



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2016 00620**

(22) Data de depozit: **07/09/2016**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **28/05/2021** BOPI nr. **5/2021**

(41) Data publicării cererii:
30/03/2018 BOPI nr. **3/2018**

(73) Titular:

• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
CHIMIE ȘI PETROCHIMIE - ICECHIM,
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.202,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:

• **ZAHARIA ANAMARIA,
STR. SERGENT GHEORGHE TACHE
NR. 8, BL. B44, SC. 1, ET. 4, AP. 14,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **RADU ANITA-LAURA,
INTR. CUCURUZULUI NR. 20, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **SÂRBU ANDREI, STR.VALEA OLTULUI
NR.16, BL.A 28, SC.C, ET.2, AP.37,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**

• **TEODORESCU SAVA MIRCEA,
CALEA VĂCĂREȘTI NR.220-224, BL.69 B,
SC.2, ET.7, AP.58, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **CURSARU BOGDAN,
CALEA DOROBANȚILOR NR. 248, AP. 3,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **SPĂTĂRELU PAULA CĂTĂLINA,
STR. CAMELIEI NR. 16, BL. 30, AP. 90,
SC. E, PLOIEȘTI, PH, RO;**
• **IORDACHE TANȚA-VERONA,
ALEEA CETĂȚUIA NR. 4, BL. M22, SC. 7,
AP. 391, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **SANDU TEODOR, STR. PARÂNGULUI
NR. 43A, ET. 1, AP. 4, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **FLOREA ANA-MIHAELA, STR. GRIVIȚEI
NR. 4, BL. 2, AP. 1, SC. A, PARTER,
BĂILE GOVORA, VL, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
US 20110171309 A1

(54) **NANOHIIDROGELURI PENTRU ELIBERAREA CONTROLATĂ
A MEDICAMENTELOR, ȘI PROCEDEU PENTRU OBTINEREA
ACESTORA**



1 Prezenta invenție se referă la nanohidrogeluri pentru eliberarea controlată a medica-
mentelor, cu aplicații biomedicale și la un procedeu de obținere a acestora.

3 În scopul obținerii de nanogeluri pentru eliberarea controlată a medicamentelor se
cunosc mai multe procedee.

5 Astfel, un procedeu [G. Deepa, A. K. T. Thulasidasan, R. J. Anto, J. J. Pillai,
7 **Cross-linked acrylic hydrogel for the controlled delivery of hydrophobic drugs in
cancer therapy, International Journal of Nanomedicine 2012, 7, 4077-4088**] prevede
realizarea de nanogeluri prin polimerizarea în emulsie inversă a acidului acrilic (AA), având
9 ca reticulant diacrilatul de polietilenglicol (PEGDA). Mediul continuu este parafina lichidă,
inițiatorul este persulfatul de amoniu (APS), iar ca emulgator se folosește amestecul de Span
11 80 (monooleat de sorbitan) și Tween 80 (polietilenglicol sorbitan monooleat), iar temperatura
de polimerizare este de 60°C. Dezavantajul acestui procedeu constă în faptul că se obține
13 un nanogel cu conținut ridicat de acid poliacrilic (APA), care are biocompatibilitate redusă și
deci nu este adecvat eliberării controlate de medicamente. Alt dezavantaj este că lucrând
15 fără un sistem redox, reacția de polimerizare trebuie să aibă loc la o temperatură cu 30-40°C
peste cea a camerei, ceea ce conduce la un consum energetic relativ important. În plus,
17 mediul continuu (parafina lichidă) conduce la necesitatea unei spălări intense, din cauza
vâscozității sale relativ ridicate.

19 Un al doilea procedeu [US 2008/0260851 A1, 2008], constă în obținerea de
nanogeluri de acid acrilic reticulat cu N,N'-metilenbis(acrilamida) (BIS), prin polimerizare în
21 emulsie inversă, în care mediul continuu este n-hexan, emulgatorii sunt Span 80 și Tween
80, iar inițierea se realizează cu raze gama. Dezavantajele acestui procedeu constau în
23 aceea că polimerul din nanogel nu este biocompatibil (fiindcă este bazat pe APĂ), este nece-
sară o sursă de radiații gama și luarea măsurilor de protecție pentru această situație, iar
25 volatilitatea relativ ridicată a n-hexanului (punct de fierbere 68°C), poate produce noxe în
spațiul de lucru.

27 Un al treilea procedeu [US 8361510 B2, 2013] propune sinteza de particule de
nanogel de tip miez manta, în care mantaua este formată din polimeri hidrofilii, cum ar fi poli-
29 acrilati, poliacrilamide, acid poliacrilic, poliacetați, alcool polivinilic, poliglicoli, polizaharide,
funcționalizați sau nu, sau copolimeri sau combinații ale acestora, iar miezul este format în
31 special din poli N-izopropilmetacrilamidă (PNIPAM) și aminopropilmetacrilamidă (APMA).
Sinteza nanogelurilor se face prin polimerizare precipitantă, în mediu apos, cu inițiere cu
33 APS, la 70°C, utilizând ca emulgator dodecilsulfat de sodiu. Dezavantajele acestui procedeu
constau în faptul că din cauza cantității mari de PNIPAM, BIS și APMA gelurile prezintă o
35 biocompatibilitate redusă, inițierea fără sistem redox face necesară polimerizarea prin
încălzire, cu consumuri energetice relativ mari, iar metoda de polimerizare precipitantă nu
37 permite obținerea unor dimensiuni suficiente de mici a particulelor.

Un al patrulea procedeu [S. Singh, J. Blohbaum, M. Moller, A. Pich, Biohybrid
39 **Nanogels by Crosslinking of Ovalbumin with Reactive Star-PEGs in W/O Emulsions,
Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry 2012, 50, 4288-4299**] constă în
41 obținerea de nanogeluri pornind de la acrilat de polietilenglicol de tip stea, cu reticulare prin
reacție de adiție de tip Michael cu diamină de polietilenglicol și cu ovalbumină. Reacția se
43 desfășoară în miniemulsie inversă, în care faza apoasă este o soluție tampon de tip fosfat
conținând acrilatul de polietilenglicol stelat, iar faza continuă, organică, este formată din n-
45 hexan conținând amestecul de emulgatori Span 80 și Tween 80. După mai multe operații de
pre- emulsionare, tratare cu ultrasunete în baie de gheață, adaosul de soluție de poli-
47 etilenglicol diamină sau de ovalbumină în tampon fosfat, retratare cu ultrasunete și 25 min

de reacție sub agitare, prin ultracentrifugare, se obțin nanogelurile. Dezavantajele acestui procedeu constau în aceea că se utilizează materii prime cu structură complicată și deci foarte scumpe, cum ar fi acrilatul de polietilenglicol stelat, că reacția de adiție Michael este foarte greu de controlat, că necesită multe faze, din care unele care se realizează în aparatură specială (de exemplu operațiile de ultrasonare în baie de gheață), că punctul de fierbere relativ scăzut al n-hexanului conduce la o posibilă poluare importantă a mediului de lucru, iar combinația de emulgatori Span 80-Tween 80 nu asigură un bun control al dimensiunii hidrogelurilor.

Un al cincilea procedeu [US 2002/0136769 A1, 2002] prevede obținerea de nanogeluri din amestecuri de polimer ionic și neionic. Ca polimer ionic se preferă acidul poli-acrilic, dar și alte tipuri de polimeri bazați pe acid aspartic, acid 1,4-fenilendi-acrilic, acid citracinic, anhidridă citraconică, acid trans-cinamic, acid 4-hidroxi cinamic, acid trans-glutaconic, acid glutamic, acid itaconic, acid linoleic, acid linolenic, acid metacrilic, acid trans-beta-hidromuconic, acid trans-trans-muconic, acid ricinoleic, acid 2-propen-1-sulfonic, acid 4-stiren sulfonic, acid trans-traumatic, acid vinilsulfonic, acid vinil fosforic, acid vinil benzoic și acid vinil glicolic. Ca polimer neionic se preferă un copolimer de etilenoxid cu propilenoxid, dar poate fi și polietilenoxid, polizaharidă, poli-acrilamidă, poliglicerol, polivinilalcool, polivinil-pirolidonă, polivinilpiridin N-oxid, copolimer de vinilpiridin N-oxid cu vinilpiridină, polioxa-zolină, poli-acriloilmorfolină sau derivați ai acestora. Sinteza se realizează fie prin fotopolimerizare UV în emulsie apoasă, fie prin polimerizare în emulsie inversă inițiată cu azoizo-butirodinitril (AIBN). Dezavantajele acestei metode sunt că în exemplele furnizate polimerul ionic nu este biocompatibil, polimerizarea în emulsie apoasă nu permite obținerea de particule cu dimensiuni suficient de mici, iar polimerizarea în emulsie inversă cu AIBN necesită încălzirea masei de reacție. În plus, procedeul de sinteză este complicat.

Un al șaselea procedeu [Y. Zhang, W. Zhu, J. Ding, Preparation of thermosensitive microgels via suspension polymerization using different temperature protocols, Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2005, 75A (2), 342-349] constă din polimerizarea în suspensie inversă a unui macromonomer de tipul dioligolactat sau diacrilat de copolimer etilenoxid-propilenoxid (Pluronic F 127). Macromonomerul dizolvat în apă, la care se adaugă sistemul de inițiere redox persulfat de amoniu (APS)- N,N,N',N'-tetrametiletilen-diamină (TMEDA) este picurat într-o soluție de n-heptan conținând un singur emulgator: Span 80. Reacția se desfășoară la 70°C. Dezavantajele acestei metode constau în faptul că se utilizează macromonomeri derivați din copolimeri ai polietilenoxidului, deci mai scumpi, se utilizează doar un singur emulgator ceea ce nu permite reglarea balanței hidrofil - lipofil (HLB), și deci a dimensiunii microgelurilor, neputându-se obține nanogeluri, se lucrează la temperatură ridicată, ceea ce favorizează degradarea prin hidroliză a esterilor diacrilici macromonomeri și se folosește ca mediu continuu n-heptanul, cu un punct de fierbere destul de ridicat 98,5°C, ceea ce conduce la consumuri suplimentare de energie la recuperarea sa. În plus, adăugarea celor 2 componente ai sistemului de inițiere încă de la începutul picurării fazei apoase în cea organică permite începerea reacției de polimerizare înainte de stabilizarea nanoemulsiei cu efecte negative asupra dimensiunilor nanometrice ale hidrogelului.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în obținerea de nanohidrogeluri adecvate pentru utilizarea ca suporturi pentru eliberarea controlată a medicamentelor care se prepară prin dizolvarea diacrilatului de polietilenglicol (PEGDA) în apă, adăugarea în soluția apoasă de PEGDA a reducătorului sistemului de inițiere redox (TMEDA) și picurarea acestei soluții în mediul continuu, aflat sub agitare, constând din ciclohexan conținând 2 emulgatori: Span 80 și Tween 60 (polietilenglicol sorbitan monostearat). La sfârșitul picurării se începe picurarea în mediul continuu aflat sub agitare a unei a doua soluții apoase, care

RO 132418 B1

1 conține oxidantul sistemului de inițiere: APS. După terminarea picurării și a celei de a 2-a
2 soluții se continuă agitarea la o temperatură apropiată de cea a camerei (20-30°C) pentru
3 polimerizare. La sfârșitul duratei de polimerizare masa de reacție este centrifugată, iar partea
4 solidă este spălată cu ciclohexan, apoi cu acetonă și în final cu apă și produsul este redis-
5 persat într-o soluție tampon fosfat cu pH 7,4.

6 Invenția înlătură dezavantajele procedeelelor menționate anterior prin aceea că
7 nanohidrogelurile care au în componența lor PEGDA (având masa moleculară a PEG de
8 600-4000 Da) polimerizat în emulsie inversă, cu mediul continuu ciclohexan, cu un sistem
9 redox APS- TMEDA, în prezența a doi emulgatori: Span 80 și Tween 60 se obțin printr-un
10 procedeu în care se prepară o soluție apoasă (1) de PEGDA (având masa moleculară a PEG
11 de 600-4000 Da) cu concentrația de 20-30% și conținând 0,5-2% TMEDA (față de macro-
12 monomer), o altă soluție apoasă (2) cu concentrația de 15-20% APS și o soluție de ciclo-
13 hexan conținând 10-15% Span 80 și 1-10% Tween 60, se introduce soluția de ciclohexan
14 în vasul de reacție și se purjează cu azot toate trei soluțiile și vasul de reacție, timp de câte
15 10-15 min, se pornește o agitare foarte energică și se picură soluția (1) în soluția de ciclo-
16 hexan, la un raport volumetric soluție apoasă: soluție organică de 1:8-1:20, după care se
17 picură o cantitate din soluția apoasă (2) în mediul de reacție, astfel încât să se realizeze un
18 raport masic între APS și TMEDA de 0,8-1,2, se continuă agitarea la temperatura de
19 20-30°C timp de 20-48 h, sub azot, masa de reacție se centrifughează timp de 20-30 min cu
20 o centrifugă având turația de 8000-9000 rot/min, supernatantul este îndepărtat, iar partea so-
21 lidă este resuspendată în ciclohexan (spălare 1) la un raport de flotă lichid: solid de 20:1-40:1
22 și se recentrifughează timp de 20-30 min cu o aceeași centrifugă și la aceeași turație, se
23 îndepărtează faza lichidă iar cu solidul se repetă operația de spălare-centrifugare în aceleași
24 condiții, mai întâi cu ciclohexan (spălare 2), apoi cu acetonă (spălare 3) și în final cu apă
25 (spălare 4), iar solidul spălat este redispersat în soluție tampon fosfat cu pH 7,4. Alternativ,
26 în loc de a utiliza un singur sort de PEGDA, cu o anumită masă moleculară se pot utiliza
27 amestecuri de PEGDA cu diferite mase moleculare (situate însă în domeniul 600-4000 Da).

Invenția prezintă următoarele avantaje:

28 - nanogelurile obținute prezintă o biocompatibilitate ridicată conferită de conținutul lor
29 ridicat în polietilenglicol;

30 - se utilizează materii prime din fabricația curentă și deci cu prețuri reduse;
31 - se obțin nanogeluri cu dimensiune submicronică și care poate fi dirijată prin
32 alegerea parametrilor de lucru, îndeosebi a balanței HLB prin folosirea combinației de
33 emulgatori Span 80-Tween 60;

34 - datorită inițierii cu un sistem redox, reacția de polimerizare se produce în jurul
35 temperaturii camerei, evitând consumul energetic pentru încălzirea masei de reacție și
36 prevenind degradarea emulgatorilor;

37 - nu este necesară o aparatură specială;

38 - se obțin nanogeluri cu puritate ridicată datorită îndepărtării prin spălare a mediului
39 continuu;

40 - nu sunt prezente probleme deosebite de protecție a mediului de lucru,

41 - recuperarea mediului continuu se face cu un consum energetic moderat;

42 - procedeul tehnologic de sinteză este simplu, fără multe faze.

Se dau în continuare exemple de realizare a invenției:

43 Exemplul 1

44 Într-un pahar Berzelius de 10 mL se introduc 1,6 mL apă distilată și 2 mg TMEDA.
45 Se agită la temperatura camerei (circa 25°C) până la completa dizolvare a TMEDA. Pe o
46 sticlă de ceas se cântăresc 0,4 g de PEGDA (cu masa moleculară a PEG de 4000 Da) și se

adaugă treptat în paharul Berzelius de 10 mL, conținând apă și TMEDA, sub agitare, la temperatura camerei, până la completa dizolvare a macromonomerului, obținându-se soluția (1). În alt pahar Berzelius de 10 mL se introduc 1,7 mL apă distilată și 0,3 g APS și se agită la temperatura camerei până la completa dizolvare, obținându-se soluția (2). Într-un pahar Erlenmayer de 25 mL se introduc 6,4 mL ciclohexan și 1,2384 g Span 80 și se agită la temperatura camerei până la dizolvare. Într-un alt pahar Erlenmayer de 25 mL se introduc 6,4 mL ciclohexan și 1,2384 g Tween 60 și se agită la temperatura camerei până la dizolvare. Ambele soluții de ciclohexan se introduc într-un balon cu fund rotund cu capacitatea de 50 mL, cu două gâturi. Balonul se introduce într-o baie de apă termostată la temperatura de 20°C. Prin unul din gâturi se introduce în balon un agitator magnetic teflonat. Se astupă cele 2 gâturi ale balonului cu 2 dopuri de cauciuc. În fiecare dop de cauciuc se introduce câte un ac de seringă. Acul din dopul central se leagă printr-un tub de cauciuc cu o butelie de azot și se face purjarea balonului timp de 10 min, lăsând deschis acul de seringă din dopul lateral. În paralel, în cele 2 pahare Berzelius se introduce câte un cateter și se dezaerează soluțiile cu azot timp de 10 min. La scurgerea perioadei de dezaerare, se ia soluția (1) din paharul Berzelius cu o seringă, care se introduce în acul de seringă liber al balonului de reacție. Se oprește purjarea cu azot, menținând dopul de cauciuc central fără acul de seringă. Se pornește o agitare intensă în balonul de reacție și se începe picurarea soluției (1) din seringă în vasul de reacție, cu o viteză de circa 1 picătură/sec. La terminarea picurării se ia cu o microseringă o cantitate de 14 μL din soluția 2 și prin dopul lateral se picură și această soluție în balonul de reacție. Apoi se scoate și microseringă din dopul de cauciuc al gâtului lateral și se continuă agitarea timp de 48 h, cu ambele dopuri de cauciuc închise ale balonului de reacție. La scurgerea duratei de polimerizare, masa de reacție se introduce în tuburile unei centrifugi și se face centrifugarea timp de 30 min la 8000 rot/min. Se scot tuburile din centrifugă și se îndepărtează partea lichidă. Apoi în tuburile centrifugii se repartizează în mod egal o cantitate de 16 mL ciclohexan, se agită tuburile pentru resuspendarea microgelurilor și se recentrifughează timp de 30 min la 8000 rot/min (spălarea 1). Se îndepărtează lichidul și se face o nouă operație de spălare cu ciclohexan (spălarea 2) în aceleași condiții cu cea anterioară. Se fac apoi încă 2 operații de spălare, în aceleași condiții cu spălarea 1: una cu acetonă (spălare 3) și una cu apă distilată (spălare 4). Nanogelurile spălate se redispersează în soluție tampon fosfat cu pH 7,4. Se obțin geluri biocompatibile cu dimensiunea medie de 87 nm.

Exemplul 2

Într-un pahar Berzelius de 10 mL se introduc 1,4 mL apă distilată și 12 mg TMEDA. Se agită la temperatura camerei (circa 25°C) până la completa dizolvare a TMEDA. Pe o sticlă de ceas se cântăresc 0,6 g de PEGDA (cu masa moleculară a PEG de 2000 Da) și se adaugă treptat în paharul Berzelius de 10 mL, conținând apă și TMEDA, sub agitare, la temperatura camerei, până la completa dizolvare a macromonomerului, obținându-se soluția (1). În alt pahar Berzelius de 10 mL se introduc 1,6 mL apă distilată și 0,4 g APS și se agită la temperatura camerei până la completa dizolvare, obținându-se soluția (2). Într-un pahar Erlenmayer de 25 mL se introduc 16 mL ciclohexan și 3,8700 g Span 80 și se agită la temperatura camerei până la dizolvare. Într-un alt pahar Erlenmayer de 25 mL se introduc 12 mL ciclohexan și 0,2580 g Tween 60 și se agită la temperatura camerei până la dizolvare. Ambele soluții de ciclohexan se introduc într-un balon cu fund rotund cu capacitatea de 50 mL, cu două gâturi. Balonul se introduce într-o baie de apă termostată la temperatura de 30°C. Prin unul din gâturi se introduce în balon un agitator magnetic teflonat. Se astupă cele 2 gâturi ale balonului cu 2 dopuri de cauciuc. În fiecare dop de cauciuc se introduce câte un ac de seringă. Acul din dopul central se leagă printr-un tub de cauciuc cu o butelie de

RO 132418 B1

1 azot și se face purjarea balonului timp de 15 min, lăsând deschis acul de seringă din dopul
lateral. În paralel, în cele 2 pahare Berzelius se introduce câte un cateter și se dezaerează
3 soluțiile cu azot timp de 15 min. La scurgerea perioadei de dezaerare, se ia soluția (1) din
paharul Berzelius cu o seringă, care se introduce în acul de seringă liber al balonului de
5 reacție. Se oprește purjarea cu azot, menținând dopul de cauciuc central fără acul de
seringă. Se pornește o agitare intensă în balonul de reacție și se începe picurarea soluției
7 (1) din seringă în vasul de reacție, cu o viteză de circa 1 picătură/2 sec. La terminarea
picurării se ia cu o microseringă o cantitate de 38 μ L din soluția (2) și prin dopul lateral se
9 picură și această soluție în balonul de reacție. Apoi se scoate și microseringă din dopul de
cauciuc al gâtului lateral și se continuă agitarea timp de 20 h, cu ambele dopuri de cauciuc
11 închise ale balonului de reacție. La scurgerea duratei de polimerizare, masa de reacție se
introduce în tuburile unei centrifugi și se face centrifugarea timp de 20 min la 9000 rot/min.
13 Se scot tuburile din centrifugă și se îndepărtează partea lichidă. Apoi în tuburile centrifugii
se repartizează în mod egal o cantitate de 12 mL ciclohexan, se agită tuburile pentru resus-
15 pendarea microgelurilor și se recentrifughează timp de 20 min la 9000 rot/min (spălarea 1).
Se îndepărtează lichidul și se face o nouă operație de spălare cu ciclohexan (spălarea 2) în
17 aceleași condiții cu cea anterioară. Se fac apoi încă 2 operații de spălare, în aceleași condiții
cu spălarea 1: una cu acetonă (spălare 3) și una cu apă distilată (spălare 4). Nanogelurile
19 spălate se redispersează în soluție tampon fosfat cu pH 7,4. Se obțin geluri biocompatibile
cu dimensiunea medie de 150 nm.

Exemplul 3

Într-un pahar Berzelius de 10 mL se introduc 1,4 mL apă distilată și 10 mg TMEDA.
23 Se agită la temperatura camerei (circa 25°C) până la completa dizolvare a TMEDA. Pe o
sticlă de ceas se cântăresc 0,6 g de PEGDA (cu masa moleculară a PEG de 600 Da) și se
25 adaugă treptat în paharul Berzelius de 10 mL, conținând apă și, TMEDA, sub agitare, la
temperatura camerei, până la completa dizolvare a macromonomerului, obținându-se soluția
27 (1). În alt pahar Berzelius de 10 mL se introduc 1,7 mL apă distilată și 0,3 g APS și se agită
la temperatura camerei până la completa dizolvare, obținându-se soluția (2). Într-un pahar
29 Erlenmayer de 25 mL se introduc 11 mL ciclohexan și 1,8000 g Span 80 și se agită la
temperatura camerei până la dizolvare. Într-un alt pahar Erlenmayer de 25 mL se introduc
31 3 mL ciclohexan și 0,2640 g Tween 60 și se agită la temperatura camerei până la dizolvare.
Ambele soluții de ciclohexan se introduc într-un balon cu fund rotund cu capacitatea de
33 50 mL, cu două gâturi. Balonul se introduce într-o baie de apă termostată la temperatura
de 25°C. Prin unul din gâturi se introduce în balon un agitator magnetic teflonat. Se astupă
35 cele 2 gâturi ale balonului cu 2 dopuri de cauciuc. În fiecare dop de cauciuc se introduce câte
un ac de seringă. Acul din dopul central se leagă printr-un tub de cauciuc cu o butelie de
37 azot și se face purjarea balonului timp de 15 min, lăsând deschis acul de seringă din dopul
lateral. În paralel, în cele 2 pahare Berzelius se introduce câte un cateter și se dezaerează
39 soluțiile cu azot timp de 15 min. La scurgerea perioadei de dezaerare, se ia soluția (1) din
paharul Berzelius cu o seringă, care se introduce în acul de seringă liber al balonului de
41 reacție. Se oprește purjarea cu azot, menținând dopul de cauciuc central fără acul de
seringă. Se pornește o agitare intensă în balonul de reacție și se începe picurarea soluției
43 (1) din seringă în vasul de reacție, cu o viteză de circa 1 picătură/2 sec. La terminarea
picurării se ia cu o microseringă o cantitate de 57 μ L din soluția (2) și prin dopul lateral se
45 picură și această soluție în balonul de reacție. Apoi se scoate și microseringă din dopul de
cauciuc al gâtului lateral și se continuă agitarea timp de 30 h, cu ambele dopuri de cauciuc
47 închise ale balonului de reacție. La scurgerea duratei de polimerizare, masa de reacție se
introduce în tuburile unei centrifugi și se face centrifugarea timp de 25 min la 9000 rot/min.

RO 132418 B1

Se scot tuburile din centrifugă și se îndepărtează partea lichidă. Apoi în tuburile centrifugii se repartizează în mod egal o cantitate de 18 mL ciclohexan, se agită tuburile pentru resuspendarea microgelurilor și se recentrifughează timp de 25 min la 9000 rot/min (spălarea 1). Se îndepărtează lichidul și se face o nouă operație de spălare cu ciclohexan (spălarea 2) în aceleași condiții cu cea anterioară. Se fac apoi încă 2 operații de spălare, în aceleași condiții cu spălarea 1: una cu acetonă (spălare 3) și una cu apă distilată (spălare 4). Nanogelurile spălate se redispersează în soluție de tampon fosfat cu pH 7,4. Se obțin geluri biocompatibile cu dimensiunea medie de 70 nm.

Exemplul 4

Într-un pahar Berzelius de 10 mL se introduc 1,5 mL apă distilată și 8 mg TMEDA. Se agită la temperatura camerei (circa 25°C) până la completa dizolvare a TMEDA. Pe o sticlă de ceas se cântăresc 0,25 g de PEGDA, cu masa moleculară a PEG de 700 Da și pe o altă sticlă de ceas se cântăresc 0,25 g de PEGDA, cu masa moleculară a PEG de 2000 Da și se adaugă treptat în paharul Berzelius de 10 mL, conținând apă și TMEDA, sub agitare, la temperatura camerei, până la completa dizolvare a macromonomerilor, obținându-se soluția (1). În alt pahar Berzelius de 10 mL se introduc 1,7 mL apă distilată și 0,3 g APS și se agită la temperatura camerei până la completa dizolvare, obținându-se soluția (2). Într-un pahar Erlenmayer de 25 mL se introduc 8 mL ciclohexan și 1,0925 g Span 80 și se agită la temperatura camerei până la dizolvare. Într-un alt pahar Erlenmayer de 25 mL se introduc 4 mL ciclohexan și 0,5465 g Tween 60 și se agită la temperatura camerei până la dizolvare. Ambele soluții de ciclohexan se introduc într-un balon cu fund rotund cu capacitatea de 50 mL, cu două gâturi. Balonul se introduce într-o baie de apă termostatăă la temperatura de 23°C. Prin unul din gâturi se introduce în balon un agitator magnetic teflonat. Se astupă cele 2 gâturi ale balonului cu 2 dopuri de cauciuc. În fiecare dop de cauciuc se introduce câte un ac de seringă. Acul din dopul central se leagă printr-un tub de cauciuc cu o butelie de azot și se face purjarea balonului timp de 12 min, lăsând deschis acul de seringă din dopul lateral. În paralel, în cele 2 pahare Berzelius se introduce câte un cateter și se dezaerează soluțiile cu azot timp de 12 min. La scurgerea perioadei de dezaerare, se ia soluția (1) din paharul Berzelius cu o seringă, care se introduce în acul de seringă liber al balonului de reacție. Se oprește purjarea cu azot, menținând dopul de cauciuc central fără acul de seringă. Se pornește o agitare intensă în balonul de reacție și se începe picurarea soluției (1) din seringă în vasul de reacție, cu o viteză de circa 1 picătură/sec. La terminarea picurării se ia cu o microseringă o cantitate de 54 μ L din soluția 2 și prin dopul lateral se picură și această soluție în balonul de reacție. Apoi se scoate și microseringa din dopul de cauciuc al gâtului lateral și se continuă agitarea timp de 22 h, cu ambele dopuri de cauciuc închise ale balonului de reacție. La scurgerea duratei de polimerizare, masa de reacție se introduce în tuburile unei centrifugi și se face centrifugarea timp de 25 min la 8500 rot/min. Se scot tuburile din centrifugă și se îndepărtează partea lichidă. Apoi în tuburile centrifugii se repartizează în mod egal o cantitate de 18 mL ciclohexan, se agită tuburile pentru resuspendarea microgelurilor și se recentrifughează timp de 25 min la 8500 rot/min (spălarea 1). Se îndepărtează lichidul și se face o nouă operație de spălare cu ciclohexan (spălarea 2) în aceleași condiții cu cea anterioară. Se fac apoi încă 2 operații de spălare, în aceleași condiții cu spălarea 1: una cu acetonă (spălare 3) și una cu apă distilată (spălare 4). Nanogelurile spălate se redispersează în soluție tampon fosfat, cu pH 7,4. Se obțin geluri biocompatibile cu dimensiunea medie de 123 nm.

Exemplul 5

Într-un pahar Berzelius de 10 mL se introduc 1,5 mL apă distilată și 8 mg TMEDA. Se agită la temperatura camerei (circa 25°C) până la completa dizolvare a TMEDA. Pe o sticlă de ceas se cântăresc 0,2 g de PEGDA, cu masa moleculară a PEG de 700 Da și pe

RO 132418 B1

o altă sticlă de ceas se cântăresc 0,3 g de PEGDA, cu masa moleculară a PEG de 4000 Da și se adaugă treptat în paharul Berzelius de 10 mL, conținând apă și TMEDA, sub agitare, la temperatura camerei, până la completa dizolvare a macromonomerilor, obținându-se soluția (1). În alt pahar Berzelius de 10 mL se introduc 1,6 mL apă distilată și 0,4 g APS și se agită la temperatura camerei până la completa dizolvare, obținându-se soluția (2). Într-un pahar Erlenmayer de 25 mL se introduc 15 mL ciclohexan și 3,2654 g Span 80 și se agită la temperatura camerei până la dizolvare. Într-un alt pahar Erlenmayer de 25 mL se introduc 7,5 mL ciclohexan și 0,7256 g Tween 60 și se agită la temperatura camerei până la dizolvare. Ambele soluții de ciclohexan se introduc într-un balon cu fund rotund cu capacitatea de 50 mL, cu două gâturi. Balonul se menține în aer la temperatura camerei (25°C). Prin unul din gâturi se introduce în balon un agitator magnetic teflonat. Se astupă cele 2 gâturi ale balonului cu 2 dopuri de cauciuc. În fiecare dop de cauciuc se introduce câte un ac de seringă. Acul din dopul central se leagă printr-un tub de cauciuc cu o butelie de azot și se face purjarea balonului timp de 15 min, lăsând deschis acul de seringă din dopul lateral. În paralel, în cele 2 pahare Berzelius se introduce câte un cateter și se dezaerează soluțiile cu azot timp de 12 min. La scurgerea perioadei de dezaerare, se ia soluția (1) din paharul Berzelius cu o seringă, care se introduce în acul de seringă liber al balonului de reacție. Se oprește purjarea cu azot, menținând dopul de cauciuc central fără acul de seringă. Se pornește o agitare intensă în balonul de reacție și se începe picurarea soluției (1) din seringă în vasul de reacție, cu o viteză de circa 1 picătură/sec. La terminarea picurării se ia cu o microseringă o cantitate de 36 μ L din soluția 2 și prin dopul lateral se picură și această soluție în balonul de reacție. Apoi se scoate și microseringă din dopul de cauciuc al gâtului lateral și se continuă agitarea timp de 24 h, cu ambele dopuri de cauciuc închise ale balonului de reacție. La scurgerea duratei de polimerizare, masa de reacție se introduce în tuburile unei centrifugi și se face centrifugarea timp de 20 min la 8500 rot/min. Se scot tuburile din centrifugă și se îndepărtează partea lichidă. Apoi în tuburile centrifugii se repartizează în mod egal o cantitate de 15 mL ciclohexan, se agită tuburile pentru resuspendarea microgelurilor și se recentrifughează timp de 25 min la 9000 rot/min (spălarea 1). Se îndepărtează lichidul și se face o nouă operație de spălare cu ciclohexan (spălarea 2) în aceleași condiții cu cea anterioară. Se fac apoi încă 2 operații de spălare, în aceleași condiții cu spălarea 1: una cu acetonă (spălarea 3) și una cu apă distilată (spălarea 4). Nanogelurile spălate se redispersează în soluție tampon fosfat cu pH 7,4. Se obțin geluri biocompatibile cu dimensiunea medie de 98 nm.

1. Nanohidrogeluri, **caracterizate prin aceea că**, au în componența lor PEGDA cu masa moleculară a PEG de 600-4000 Da, polimerizat în emulsie inversă, ciclohexan ca mediu continuu, în prezența a doi emulgatori Span 80 și Tween 60. 3 5
2. Procedeu de obținere a nanohidrogelurilor pentru eliberarea controlată a medicamentelor definite în revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că**, acesta cuprinde etapele de preparare a unei soluții apoase 1 de PEGDA cu concentrația de 20-30% și conținând 0,5-2% TMEDA, o altă soluție apoasă (2) cu concentrația de 15-20% APS și o soluție de ciclohexan conținând 10-15% Span 80 și 1-10% Tween 60, introducerea a soluției de ciclohexan în vasul de reacție și purjare cu azot a celor trei soluții și a vasului de reacție, timp de câte 10-15 min, agitare foarte energică și picurare a soluției 1 în soluția de ciclohexan, la un raport volumetric soluție apoasă: soluție organică de 1:8-1:20, apoi picurare a unei cantități din soluția apoasă 2 în mediul de reacție, astfel încât să se realizeze un raport masic între APS și TMEDA de 0,8-1,2, continuarea agitării la temperatura de 20-30°C timp de 20-48 h, sub azot, centrifugare a masei de reacție timp de 20-30 min cu o centrifugă având turația de 8000-9000 rot/min, îndepărtarea supernatantului, resuspendarea părții solide în ciclohexan, spălare 1, la un raport de flotă lichid:solid de 10:1-20:1 și centrifugare din nou timp de 20-30 min cu aceeași centrifugă și la aceeași turație, îndepărtare a fazei lichide, repetare cu solidul a operației de spălare-centrifugare în aceleași condiții, mai întâi cu ciclohexan, spălare 2, apoi cu acetonă, spălare 3, și în final cu apă, spălare 4, și redispersare a solidului spălat în soluție tampon fosfat cu pH 7,4. 7 9 11 13 15 17 19 21
3. Procedeu de obținere a nanogelurilor pentru eliberarea controlată a medicamentelor, conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că**, se pot utiliza amestecuri de PEGDA cu diferite mase moleculare, situate în domeniul 600-4000 Da. 23 25

