208788 A**, se prezintă obținerea unor particule polimerice magnetice dispersate într-un mediu apos.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în obținerea unui compozit magnetic cu proprietăți de hidrofilie și hidrofobie, și sensibilitate la temperatură și/sau pH.

Procedeul de sinteză a unui compozit magnetic sub formă de microparticule ale unui copolimer pe bază de N-izopropilacrilamidă, metacrilat de dimetilaminoetil și acid itaconic cu magnetită încapsulată în matricea polimerică, în sinteză, conform invenției, constă din copolimerizarea la o temperatură de 75°C, cu agitare de 250 rot/min, timp de 6 h, în prezență de 0,3% peroxidisulfat de amoniu față de amestecul de monomeri și magnetită stabilizată și tratată la suprafață cu 0,5% 3-amino propil-trietoxi-silan sub formă de dispersie apoasă, în proporție de 1% față de monomeri, un amestec de monomeri: 70...50% N-izopropilacrilamidă, corespunzător a 30,9...22,1 mmol, 20...40% metacrilat de (2-dimetilamino)etil, corespunzător a 6,6...12,9 mmol, și 10% acid itaconic cu 3,85 mmol, în dispersie apoasă pentru un conținut teoretic în substanță solidă de maximum 20%, produsul astfel obținut fiind separat pe magnet, spălat cu apă distilată în exces, uscat.

Procedeul conform invenției prezintă următoarele avantaje:

- este un procedeu ecologic, fără emanații toxice, simplu de aplicat pe instalații existente, cu un număr redus de faze tehnologice;
- prezența segmentelor hidrofile și hidrofobe în structura copolimerului, respectiv selectarea monomerilor cu anumite funcționalități, permite modelarea caracteristicilor de sensibilitate la factorii de mediu (temperatura, pH), a cineticii de eliberare a principiilor bioactive ce urmează să fie înglobate, cât și prevenirea agregării;
- conținutul de oxid metalic poate fi modificat conform aplicației;
- stabilitate la stocare, cât și operațională, în decursul unei potențiale utilizări.

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

Exemplu

Într-o instalație de laborator în sine cunoscută, compusă dintr-un vas de reacție de 100 ml cu fund rotund și trei găuri, echipat cu agitator, condensator de reflux și termometru, plasat în baia de apă pentru încălzire, în prima fază se alimentează monomerii: N-izopropilacrilamida (NIPAM), metacrilatul de (2-dimetilamino)etil (DMAEMA) și acidul itaconic (AI), solviți în 8 ml apă distilată, sub agitare de 250 rot/min. Se adaugă magnetita stabilizată și tratată la suprafață cu un alcxisilan (3-amino propil-trietoxi-silan), sub formă de dispersie apoasă. Cantitățile componentelor conform recepturii în % gravimetrice, grame și mmol sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1

Receptura în sinteza compozitului magnetic

Componenta	Cantitate		
	%	grame	mmol
NIPAM	70...50	3,50...2,50	30,9...22,1
DMAEMA	20...40	1,00...1,96	6,6...12,9
AI	10	50	385
Peroxidisulfat de amoniu ¹⁾	3	15	6,57 x 10 ⁻²
Apa ²⁾	20	20	110
Magnetita silanizată în dispersie apoasă ³⁾	1 ⁴⁾	10	-

1) - calculat față de cantitatea de monomeri

2) - calculat pentru un conținut teoretic de substanță solidă de 20%

3) - concentrație magnetită în dispersie apoasă este de 0,5%

4) - calculat față de cantitatea de monomeri

RO 130243 B1

Se încălzește sistemul la 75°C, menținându-l sub agitare. Când temperatura de reacție atinge valoarea de 75°C, în faza a doua se adaugă cantitatea de inițiator radicalic peroxidisulfat de amoniu dizolvat în 2 ml apă distilată.

Se continuă reacția pentru durata totală de 6 h, sub agitare de 250 rot/min, la 75°C; în final se răcește amestecul de reacție, menținând agitarea. Rezultă un material compozit care se separă din mediul de reacție pe un magnet și se spală repetat cu apă distilată în exces, pentru îndepărtarea reactanților nereacționați. Spălarea se realizează până când analiza prin spectroscopie UV a apelor reziduale nu indică prezența monomerilor. Urmează uscarea la vid la temperatura de 60°C și 500 mmHg, timp de 24 h. Compozitul magnetic se păstrează în exicator, în vederea analizelor și a prelucrării ulterioare (încapsulare de substanțe bioactive). Copolimerul poli(NIPAM- DMAEMA- Al) cu magnetita încapsulată sintetizat ca instrument terapeutic, purtător magnetic de substanțe bioactive pentru transportul la țintă și eliberarea controlată a medicamentelor, a fost caracterizat din punct de vedere al distribuției dimensiunilor prin difuzia luminii laser, potențialului zeta în dispersie apoasă, a magnetizării și a stabilității termice. În tabelul 2 sunt prezentate unele proprietăți ale probelor de compozit magnetic cu 50...70% grav. NIPAM, iar în tabelul 3 sunt înregistrate principalele caracteristici deduse din analiza termogravimetrică realizată pe variantele ce conțin cantitatea minimă și cea maximă de NIPAM în amestecul de comonomeri (50% grav NIPAM și 70% NIPAM).

Tabelul 2

Unele proprietăți ale probelor de compozit magnetic cu 50...70% grav. NIPAM

Diametru hidrodinamic mediu, nm		5240...5300
Indice de polidispersitate PDI ^{a)}		0,575...0,673
Potențial zeta, mV ^{b)}		26...27
Magnetizare ^{c)}	Susceptibilitate magnetică σ , uem/g	9,92...10,1
	Intensitatea câmpului magnetic H, Oe	15413

a) - reflectă caracterul monodispers ca dimensiune al probei

b) - determinat la pH 5,5 și 25°C

c) - determinată pe un magnetometru cu vibrație, proba fiind înglobată în ceară pentru a se evita vibrațiile

Tabelul 3

Analiza termogravimetrică a probelor de compozit magnetic cu 50 și 70% grav. NIPAM

Proba	Viteza de Încălzire [°C/min ⁻¹]	Etape de degradare	Ti °C	Tm °C	Tf °C	ΔW %	T ₁₀ °C	T ₅₀ °C
Copolimer cu 50% NIPAM	10	I II III IV reziduu	4e+10	6,80e+14	9,0e+10	5e+17	136	253
Copolimer cu 70% NIPAM	10	I II III IV reziduu	4e+10	7,84e+14	9,7e+10	6e+17	139	341

x) - Analiza TGA s-a realizat în intervalul de temperatură 30... 600°C, în azot, cu o viteză de încălzire de 10°/min
Ti, Tm, Tf - temperatura inițială, temperatura vitezei maxime de pierdere în greutate și temperatura finală a proceselor principale de descompunere termică; ΔW - pierderi în greutate pe intervalul Ti -Tf; T₁₀ și T₅₀ - temperatura corespunzătoare pierderilor în greutate de 10%, respective 50%.

RO 130243 B1

Analizând rezultatele procesului de degradare termică, se observă că acesta prezintă 1
4 trepte de descompunere pentru ambele variante de compozit magnetic: procesul de
descompunere termică debutează în prima treaptă cu pierderi în greutate reduse, în timp ce 3
etapele următoare decurg cu pierderi în greutate mari, cu valori comparabile pentru ambele
variante, în final cantitatea de reziduu fiind de 8,50% pentru copolimerul cu 50% grav. 5
NIPAM, respectiv 12,14%, pentru varianta cu 70% grav. NIPAM.

1

Revendicare

3

5

7

9

11

13

Procedeu de sinteză a unui compozit magnetic sub formă de microparticule ale unui copolimer pe bază de N-izopropilacrilamidă, metacrilat de dimetilaminoetil și acid itaconic cu magnetită încapsulată în matricea polimerică, în sinteză, **caracterizat prin aceea că** se copolimerizează la o temperatură de 75°C, cu agitare de 250 rot/min, timp de 6 h, în prezență de 0,3% peroxidisulfat de amoniu față de amestecul de monomeri și magnetită stabilizată și tratată la suprafață cu 0,5% 3-amino propil-trietoxi-silan sub formă de dispersie apoasă, în proporție de 1% față de monomeri, un amestec de monomeri: 70...50% N-izopropilacrilamidă corespunzător a 30,9...22,1 mmol, 20...40% metacrilat de (2-dimetilamino)etil corespunzător a 6,6...12,9 mmol, și 10% acid itaconic cu 3,85 mmol, în dispersie apoasă pentru un conținut teoretic în substanță solidă de maximum 20%, produsul astfel obținut fiind separat pe magnet, spălat cu apă distilată în exces, uscat.



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 593/2017