



(11) **RO 123252 B1**

(51) **Int.Cl.**

B82B 3/00 (2006.01),
B82B 1/00 (2006.01),
C01B 33/14 (2006.01),
A61K 31/80 (2006.01),
A61K 36/752 (2006.01),
A61K 8/90 (2006.01),
A61K 8/97 (2006.01),
C08G 77/42 (2006.01)

(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2008 00719**

(22) Data de depozit: **16.09.2008**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **29.04.2011** BOPI nr. **4/2011**

(41) Data publicării cererii:

28.08.2009

BOPI nr. **8/2009**

(73) Titular:

• **UNIVERSITATEA POLITEHNICĂ
BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI
NR.313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:

• **MEGHEA AURELIA, STR.OLIMPULUI
NR.76, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **LĂCĂTUȘU IOANA, ALEEA BĂIUȚ NR.4,
BL.C7BIS, AP.28, SECTOR 6, BUCUREȘTI,
B, RO;**
• **BADEA MARIA-NICOLETA, STR.LEREȘTI
NR.3, BL.A2, SC.6, AP.88, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **POP MIRELA RODICA, BD.SEBASTIAN
NR.35, BL.S, AP.6, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO;**

• **IOSUB ION, STR.MAIOR GHEORGHE
ȘONȚU, BL.D4, SC.B, AP.10, PITEȘTI, AG,
RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:

**I. Gill, A. Ballesteros, "Encapsulation of
Biologicals within Silicate, Siloxane and
Hybrid Sol-Gel Polymers: An Efficient and
Generic Approach", J. Am. Chem. Soc.,
120, 34, pp. 8587-8598, 1998; D. Yang, J. Li
și colab., "Direct formation of hydrophobic
silica-based micro/mesoporous hybrids
from polymethylhydrosiloxane and
tetraethoxysilane", Microporous and
Mesoporous Materials, 95, pp.180-186,
2006; GB 2418654 A; J. P. Chen, W. S. Lin,
"Sol-gel powders and supported sol-gel
polymers for immobilization of lipase in
ester synthesis", Enzyme and Microbial
Technology, 32, 7, p. 801-811, 2003.**

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A UNOR NANOMATERIALE HIBRIDE PE BAZĂ DE SILICE ȘI NANOMATERIALE CU PRINCIPII ACTIVE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor nanomateriale hibride, pe bază de silice, și la nanomateriale cu principii active naturale astfel obținute. Procedeu conform invenției constă din aceea că se formează inițial un sol coloidal prehidrolizat, utilizând o soluție apoasă 2 M agent nesurfactant, respectiv, o soluție alcoolică 0,8 M surfactant tetraetilenglicol monohexadecileter, după care se prepară un amestec de precursor oligomeric silsesquioxanic, ce conține 0,05 g extract de coajă de portocală, și se imobilizează extractul vegetal în matrice polimerice silicice și matrice

hibride silice-silsesquioxanice, la temperatura camerei, timp de 12 h, prin contactarea celor două amestecuri de sol silicic coloidal prehidrolizat și o soluție de extract natural cu derivat silsesquioxanic, prin menținerea, timp de 12 h, sub agitare magnetică, la temperatura camerei, urmată de maturare timp de 3 zile, la o temperatură de 35°C, obținându-se materiale care prezintă proprietăți fluorescente amplificate.

Revendicări: 17

Figuri: 6

Examinator: **biochimist BABALIGEA IRINA**



Orice persoană are dreptul să formuleze în scris și motivat, la OSIM, o cerere de revocare a brevetului de invenție, în termen de 6 luni de la publicarea mențiunii hotărârii de acordare a acesteia

RO 123252 B1

1 Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor nanomateriale hibride pe bază
de silice și la nanomateriale cu principii active naturale astfel obținute. Procedeu și nano-
3 materialele propuse au aplicații în domeniul cosmetic și farmaceutic, precum și aplicații opto-
electronice. Nanomaterialele se pot utiliza sub formă de markeri fluorescenți pentru
5 imagistică și diagnostic.

Se cunosc studii privind imobilizarea unor biomolecule individuale de tip enzime,
7 proteine, peptide, acizi nucleici sau anticorpi, încapsulate în matrice silicică, utilizând
procedee sol-gel.

9 În brevetele de invenție **US 6423770/2002** și **US 6989254/2006**, se regăsesc
procedee de imobilizare sau încapsulare a unor biomolecule în matrice de SiO_2 . Astfel, în
11 brevetul de invenție **US 6423770/2002**, se prezintă o metodă de încapsulare sol-gel a
biomoleculelor ce utilizează un precursor silicat metalic alcalin, formarea solului silicic
13 realizându-se dintr-o soluție de SiO_2 și un oxid metalic alcalin. **US 6989254/2006** vine în
completarea celui dintâi, furnizând un procedeu direct de încapsulare a enzimelor și a altor
15 agenți bioactivi în materiale nanoporoase sau mezoporoase auto-organizate cu surfactanți
din categoria copolimerilor polietilenoxidici (Pluronic, Igepal) și alți polieteri și poliamine (Brij
17 30, 78 și Triton X 100, X-114). Ambele invenții prezintă dezavantajul utilizării unor precursori
silicici, care implică folosirea oxizilor alcalini (Na_2O și K_2O), substanțe chimice foarte agresive
19 pentru a putea fi folosite în scopuri biochimice; totodată prezintă și dezavantajul că metoda
de preparare nu corespunde cerințelor de control la nivel molecular, asociate cu prelucrarea
21 biomoleculelor.

Brevetul de invenție **US 6241975** descrie un procedeu de preparare a unor pulberi
23 din extract de plante medicinale, pentru prevenirea și tratamentul bolilor parodontale,
obținute prin încorporarea extractului de plantă într-o pulbere suport de SiO_2 și acoperirea
25 suprafeței suportului cu un agent de acoperire insolubil în apă (derivați celulozici).
Dezavantajele acestui procedeu constau în aceea că extractele naturale sunt încorporate
27 prin pulverizare în particule de silice de dimensiuni mari (400 μm), iar pentru acoperirea cu
agent celulozic a particulelor de silice încărcate cu extract, a fost necesar un tratament termic
29 cu temperaturi cuprinse între 85 și 95°C. Stabilizarea prin pulverizare a extractului natural
nu conferă acestuia stabilitate la denaturarea termică, tratamentele ulterioare de acoperire
31 celulozică conducând la degradări suplimentare.

Brevetul de invenție **US 0269473/2007** descrie o metodă de încapsulare a unor uleiuri
33 esențiale printre care și uleiul din coajă de portocale, utilizând ca matrice/suport de
încapsulare microcapsule microbiene ce conțin una sau mai multe celule fungice, bacteriene
35 sau algice. Dimensiunea relativ mare a acestor celule fungice (5 μm), precum și utilizarea
microcapsulelor microbiene conduc la limitări din punct de vedere aplicativ și stabilitate
37 scăzută a celulelor microbiene la factorii de mediu.

Este cunoscut faptul că, spre deosebire de multe componente fitochimice, extractul
39 din coajă de portocale este un lipid solubil, o proprietate utilă multor produși farmaceutici,
deoarece traversează ușor membranele celulare și ca atare prezintă o biodisponibilitate
41 crescută. Coaja de portocale și extractele acesteia au fost utilizate într-o varietate largă de
produse farmaceutice naturiste în combinație cu alte componente din diferite plante și
43 extracte. Extractul din coajă de portocale este un amestec de flavonoide metilate înalt
bioactive. Un astfel de extract poate fi obținut din coaja solidă uleioasă presată la rece, un
45 produs rezidual din industria sucurilor de portocale. Cojile solide de portocale sunt dizolvate
în etanol la cald, și după spălări succesive, uleiul extras devine un produs standardizat, cu
47 o cantitate reproductibilă de flavone. Extractul de coajă de portocale conține un amestec de
analogi flavonoidici și omologi ai flavonelor metilate, care pot fi izolați și identificați prin
49 HPLC.

Acești compuși bioactivi de tipul flavonelor, compușilor fenolici, terpenelor și multor altora, ce există natural în plante, sunt cunoscuți a prezenta proprietăți de prevenire a unor boli grave. Diete ce conțin astfel de substanțe s-au dovedit a prezenta efecte benefice asupra unor boli, precum cancerul de sân și de colon la animale. De exemplu, în brevetul de inventie US 7201928/2007 , sunt prezentate efectele benefice ale extractelor din coajă de portocale, prin furnizarea unor compoziții și metode de inhibare a dezvoltării celulelor tumorale <i>in vivo</i> (exemplu: cancerul de colon), pe baza administrării unui extract de coajă de portocale, singur sau în combinație cu alte produse fitochimice.	1 3 5 7
Problema tehnică pe care o rezolvă procedeul conform invenției constă în obținerea unor nanomateriale cu proprietăți fluorescente amplificate.	9
Într-o primă variantă de realizare, procedeul de obținere a unor nanomateriale hibride pe bază de silice conform invenției cuprinde:	11
a) formarea unui sol silicic prehidrolizat prin hidroliza în cataliză acidă a unui amestec de tetraetilortosilicat, etanol și apă, într-un raport molar tetraetilortosilicat: etanol: apă = 1: 4: 2, la un $pH = 2...3$ și la o temperatură de $60...62^{\circ}C$, timp de 2 h, rezultând un sol silicic omogen care se răcește la $30^{\circ}C$, se aduce la $pH = 5...6$ și la care se adaugă o soluție apoasă 2 M de agent nesurfactant glucidic;	13 15 17
b) formarea unui precursor de tip silsesquioxanic, care conține extract de coajă de portocale, prin adăugarea la un derivat de precursor oligomeric silsequioxanic a unei soluții de extract de coajă de portocală, în raport masic extract vegetal: silsesquioxan = 0,18: 1, sub agitare la temperatura camerei, timp de 1 h, urmată de adăugare de etanol în raport masic etanol: silsesquioxan = 1: 0,036;	19 21
c) imobilizarea extractului de coajă de portocale în matrice hibride silice- silsesquioxanice prin contactarea precursorului de tip silsequioxanic care conține extractul de coajă de portocale cu solul silicic prehidrolizat, urmată de agitarea amestecului timp de 12 h la temperatura camerei și de maturare, timp de 3 zile, la $35^{\circ}C$.	23 25
Nanomaterialele hibride pe bază de silice cu principii active naturale, având proprietăți fluorescente, obținute prin prima variantă de procedeu cuprind:	27
a) 98,18% dintr-o matrice hibridă silice-silsesquioxan ce constă din polimeri de tip $(SiO_2)_n$ și $(RSiO_{1,5})_m$, unde n este numărul de unități de silice care se repetă în polimerul obținut, m este numărul de unități silsesquioxanice care se repetă în polimerul obținut, iar R este un radical alchil ramificat, și	29 31
b) 1,82% dintr-un cromofor organic fluorescent extras din coji de portocale, procentele fiind exprimate în greutate.	33
Într-o a doua variantă de realizare, procedeul conform invenției cuprinde:	35
a) formarea unui sol silicic prehidrolizat prin hidroliza în cataliză acidă a unui amestec de tetraetilortosilicat, etanol și apă, într-un raport molar tetraetilortosilicat: etanol: apă = 1: 4: 2, la un $pH = 2...3$ și la o temperatură de $60...62^{\circ}C$, timp de 2 h, rezultând un sol silicic omogen care se răcește la $30^{\circ}C$, se aduce la $pH = 5...6$ și la care se adaugă o soluție apoasă 2 M de agent nesurfactant glucidic;	37 39
b) contactarea a 99,47% în greutate sol silicic prehidrolizat cu 0,53% în greutate soluție apoasă de extract de coajă de portocală;	41
c) imobilizarea extractului de coajă de portocale în matrice silicice prin agitarea amestecului de sol silicic prehidrolizat și extract de coajă de portocale timp de 12 h la temperatura camerei, urmată de maturarea amestecului rezultat timp de 3 zile la $35^{\circ}C$.	43 45
Nanomaterialele hibride pe bază de silice cu principii active naturale, având proprietăți fluorescente, obținute prin a doua variantă de procedeu cuprind:	47
a) 97,9% dintr-o matrice silicică anorganică ce constă din polimeri de condensare de tip $(SiO_2)_n$ unde n este numărul de unități de silice care se repetă în polimerul obținut și	49

1 b) 2,1% dintr-un cromofor organic fluorescent extras din coji de portocale, procentele
fiind exprimate în greutate.

3 Invenția prezintă următoarele avantaje:

5 - Asigură imobilizarea unui extract natural într-o matrice gazdă hibridă adecvată, în
condiții blânde, cu amplificarea proprietăților de fluorescență ale acestuia, fără utilizarea unor
materii prime agresive sau a unor agenți de acoperire suplimentari, folosind materii prime
7 versatile, netoxice și biocompatibile.

9 - Asigură o metodă de imobilizare în condiții blânde (temperatura camerei, $pH \sim 5$),
fapt ce permite imobilizarea unei varietăți largi de extracte vegetale sensibile la temperatură
și pH , în matrice gazdă hibride cu structuri "colivie" nanodimensionate.

11 - Procedul propus este simplu și eficient, fără utilizarea unor agenți de acoperire
suplimentari sau a unor condiții de proces care să conducă la denaturarea extractului imobi-
lizat (temperaturi, presiuni ridicate, agenți chimici denaturatori etc.), implică etape distincte
13 și ușor de reprodus, asigurând același nivel de control și prin transpunerea la scară pilot.

15 - Se obțin materiale biocompatibile prin utilizarea unor agenți nesurfactanți glucidici
înalt biocompatibili (D-glucoză și D-fructoză). Spre deosebire de surfactanții uzuali, agenții
17 de tip glucidic pot rămâne în materialul final fără implicarea vreunui risc sau pot fi ușor
îndepărtați prin extracție în apă la temperatura camerei.

19 - Folosește matrice silicice de tipul:

21 - rețele anorganice de SiO_2 , care sunt medii fotonice excelente, datorită pierderilor
lor optice scăzute, prezintă proprietăți mecanice bune, biocompatibilitate și stabilitate
chimică, fotochimică și termică pe termen lung în mediu, nu sunt o sursă de hrană pentru
23 microorganisme, nu sunt toxice și sunt inerte din punct de vedere biologic;

25 - rețele silicice modificate cu oligomeri poliedrici silsesquioxanici, care conduc la o
rețea organo-anorganică hibridă, robustă din punct de vedere chimic și termic, cu o structură
poroasă ce prezintă pori și canale $< 3 \text{ nm}$, ce au rolul de a scădea volumul și dimensiunea
27 porilor, datorită structurii lor de tip "colivie".

29 - Procedul ce implică organo-siloxani hibridi este foarte apropiat din punct de vedere
al compatibilității cu procesele de mineralizare din organismele vii: biomineralizarea are loc
în apă, la temperatura camerei, în condiții blânde (pH neutru etc.), la care proteinele sau
31 celulele sunt active.

33 - Realizează o distribuție omogenă și stabilă a blocurilor de construcție
silsesquioxanice în materialul final, fără existența unei separări de microfaze nedorite.

35 - Procedul constituie o metodă optimă pentru obținerea unor materiale silicice înalt
fluorescente. Folosirea acestui procedeu are ca rezultat direct amplificarea proprietăților
fluorescente față de extractul nativ din coajă de portocale.

37 Procedul conform invenției constă în aceea că se preformează un sol prehidrolizat,
la un $pH \sim 3$ și o temperatură de 60°C , timp de 2 h, la un raport molar $TEOS: Et-OH: H_2O =$
39 $1: 4: 2$, utilizând o soluție apoasă 2 M agent glucidic sau o soluție alcoolică 0,8 M agent de
auto-organizare de tip tetraetilenglicol monohexadecileter; se prepară un amestec de
41 precursor oligomeric silsesquioxanic 0,053 M, ce conține 0,05 g extract de coajă de
portocale; se imobilizează extractul vegetal în matrice polimerice silicice sau în matrice
43 hibride silicesilsesquioxanice, în condiții blânde de $pH \sim 5$, la temperatura camerei, timp de
12 h, prin contactarea amestecului de sol silicic prehidrolizat fie cu o soluție de extract
45 natural, fie cu precursorul de tip silsesquioxanic care conține extractul natural, urmată de
menținerea amestecului timp de 12 h sub agitare magnetică la temperatura camerei și apoi
47 de maturare timp de 3 zile, la o temperatură de 35°C , obținându-se materiale noi ce prezintă
proprietăți fluorescente intens amplificate.

În cazul prezentei invenții, pentru observarea efectului matricei polimerice silicice asupra activității optice a extractului natural imobilizat, s-au utilizat două tipuri de matrice: o matrice silicică polimerică formată prin utilizarea unui precursor molecular clasic din categoria alcoxisilanilor (tetraetil ortosilicat = TEOS); o matrice polimerică hibridă ce conține un raport molar de TEOS: compus silsesquioxanic = 6:1. Etapele de formare a rețelei organo-anorganice sunt:	1
- preformarea unei structuri anorganice de silice, prin utilizarea unui precursor molecular clasic (TEOS);	3
- adăugarea precursorului de tip silsesquioxanic (bloc de nanoconstrucție, octaizobutiltetraciclo [7.3.3.1 ^{5,11}] octasiloxan- <i>endo</i> -3,7-diol) în solul silicic anorganic.	5
Este cunoscut faptul că molecula de bază a derivatului silsesquioxanic (un oligomer silsesquioxanic poliedric-POSS), prezentată în fig. 1, descris ca moleculă de tip "colivie", este considerată drept cea mai mică particulă de silice sau chiar ca "silice moleculară", cu o medie de dimensiune mai mică decât cea a particulelor de silice coloidală, cu dimensiuni tipice între 1 și 3 nm. Compoziția sa chimică este un hibrid (RSiO _{1,5}) _m , intermediară între cea a silicei (SiO ₂) și cea siliconică (R ₂ SiO). Molecula unui derivat silsesquioxanic prezintă funcționalități reactive, grupe -OH legate covalent (adevrate pentru polimerizarea sau grefarea polimerilor POSS către lanțuri polimerice ramificate) și funcționalități organice nereactive, R (pentru solubilizare și compatibilizare). Astfel, se poate spune că acești compuși silsesquioxanici formează o rețea hibridă (organic-anorganică) robustă din punct de vedere chimic și termic.	7
Grupările -OH din molecula silsesquioxanică servesc nu numai ca grupări polimerizabile; ele pot fi de asemenea implicate în legături de hidrogen cu compuși flavonoidici polihidroxilici din extract.	9
Similar matricelor silicice anorganice, derivații silsesquioxanici prezintă proprietăți optoelectronice. Aceste proprietăți au fost evidențiate în brevetul de invenție US 6798792/2004 , unde câțiva derivați silsesquioxanici au fost utilizați ca blocuri de nanoconstrucție la formarea unor polimeri hibridi folosiți, în obținerea de fibre optice aplicate pentru construcția unui echipament laser, pentru amplificarea semnalului luminos. În brevetul de invenție EP 1791000 A1/2007 se prezintă o compoziție polimerică transparentă, stabilă termic și lipsită de inițiatori și catalizatori de polimerizare, ce conține oligomeri silsesquioxanici poliedrici funcționalizați cu diferite grupări organice, folosită în optoelectronică.	11
Compușii silsesquioxanici, pe lângă rolul de blocuri de nanoconstrucție și compuși adecvați pentru obținerea unor materiale cu proprietăți optice, au de asemenea avantajul de a prezenta o toxicitate redusă, fiind folosiți ca transportori biocompatibili de medicament. Toxicitatea derivaților silsesquioxanici a fost evaluată pe șobolani și iepuri, iar rezultatele obținute în urma unor tratamente clinice au demonstrat faptul că acești compuși nu produc efecte teratogene și nu afectează semnificativ siguranța subiecților.	13
Astfel, se poate spune că silsesquioxanii oligomerici, datorită structurii lor octaedrice și dimensiunilor nanometrice, reprezintă un potențial foarte util pentru formarea unor matrice hibride-gazdă pentru extracte naturale labile termic și în condiții extreme de pH.	15
Imobilizarea extractului natural într-o astfel de rețea polimerică asigură o aranjare conformațională optimă. Constrângerea sterică inhibă mobilitatea, ceea ce conduce la o imobilizare a moleculelor de extract într-o aranjare conformațională favorabilă transmiterii proprietăților fluorescente, prin realizarea unor legături fizice de tip interacții slabe (legături de hidrogen, conjugări extinse de electroni π, interacții donor-acceptor). Aceste fenomene se încadrează în categoria proprietăților de interfață proiectate și generate de metoda de imobilizare folosită. Este evident că legarea chimică a extractului de matricea polimerică ar conduce la inactivarea moleculelor flavonoidice și la pierderea proprietăților fluorescente ale acestora.	17
	19
	21
	23
	25
	27
	29
	31
	33
	35
	37
	39
	41
	43
	45
	47
	49
	51

Moleculele organice devin captive în rețeaua sol-gel-oxidică formată în urma reacțiilor de policondensare a derivaților silicici și silsesquioxanici. În felul acesta, interacțiile slabe matrice-extract de tipul legăturilor de hidrogen ce apar între grupările OH libere ale matricei polimerice silicice și compușii flavonoidici/polihidroxicili din extractul vegetal permit adsorbția acestora pe suprafața microporoasă și măresc stabilitatea termică și de mediu a extractelor imobilizate, fără afectarea proprietăților specifice, așa cum are loc în cazul unor legături chimice puternice.

Procesul de formare a porilor cu agenți de tip nesurfactant (D-glucoză și D-fructoză) se bazează pe grupările funcționale puternic polare ale acestora, care pot îndeplini rolul de agenți de direcționare structurală, cu formarea unor nanopori cu o distribuție dimensională îngustă. Acești compuși glucidici pot favoriza reacțiile sol-gel, prin legăturile de hidrogen dintre moleculele sau agregatele de glucid și speciile silicat intermediare, determinând scăderea timpului de gelifiere.

Se dau, în continuare, două exemple de realizare a procedurii conform invenției, în legătură cu figurile care reprezintă:

- fig. 1, structura octaizobutiltetraciclo[7.3.3.1^{5,11}] octasiloxan-endo-3,7-diol;
- fig. 2, spectrele electronice UV-VIS-NIR ale extractului din coajă de portocale neimobilizat (a) și ale celor două extracte imobilizate în matrice anorganică de SiO₂ (b), respectiv în matrice hibridă SiO₂-silsesquioxan (c), obținute cu: A. agent de auto-organizare de tip tetraetilenglicol monohexadecileter și B. agent nesurfactant de tip D-glucoză;
- fig. 3, spectrele FT-IR ale matricei silicice (a) și a celor două extracte imobilizate în rețeaua anorganică de SiO₂ (b), respectiv în rețeaua hibridă SiO₂-silsesquioxan (c), obținute cu: A. tetraetilenglicol monohexadecileter și B. D-glucoză;
- fig. 4, fluorescența probelor de: extract nativ din coajă de portocale (a), extract imobilizat în matrice silicică anorganică și hibridă obținute prin utilizarea PEG (b și c), extract imobilizat în matrice silicică anorganică și hibridă obținute prin utilizarea D-glucozei (d și e) și respectiv D-fructozei (f și g);
- fig. 5, măsurători DLS ale agregatelor polimerice silicice ce conțin extract din coajă de portocale, imobilizat în rețea polimerică silicică și rețea polimerică hibridă silice-silsesquioxan;
- fig. 6, imagini TEM ale probelor de extract din coajă de portocale imobilizate în matrice silicice anorganice (A) și matrice hibride silice-silsesquioxan (B), obținute cu D-glucoză.

Exemplul 1. Un amestec ce conține tetraetilortosilicat, etanol și apă, într-un raport molar TEOS:Et-OH:H₂O = 1:4:2, este prehidrolizat în cataliză acidă cu HCl (pH = 2-3) timp de 2 h, la o temperatură de 60-62°C. Solul silicic omogen rezultat se răcește la 30°C, se neutralizează cu NH₄OH (pH = 5-6), după care se adaugă 6 mL soluție apoasă de D-glucoză 2M, amestecul rezultat fiind menținut încă 1 h sub agitare, la T = 30-31°C. Se adaugă 1 mL soluție de extract din coajă de portocale (preparat prin dizolvarea a 0,1050 g extract în 2 mL H₂O), în 6 mL soluție etanolică de octaizobutiltetraciclo[7.3.3.1^{5,11}] octasiloxan-endo-3,7-diol (0,053 M) și se agită la temperatura camerei timp de 1 h. Pentru prevenirea precipitării compusului silsesquioxanic, se mai adaugă 4 mL Et-OH. În etapa de imobilizare, amestecul de precursor oligomeric silsesquioxanic (0,053 M) ce conține extractul din coajă de portocale se adaugă în picătură în 12 g de amestec silicic prehidrolizat. Pentru comparare, în alte 10 g de amestec silicic prehidrolizat, se adaugă în picătură 1 mL soluție apoasă de extract din coajă de portocale preparat anterior. Cele două sisteme se acoperă cu parafilm (perforat pentru a permite evaporarea Et-OH) și se continuă reacțiile de hidroliză și policondensare, sub agitare magnetică timp de 12 h. În etapa de maturare, probele se păstrează în etuvă, la 35°C (pentru o perioadă de trei zile), cu obținerea unui material sticlos galben-transparent, ce conține extractul de coajă de portocale, care după mojarare se prezintă sub forma unei pulberi poroase ultrafine.

Exemplul 2. Se prepară un sol silicic prehidrolizat în cataliză acidă cu HCl, pornind de la un amestec ce conține un raport molar de TEOS:Et-OH:H₂O = 1:4:2, în aceleași condiții prezentate la exemplul 1. După răcirea și neutralizarea solului prehidrolizat (T = 30°C, pH = 5-6), se adaugă 5 mL soluție etanolică de tetraetilenglicol monohexadecileter (0,8 M) și se păstrează sub agitare 1 h, la T = 30-31°C. Se adaugă 1 mL soluție de extract din coajă de portocale (preparat prin dizolvarea a 0,1025 g extract în 2 mL H₂O) în 7,5 mL soluție etanolică de octaizobutiltetraciclo [7.3.3.1^{5,11}]octasiloxan-*endo*-3,7-diol (0,069 M) și se agită la temperatura camerei timp de 1 h. În vederea imobilizării extractului din coajă de portocale în cele două matrice polimerice, amestecul de precursor oligomeric silsesquioxanic cu conținut de extract din coajă de portocale se adaugă în picătură la o cantitate de 12 g sol silicic prehidrolizat, iar 1 mL soluție de extract de portocale (preparată anterior) se adaugă în 12 g sol prehidrolizat. Cele două probe se mențin sub agitare magnetică pentru o perioadă de 12 h, urmată de maturarea lor la etuvă (35°C, trei zile). Materialele polimerice silicice și silice-silsesquioxanice dopate cu extract din coajă de portocale sunt mojarate până la pulberi, în vederea unor caracterizări ulterioare.

Confirmarea imobilizării extractului din coajă de portocale în matricele silicice menționate este demonstrată prin caracterizarea amplă a materialelor obținute, realizată pe baza tehnicilor de investigare spectroscopice UV-VIS-NIR și FT-IR, a măsurătorilor intensității fluorescente, a metodei de estimare a dimensiunii agregatelor polimerice prin împrăștierea dinamică a luminii (DLS) și a tehnicilor de microscopie optică și de transmisie electronică (TEM).

Spectroscopia UV-VIS. Prin compararea maximelor de absorbție caracteristice compușilor flavonoidici ce apar în spectrul extractului din coajă de portocale cu probele de extract imobilizate în diferite rețele polimerice silicice pure și silicice hibride (silice - silsesquioxanice), se pot face următoarele observații (fig. 2):

- Cele două benzi de absorbție de la 256 nm și 316 nm prezente în extractul din coajă de portocal și atribuite tranzițiilor $n \rightarrow \pi^*$ ale grupărilor auxocrome și cromofore de tip OH, COOH și C = O din structura flavonoidelor, sunt deplasate în spectrele electronice ale extractelor imobilizate spre frecvențe mai mari (286 nm și respectiv 332 nm, efect batocrom);

- În domeniul NIR, extractul de portocale prezintă două regiuni distincte la 1460-1560 nm și respectiv 1700-1750 nm, caracteristice grupărilor OH. Prima regiune de absorbție apare în spectrele probelor imobilizate sub forma unei benzi largi deplasate către frecvențe mai mici: 1420-1460 nm pentru probele obținute cu tetraetilenglicol monohexadecileter și respectiv 1420-1510 nm pentru probele obținute cu agent glucidic (efect hipsocrom). În ceea ce privesc cele două benzi de la 1700 și 1750 nm, acestea sunt deplasate către frecvențe mai mari (1720 și 1764 nm) în matricele obținute cu tetraetilenglicol monohexadecileter, și aproape că dispar în cele două matrice obținute cu D-glucoză.

Aceste aspecte reprezintă o confirmare a faptului că grupările carbonil și hidroxil din structurile flavonelor prezente în extractul de coajă de portocale sunt implicate în interacții slabe (exemplu: legături de hidrogen) cu grupările OH de la suprafața rețelelor silicice polimerice, indicând apariția unor fenomene de cuplare și de aranjare structurală conformațională într-o structură favorabilă transmiterii și amplificării proprietăților de fluorescență.

Spectroscopia FT-IR. Conversia efectivă a solului silicic în matrice silicice hibride ce conțin extractul de portocale imobilizat în rețeaua polimerică și alte informații cu privire la interacțiile slabe de tip legături de hidrogen dintre rețeaua silice-silsesquioxanică și moleculele organice flavonoidice/polihidroxilice au fost confirmate prin spectroscopie FT-IR. O primă observație care sugerează modificarea rețelei silicice ca urmare a imobilizării

extractului de portocale în porii rețelei polimerice este furnizată de modificarea benzii de la 1080 cm^{-1} atribuită $\nu_{\text{Si-O-Si}}$ asim (din spectrul matricei silicice) într-o bandă largă ce cuprinde pe lângă vibrațiile legăturii C - OH ale agentului de auto-organizare, respectiv agentului nesurfactant ($\nu_{\text{C-OH}} = 1179\text{ cm}^{-1}$ pentru PEG și respectiv 1187 cm^{-1} pentru D-glucoză) și $\nu_{\text{C-OH}}$ extract la 1200 cm^{-1} (în probele imobilizate). Modificarea rețelei silicice după imobilizare este clar evidențiată și de deplasarea benzilor de absorbție specifice legăturii O - Si - O la 580 cm^{-1} și 446 cm^{-1} (pentru extractul imobilizat cu PEG), respectiv 565 cm^{-1} și 448 cm^{-1} (pentru extractul imobilizat cu D-glucoză), comparativ cu poziția lor în matricele silicice (574 și 450 cm^{-1} pentru matricele formate cu PEG, respectiv 560 și 458 cm^{-1} pentru matricea formată cu D-glucoză).

Implicarea legăturilor Si - OH în formarea unor interacții slabe (legături de hidrogen) cu alte grupări hidroxil și carbonil din structura flavonelor prezente în extractul din coajă de portocale este evidențiată de banda largă de la 3450 cm^{-1} și deplasarea benzii Si - OH de la 940 cm^{-1} (în matricea silicică) către frecvențe mai mari în probele imobilizate (948 cm^{-1}).

Proprietățile fluorescente. Activitatea fluorescentă a probelor de extract din coajă de portocale imobilizate în diferite rețele polimerice a fost determinată comparativ cu cea a extractului neimobilizat, prin măsurători ale intensității emisiei fluorescente. Toate probele au fost excitate la o lungime de undă caracteristică compușilor flavonoidici ($\lambda = 260\text{ nm}$), cu obținerea a două emisii caracteristice pentru probele de extract din coajă de portocale și a celor de extract imobilizat, la ~ 307 și $\sim 452\text{ nm}$. Prin compararea spectrului de fluorescență a extractului de coajă de portocale neimobilizat cu cele ale probelor de extract imobilizate în rețele silicice pure și hibride, se poate observa că există o dovadă clară a procesului de imobilizare (fig. 4). Ca rezultat al imobilizării extractului din coajă de portocale prin adsorbție fizică (legături de hidrogen), în probele de extract imobilizate în diferitele rețele polimerice se observă că intensitatea fluorescenței a fost amplificată cu mai mult de 10 ordine de mărime, datorită aranjamentului conformațional al compușilor flavonoidici din extract în rețeaua polimerică silicică și în sinergie cu proprietățile optice excelente ale SiO_2 și ale derivatului silsesquioxanic.

Tehnica împrăștierii dinamice a luminii (DLS). Testele realizate în vederea obținerii unor informații legate de distribuția dimensiunii agregatelor silicice polimerice ce conțin extractul imobilizat, respectiv asupra estimării diametrului mediu al agregatelor polimerice au scos în evidență prezența unor agregate cu o medie a diametrelor $< 1\text{ }\mu\text{m}$ (587 și 979 nm - pentru probele obținute cu D-glucoză, și respectiv 788 și 392 nm - pentru probele de extract imobilizate cu PEG). Astfel, pentru toate cele patru probe imobilizate în cele două matrice silicice anorganice și hibride silice - silsesquioxan s-a observat o distribuție îngustă de dimensiune, cu o polidispersitate ce variază între $0,110$ și $0,440$.

Microscopie electronică de transmisie (TEM). Evidențierea procesului de imobilizare a extractului din coajă de portocale în matricele silicice polimerice a fost demonstrată și prin microscopie de transmisie electronică, rezultatele obținute fiind în bună concordanță cu rezultatele determinărilor DLS. În fig. 6 se prezintă comparativ imaginea TEM a unei probe de extract vegetal imobilizat prin utilizarea D-glucozei în matrice silicică (fig. 6A) și într-o matrice hibridă silice - silsesquioxan (fig. 6B). În ambele cazuri, dimensiunea agregatelor polimerice este de ordinul sutelor de nanometri, fiind de presupus că pot exista și aranjamente sub acest prag dimensional, datorită transparenței matricei silicice în condițiile în care ambele materiale sunt amorfe. Pentru ambele nano-materiale extractul natural este perfect înglobat în structura internă a silicei. Cum era de așteptat, rețeaua polimerică silicică

nu conferă o uniformitate poliedrică (fig. 6A), așa cum se observă în cazul rețelei silice-	1
silsesquioxan, unde structura poliedrică a unităților silsesquioxanice este clar conturată	
(fig. 6B). Dispersia și imobilizarea la nivel molecular a extractului din coajă de portocale sunt	3
confirmate de gradul avansat de transparență al acestor unități silsesquioxanice. Interesante	
sunt formațiunile morfologice induse de acțiunea ordonatoare a D-glucozei, care determină	5
un grad de ordine în jurul valorilor de zeci de nanometri.	
Procedeul de imobilizare propus pentru captarea unor extracte naturale conduce la	7
obținerea unor materiale noi cu dimensiuni controlate ale porilor, ce conțin extracte naturale	
cu proprietăți fluorescente amplificate, prin imobilizare în matrice gazdă hibride silice -	9
silsesquioxanice ideale, adecvate pentru aplicații optice și biomedicale.	

Revendicări

1. Procedeu de obținere a unor nanomateriale hibride pe bază de silice cu principii active naturale, având proprietăți fluorescente, **caracterizat prin aceea că** acesta cuprinde:

a) formarea unui sol silicic prehidrolizat prin hidroliza în cataliză acidă a unui amestec de tetraetilortosilicat, etanol și apă, într-un raport molar tetraetilortosilicat: etanol: apă = 1: 4: 2, la un $pH = 2 \dots 3$ și la o temperatură de $60 \dots 62^\circ C$, timp de 2 h, rezultând un sol silicic omogen care se răcește la $30^\circ C$, se aduce la $pH = 5 \dots 6$ și la care se adaugă o soluție apoasă 2 M de agent nesurfactant glucidic;

b) formarea unui precursor de tip silsesquioxanic care conține extract de coajă de portocale prin adăugarea la un derivat de precursor oligomeric silsequioxanic a unei soluții de extract de coajă de portocală, în raport masic extract vegetal: silsesquioxan = 0,18: 1, sub agitare la temperatura camerei, timp de 1 h, urmată de adăugare de etanol în raport masic etanol: silsesquioxan = 1: 0,036;

c) imobilizarea extractului de coajă de portocale în matrice hibride silice-silsesquioxanice prin contactarea precursorului de tip silsequioxanic care conține extractul de coajă de portocale cu solul silicic prehidrolizat, urmată de agitare amestecului timp de 12 h la temperatura camerei și de maturare, timp de 3 zile, la $35^\circ C$.

2. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** matricea polimerică hibridă silice-silsesquioxan se obține pornind de la un raport molar tetraetilortosilicat: silsesquioxan = 6: 1.

3. Procedeu conform oricăreia din revendicările 1 sau 2, **caracterizat prin aceea că** precursorul de tip silsesquioxanic este octaizobutiltetraciclo [7.3.3.1^{5,11}]octasiloxan-endo-3,7-diol.

4. Procedeu conform oricăreia din revendicările de la 1 la 3, **caracterizat prin aceea că** agentul nesurfactant glucidic este D-glucoză sau D-fructoză.

5. Procedeu conform oricăreia dintre revendicările de la 1 la 4, **caracterizat prin aceea că**, în loc de soluție apoasă 2 M de agent nesurfactant glucidic, se utilizează o soluție alcoolică 0,8 M agent surfactant tetraetilenglicol monohexadecileter.

6. Procedeu conform oricăreia dintre revendicările de la 1 la 5, **caracterizat prin aceea că**, după etapa de maturare, imobilizatului este mojarat până la pulbere.

7. Nanomateriale hibride pe bază de silice cu principii active naturale, având proprietăți fluorescente, obținute prin procedeul definit în oricare din revendicările de la 1 la 6, **caracterizate prin aceea că** acestea cuprind:

a) 98,18% dintr-o matrice hibridă silice-silsesquioxan ce constă din polimeri de tip $(SiO_2)_n$ și $(RSiO_{1,5})_m$, unde n este numărul de unități de silice care se repetă în polimerul obținut, m este numărul de unități silsesquioxanice care se repetă în polimerul obținut, iar R este un radical alchil ramificat, și

b) 1,82% dintr-un cromofor organic fluorescent extras din coji de portocale, procente fiind exprimate în greutate.

8. Nanomateriale conform revendicării 7, **caracterizate prin aceea că** $(RSiO_{1,5})_m$ este un polimer de condensare al octaizobutiltetraciclo [7.3.3.1^{5,11}] octasiloxan-endo-3,7-diolului, unde R este radical izobutil și n este numărul de unități silsesquioxanice care se repetă în polimerul obținut.

9. Nanomateriale conform revendicării 7 sau 8 obținute prin procedeul definit în oricare din revendicările de la 1 la 4, **caracterizate prin aceea că** au un diametru mediu al agregatelor polimerice cuprins între 587 și 979 nm.

10. Nanomateriale conform revendicării 7 sau 8, obținute prin procedeul definit în revendicarea 5, caracterizate prin aceea că au un diametru mediu al agregatelor polimerice cuprins între 788 și 392 nm.	1
11. Procedeul de obținere a unor nanomateriale hibride pe bază de silice cu principii active naturale, având proprietăți fluorescente, caracterizat prin aceea că acesta cuprinde:	3
a) formarea unui sol silicic prehidrolizat prin hidroliza în cataliză acidă a unui amestec de tetraetilortosilicat, etanol și apă, într-un raport molar tetraetilortosilicat: etanol: apă = 1: 4: 2, la un pH = 2...3 și la o temperatură de 60...62°C, timp de 2 h, rezultând un sol silicic omogen care se răcește la 30°C, se aduce la pH = 5...6 și la care se adaugă o soluție apoasă 2 M de agent nesurfactant glucidic;	5
b) contactarea a 99,47% în greutate sol silicic prehidrolizat cu 0,53% în greutate soluție apoasă de extract de coajă de portocală;	7
c) imobilizarea extractului de coajă de portocale în matrice silicice prin agitarea amestecului de sol silicic prehidrolizat și extract de coajă de portocale timp de 12 h la temperatura camerei, urmată de maturarea amestecului rezultat timp de 3 zile la 35°C.	9
12. Procedeul conform revendicării 11, caracterizat prin aceea că agentul glucidic este D-glucoză sau D-fructoză.	11
13. Procedeul conform revendicării 11 sau 12, caracterizat prin aceea că , în loc de soluție apoasă 2 M de agent nesurfactant glucidic, se utilizează o soluție alcoolică 0,8 M agent surfactant tetraetilenglicol monohexadecileter.	13
14. Procedeul conform oricăreia din revendicările de la 11 la 13, caracterizat prin aceea că , după etapa de maturare, imobilizatului este mojarat până la pulbere.	15
15. Nanomateriale hibride pe bază de silice cu principii active naturale, având proprietăți fluorescente, obținute prin procedeul definit în revendicarea 11, caracterizate prin aceea că acestea cuprind:	17
a) 97,9% dintr-o matrice silică anorganică ce constă din polimeri de condensare de tip $(\text{SiO}_2)_n$, unde n este numărul de unități de silice care se repetă în polimerul obținut și	19
b) 2,1% dintr-un cromofor organic fluorescent extras din coji de portocale, procentele fiind exprimate în greutate.	21
16. Nanomateriale conform revendicării 15, caracterizate prin aceea că au un diametru mediu al agregatelor polimerice < 1 μm.	23
17. Nanomateriale conform revendicărilor 7 - 10, 15 și 16, caracterizate prin aceea că au o polidispersitate care variază între 0,110 și 0,440.	25
	27
	29
	31
	33

(51) Int.Cl.

B82B 3/00 (2006.01),
B82B 1/00 (2006.01),
C01B 33/14 (2006.01),
A61K 31/80 (2006.01),
A61K 36/752 (2006.01),
A61K 8/90 (2006.01),
A61K 8/97 (2006.01),
C08G 77/42 (2006.01)

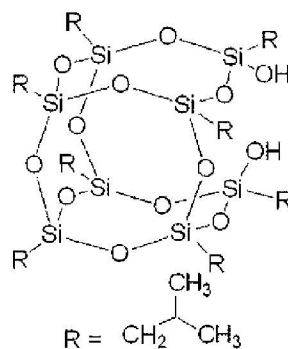


Fig. 1

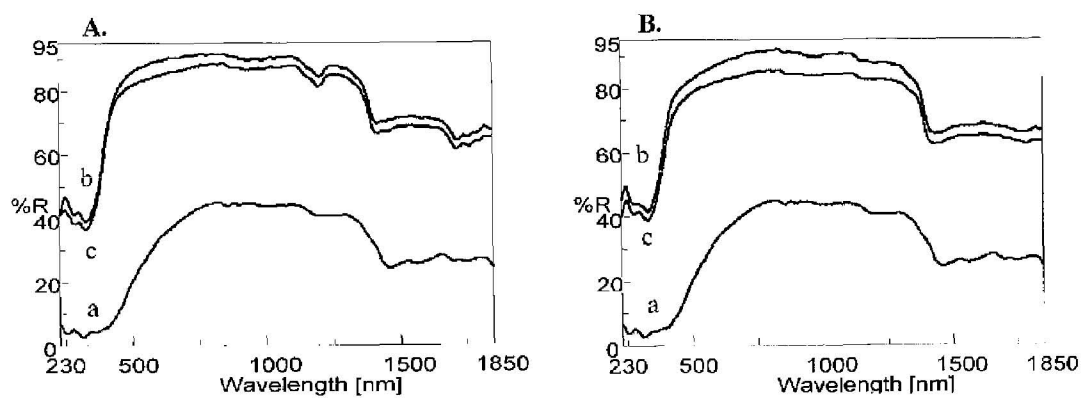


Fig. 2

(51) Int.Cl.
B82B 3/00 (2006.01).
B82B 1/00 (2006.01).
C01B 33/14 (2006.01).
A61K 31/80 (2006.01).
A61K 36/752 (2006.01).
A61K 8/90 (2006.01).
A61K 8/97 (2006.01).
C08G 77/42 (2006.01)

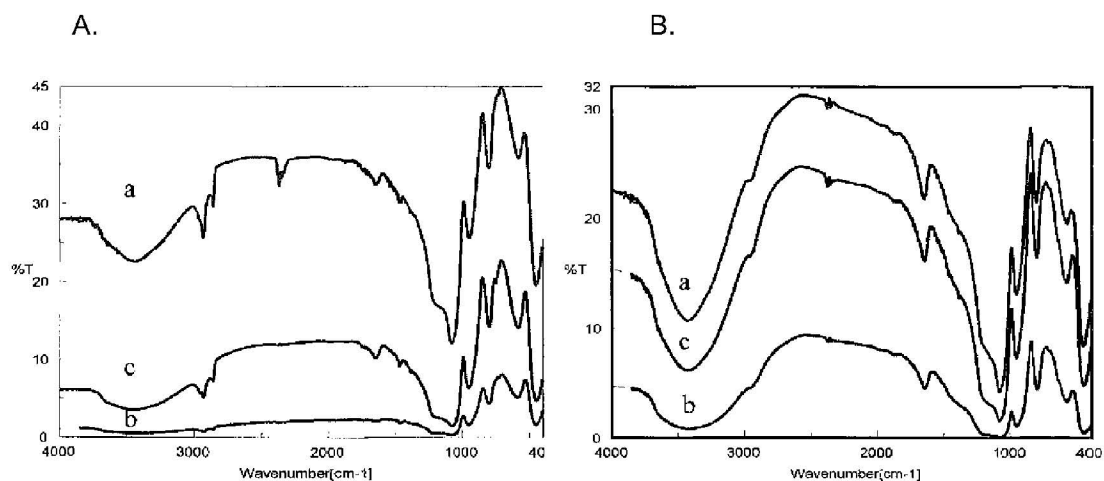


Fig. 3

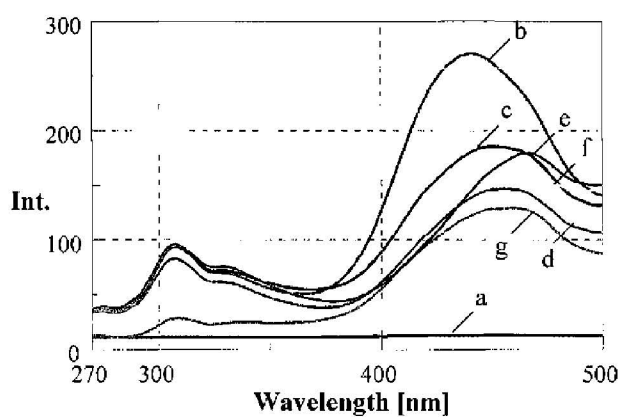


Fig. 4

(51) Int.Cl.

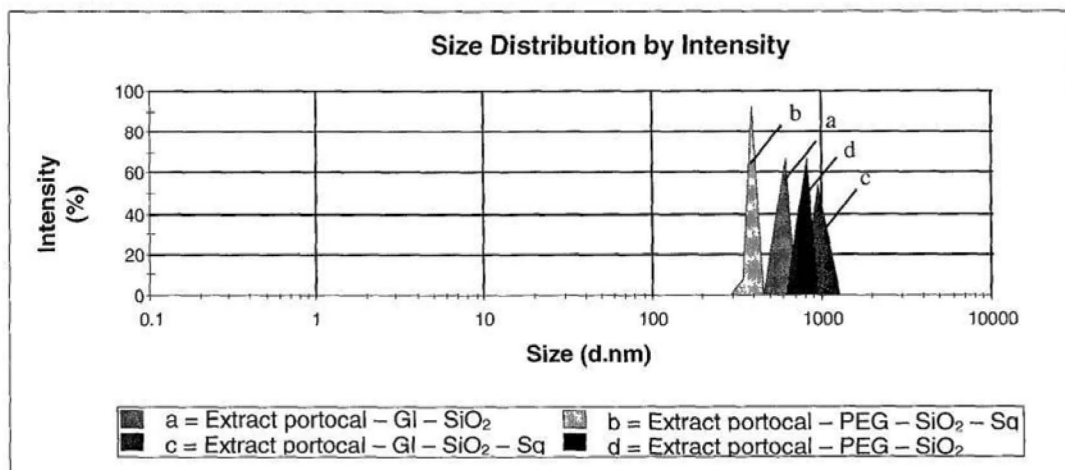
B82B 3/00 (2006.01),**B82B 1/00** (2006.01),**C01B 33/14** (2006.01),**A61K 31/80** (2006.01),**A61K 36/752** (2006.01),**A61K 8/90** (2006.01),**A61K 8/97** (2006.01),**C08G 77/42** (2006.01)

Fig. 5

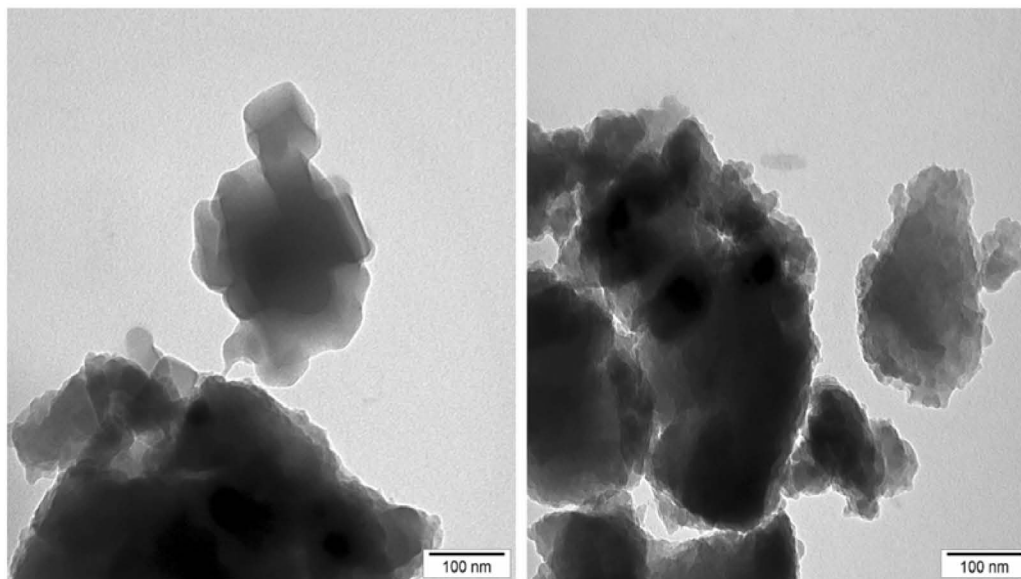


Fig. 6



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
 Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci