



(12)

## BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2007 00377**

(22) Data de depozit: **06.06.2007**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **28.02.2013** BOPI nr. **2/2013**

(41) Data publicării cererii:  
**30.12.2008** BOPI nr. **12/2008**

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

(72) Inventatori:

• **DUMITRIU RALUCA PETRONELA,  
STR.PROF.PAUL NR.11, BL.339/I, SC.B,  
AP.2, IAȘI, IS, RO;**  
• **VASILE CORNELIA, STR.PANTELIMON  
NR.29, BL.308, SC.A, ET.3, AP.12, IAȘI, IS,  
RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:  
**CA 2008441 A1; GB 2291348 A**

(54) **PROCEDEU DE OBȚINERE A UNUI HIDROGEL  
BICOMPONENT**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui hidrogel bicomponent, cu potențiale aplicații în medicină, farmacie și cosmetică. În cadrul procedurii conform invenției, se prelucrează o compoziție pe bază de 75...99% N-izopropilacril amidă și 1... 25% alginat de

sodiu, care sunt reticulate cu 2...7% N,N-metil-enbisacrilamidă, la 25°C, timp de 2 h.

Revendicări: 1



# RO 123511 B1

1           Invenția de față se referă la un procedeu de obținere a unui hidrogel bicomponent,  
cu conținut de amestecuri de polimeri naturali și sintetici, cu potențiale aplicații în medicină  
3 și farmacie.

Se cunoaște un hidrogel poros, pe bază de poliacrilamidă și alginat de sodiu, și pro-  
5 cedeul de obținere a acestuia, din lucrarea lui Hossein Omidian, Jose G. Rocca, Kinam Park,  
*Elastic, Superporous Hydrogel Hybrids of Polyacrylamide and Sodium Alginate*, din anul  
7 2006. Procedeu de sinteză a acestui hidrogel constă din amestecare de 50% acrilamidă, în  
mediu de 500  $\mu$ l apă, cu 1% N,N'-metilenbisacrilamidă, 10% agent tensioactiv cu acid acetic,  
9 cu 1500  $\mu$ l de soluție apoasă de alginat de sodiu, la o temperatură de 26°C. La acestea, se  
adaugă 40 vol/vol de tetrametilediamină și 20% persulfat de sodiu, cantitatea în greutate, a  
11 fiecăreia dintre ultimele două, fiind de 50  $\mu$ l. La amestecul de reacție, se adaugă 35 mg  
bicarbonat de sodiu, după care se spumează și se gelificază, timp de 50...75 s. În final, soluția  
13 se tratează cu soluție ionică și se purifică cu apă, după care se usucă.

Problema pe care o rezolvă invenția este de obținere a noi hidrogeluri ce conțin algi-  
15 nat de sodiu și N-izopropilacril amidă, în ideea de a combina caracteristicile unice ale celor  
doi polimeri, obținându-se materiale sensibile atât la modificările de pH, cât și de tempera-  
17 tură, care pot fi utilizate în domeniul biomedical.

Procedeu de obținere a unui hidrogel bicomponent, sensibil la variații de temperatură  
19 și pH, conform invenției, constă în aceea că se reticulează, la o temperatură de 25°C, într-un  
timp de maximum 2 h, o compoziție aflată în prealabil sub agitare, un timp de minimum  
21 10 min, formată din 1...25% alginat de sodiu, 75...99% N-izopropilacril amidă și 2...7% N,N'-  
metilenbisacrilamidă, ca agent de reticulare sub formă de soluție 0,5% în apă bidistilată, 2%  
23 persulfat de potasiu, ca inițiator și 2% N,N,N',N'-tetrametilendiamină, ca agent accelerator,  
rezultând, în final, un produs care se îngheață un timp de 2 h și se liofilizează în timp de  
25 15 h, având un grad de gonflare de 2999% la temperatura de 20°C și de 205% la tempera-  
tura de 40°C și, respectiv, 196,3%, la pH de 2,2, 410% la pH de 5 și 203% la pH de 7,2.

27 Invenția prezintă avantajul că se obțin hidrogeluri cu proprietăți speciale, pe bază de  
alginat și NIPAM, hidrogeluri care se pot utiliza, datorită capacității lor de gonflare, în diverse  
29 domenii: farmacie, medicină, cosmetică.

Polimerii termo- și pH-sensibili au atras atenția specialiștilor din domeniul biomedical,  
31 deoarece temperatura și pH-ul sunt doi factori extrem de importanți în desfășurarea proce-  
selor biologice din organismul uman și pot fi ușor controlați.

33 Acidul alginic este o polizaharidă naturală, biodegradabilă și constituie cel mai  
abundent biopolimer marin. Aplicațiile sale sunt numeroase, acoperind domenii foarte  
35 variate: în industria alimentară, ca stabilizator, emulsifiant sau agent de îngroșare, în agri-  
cultură, în industria textilă și a hârtiei la imprimare, în industria farmaceutică excipient pentru  
37 medicamente. Cercetările efectuate au demonstrat că algiinații sunt polimeri sensibili la  
modificările de pH ale mediului ambiant. Valorificarea acestei proprietăți a algiinaților, precum  
39 și biocompatibilitatea lor, au condus la utilizarea acestora în domeniul biomedical, ca matrice  
pentru încapsularea și eliberarea unor proteine, medicamente sau celule. Hidrogelurile pe  
41 bază de algiinați sunt sensibile la pH, biocompatibile și biodegradabile, având și un preț  
relativ scăzut.

43 În ultimii ani, s-au realizat numeroase cercetări, în vederea asocierii biopolimerilor cu  
macromolecule termosensibile, cu scopul de a obține matrice, care prezintă o dublă și inde-  
45 pendentă sensibilitate, atât la pH, cât și la temperatură.

# RO 123511 B1

Poli(N-izopropilacril amida) (PNIPAM) este unul dintre cei mai interesanți polimeri sensibili la condițiile de mediu. PNIPAM suferă o tranziție de fază reversibilă de la structura relaxată a lanțului macromolecular la conformația de ghem statistic molecular, la temperatura sa critică inferioară de solubilitate (LCST) în mediu apos, situată la aproximativ 32°C. Gelurile pe bază de N-izopropilacrilamidă (NIPAM), care se umflă la temperatură mai mică și colapsează la temperatură mai mare decât LCST, constituie unul dintre cele mai studiate sisteme termoreversibile, fiind utilizate pentru perfecționarea sistemelor de eliberare controlată a medicamentelor.

Rețelele polimerice, încărcate cu sarcini electrice (de exemplu, grupări COO<sup>-</sup> cum este cazul alginatilor) au fost recunoscute ca fiind utile la realizarea de matrice pentru eliberarea de medicamente, datorită modificărilor de volum, determinate de repulsia dintre grupările încărcate, încorporate în matricea de gel, care determină scăderea densității în structura polimerului, în timp ce volumul cavităților din structură crește.

La ora actuală, s-au obținut atât hidrogeluri pe bază de alginat, precum și pe bază de NIPAM, însă până în prezent, nu s-au obținut geluri care conțin ambii polimeri, în majoritatea aplicațiilor, manifestându-se interes pentru formarea gelurilor de alginat cu ionii de Ca<sup>2+</sup>.

Hidrogelurile polimerice, sensibile la acțiunea stimulilor din mediul extern, numite "geluri stimuli-responsive", prezintă o deosebită importanță tehnologică și științifică. Datorită proprietăților pe care le posedă, au fost cuprinse în categoria materialelor inteligente, cu posibile aplicații în biotehnologie, inginerie tisulară, la biosenzori, la realizarea sistemelor de eliberare controlată a principiilor biologice active.

Invenția de față rezolvă problema formării hidrogelurilor pe bază de polimeri sintetici (NIPAM), prin încorporarea unui polimer natural, alginatul, care imprimă totodată proprietăți specifice materialelor obținute, acestea manifestând o dublă sensibilitate, atât la modificările de pH, cât și de temperatură.

În invenție, au fost utilizate următoarele materiale:

Ca polizaharidă de plecare, s-a folosit acid alginic din alge brune, procurat de la firma Fluka, având masa moleculară medie 48000-186000. Acesta a fost tratat cu NaOH 0,5 M, pentru a fi convertit în alginat de sodiu, notat în continuare ALG.

Componenta termosensibilă a hidrogelurilor preparate, N-izopropilacril amida (NIPAM) 97%, a fost procurată de la firma Aldrich.

S-a folosit persulfat de potasiu (KPs), ca inițiator, N,N,N',N'-tetrametiletildiamină (TEMED), ca accelerator, și N,N'-metilenbisacrilamida (MBA), ca agent de reticulare.

N,N'-metilenbisacrilamida folosită ca agent de reticulare a fost procurată de la Fluka (M=154,2). Persulfatul de potasiu (KPs), utilizat ca inițiator, cu masa moleculară 270,33 g/mol, a fost procurat de la firma Merck. N,N,N',N'-tetrametiletildiamina (TEMED) folosită ca accelerator a fost obținută de la firma Fluka, având masa moleculară 116,21 și  $d_4^{20}=0,775$ .

Procedeele de obținere a hidrogelului pe bază de alginat și NIPAM, conform invenției, constă în două reacții cuplate, concomitente, de copolimerizare radicalică și de reticulare: N-izopropilacril amida și acidul alginic modificat în alginat de sodiu cu soluție NaOH 0,5 M se reticulează cu soluție 0,5% N,N'-metilenbisacrilamidă. Concomitent, are loc polimerizarea NIPAM, inițiată cu soluție 0,5% KPs. Procesul este accelerat, folosind N,N,N',N'-tetrametiletildiamină (TEMED). Amestecul obținut se agită energic, continuu, timp de 10 min, apoi se menține la 25°C, timp de maximum 2 h. Gelurile astfel obținute se lasă la 25°C, timp de 3-4 zile, pentru stabilizare și atingerea echilibrului, apoi sunt spălate repetat cu apă bidistilată, în scopul îndepărtării resturilor posibile de monomer sau de compus nereticulat. După spălare, gelurile au fost înghețate timp de 2 h, după care au fost uscate prin liofilizare, cu ajutorul unui sistem LABCONCO FreeZone, timp de 15 h.

# RO 123511 B1

1 În continuare, se dau 3 exemple de realizare a invenției, cu referire și la datele pre-  
2 zentate în tabelele 1, 2, 3 și 4, unde sunt date caracteristicile de umflare ale hidrogelurilor  
3 pe bază de alginat și NIPAM, în diferite rapoarte de amestecare și la diferite concentrații de  
4 agent de reticulare (MBA), la diferite temperaturi și valori de Ph.

5 **Exemplul 1.** Într-un flacon, se cântăresc 0,025 g acid alginic, care se solubilizează  
6 cu 1,9 ml apă bidistilată și 0,4 ml sol. NaOH 0,5M, pentru transformarea în alginat de sodiu.  
7 Într-un alt flacon, se cântăresc 0,225 g NIPAM, care se dizolvă în 0,9 ml sol. KPs 0,5% și  
8 1,8 ml sol. MBA 0,5%. Cele două soluții astfel obținute se amestecă și se omogenizează,  
9 apoi se adaugă 0,006 ml TEMED. Se agită energic, continuu, timp de 10 min, apoi amestecul  
10 se menține la 25°C, timp de maximum 2 h, în recipientul în care a fost preparat. Se obține  
11 un gel translucid, având un grad maximum de umflare de 2999%, la 20°C, fiind un gel supra-  
12 absorbant. Odată cu creșterea temperaturii, gradul de umflare scade, ajungând la 205%, la  
13 40°C. La 37°C, la pH = 2,2, valoarea lui Qmax este 196%, iar la pH = 7,2, este 203%, obser-  
14 vându-se o comportare asemănătoare, cu o capacitate de umflare ușor mărită la pH bazic.

15 **Exemplul 2.** Se procedează ca în exemplul 1, dar se variază rapoartele de ames-  
16 tecare dintre componenți, utilizându-se cantitățile corespunzătoare de KPs, MBA și TEMED.  
17 S-au preparat următoarele compoziții: 99/1,95/5,90/10, 85/15, 80/20,75/25 NIPAM/ALG.

18 Hidrogelul având compoziția 75 NIPAM/25 ALG prezintă valori mai mari ale gradului  
19 de umflare comparativ cu celelalte compoziții. Se observă o creștere a valorilor gradului de  
20 umflare, odată cu creșterea conținutului de alginat din compoziție (tabelul 1). Hidrogelurile  
21 se prezintă compacte, iar culoarea se modifică, evoluând de la transparent - translucid, în  
22 cazul gelurilor cu un conținut mare de NIPAM (99/1, 95/5, 90/10), la alb-opac, odată cu  
23 creșterea conținutului de alginat.

24 S-a constatat scăderea capacității de umflare, odată cu creșterea temperaturii, pentru  
25 toate compozițiile preparate.

26 În cazul probelor cu un conținut mai mare de NIPAM (99/1, 95/5, 90/10), s-a observat  
27 o capacitate de umflare ușor mai mare, la pH = 7,2, în timp ce probele având în compoziție  
28 mai mult alginat, au o capacitate de umflare mai mare la pH 2,2 (tabele 1 și 3).

29 **Exemplul 3.** Se procedează ca în exemplul 1, dar se utilizează cantități variabile de  
30 agent de reticulare (MBA). S-au preparat hidrogeluri cu următoarele concentrații de agent  
31 de reticulare: 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7% MBA. S-a observat că aspectul gelurilor se modifică  
32 de la transparent (2%, 3%, 4% MBA) la opalescent-alb, odată cu creșterea conținutului de  
33 MBA.

34 S-a constatat că gradul de umflare scade cu creșterea temperaturii și cu creșterea  
35 conținutului de agent de reticulare în probe. La 20°C, valoarea Qmax, pentru proba cu 2%  
36 MBA, este 3399%, iar la 40°C, este 218%; pentru proba cu 7% MBA, Qmax este 2750%, la  
37 20°C și 205%, la 40°C (tabelul 2). S-a observat că toate probele prezintă o capacitate de  
38 umflare mai mare la pH = 2,2 decât la pH = 7,2 (tabelul 4).

39 Comportarea la umflare a hidrogelurilor preparate a fost studiată la diferite  
40 temperaturi și valori de pH. Studiile de umflare s-au realizat pe un interval de temperatură  
41 cuprins între 20 și 40°C, și în soluții tampon de pH = 2,2 și, respectiv, de 7,2.

42 În toate cazurile, s-a observat scăderea gradului de umflare, odată cu creșterea temperaturii,  
43 în special, după depășirea LCST a PNIPAM, la 32°C, când lanțurile de PNIPAM colapsează  
44 și se formează agregate moleculare cu structură compactă. Gradul de umflare crește cu  
45 creșterea conținutului de alginat și scade ușor cu creșterea concentrației de agent de  
46 reticulare (MBA) în probe.

# RO 123511 B1

Tabelul 1

Gradul de umflare maxim, pentru diferite compoziții ale hidrogelurilor,  
la diferite temperaturi

Compoziție NIPAM-ALG, (%)	$Q_{max} = (m - m_0 / m_0) \cdot 100, (\%)$				
	20°C	30°C	33°C	35°C	40°C
99/1	2385	1453	1143	487	100
95/5	2437	1647	1328	610	137
90/10	2999	1957	1302	743	205
85/15	2799	2433	1450	533	210
80/20	3446	2939	1577	423	369
75/25	3734	2679	1817	844	485

Tabelul 2

Gradul de umflare maxim, pentru diferite concentrații ale agentului de reticulare (MBA)  
în hidrogeluri, la diferite temperaturi

Concentrație MBA, (%)	$Q_{max} = (m - m_0 / m_0) \cdot 100, (\%)$				
	20°C	30°C	33°C	35°C	40°C
2	3399,6	2026,7	1494,8	1228,4	218
3	2872,6	1701,4	1242	1155,6	170,5
4	3205,3	1957,2	1302	742,8	212,9
5	2769	1649	1095,8	754,5	174,3
6	2752	1664,7	1256,8	949,7	226,5
7	2750	1663	1163	762,3	205

Tabelul 3

Gradul de umflare maxim, pentru diferite compoziții ale hidrogelurilor, la diferite valori de  
pH, la 37°C

Compoziție NIPAM-ALG, (%)	$Q_{max} = (m - m_0 / m_0) \cdot 100, (\%)$		
	pH = 2,2	pH = 5	pH = 7,2
99/1	113,2	283,7	182
95/5	131,2	339,4	191
90/10	196,3	410	203
85/15	241,5	532,5	209
80/20	384,8	423	278,6
75/25	485,9	911	339

# RO 123511 B1

Tabelul 4

Gradul de umflare maxim, pentru diferite concentrații ale agentului de reticulare (MBA) în hidrogeluri, la diferite valori de pH, la 37 °C

Concentrație MBA, (%)	$Q_{\max} = (m - m_0/m_0) \cdot 100, (\%)$	
	pH = 2,2	pH = 7,2
2	156	136,5
3	167	149
4	196,3	178
5	216,4	168,7
6	241,3	186,7
7	290,5	180,6

# RO 123511 B1

## Revendicare

	1
Procedeu de obținere a unui hidrogel bicomponent, sensibil la variații de temperatură și pH, <b>caracterizat prin aceea că</b> se reticulează la o temperatură de 25°C, într-un timp de maximum 2 h, o compoziție aflată în prealabil sub agitare un timp de minimum 10 min, formată din 1...25% alginat de sodiu, 75...99% N-izopropilacril amidă și 2...7% N,N'-metilenbisacrilamidă, ca agent de reticulare sub formă de soluție 0,5% în apă bidistilată, 2% persulfat de potasiu, ca inițiator și 2% N,N,N',N'-tetrametilendiamină, ca agent accelerator, rezultând, în final, un produs care se îngheață un timp de 2 h și se liofilizează în timp de 15 h, având un grad de gonflare de 2999% la temperatura de 20°C și de 205% la temperatura de 40°C și, respectiv, 196,3% la pH de 2,2, 410% la pH de 5 și 203% la pH de 7,2.	3 5 7 9 11



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM  
Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci  
sub comanda nr. 70/2013