



(12)

## BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2012 00041**

(22) Data de depozit: **19/01/2012**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/03/2018** BOPI nr. **3/2018**

(41) Data publicării cererii:  
**30/09/2013** BOPI nr. **9/2013**

(73) Titular:  
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU  
TEHNOLOGII IZOTOPICE ȘI  
MOLECULARE, STR.DONATH NR.65-103,  
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(72) Inventatori:  
• **NAN ALEXANDRINA EMILIA, STR.TOMIS  
NR.16, BL.D 19, AP.8, DEJ, CJ, RO;**  
• **TURCU RODICA PAULA,  
STR.TITU MAIORESCU NR.7, AP.4,  
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**  
• **LIEBSCHER JURGEN,  
STR TAPIAUER ALLEE NR. 6, BERLIN, DE**

(56) Documente din stadiul tehnicii:  
**DOINA BICA ȘI COL., "STERICALLY  
STABILIZED WATER BASED MAGNETIC  
FLUIDS: SYNTHESIS, STRUCTURE AND  
PROPERTIES", JOURNAL OF  
MAGNETISM AND MAGNETIC  
MATERIALS, VOL. 311, PP. 17-21, 2007;  
WO 2007097605 A1; M. V. AVDEEV ȘI  
COL., "COMPARATIVE STRUCTURE  
ANALYSIS OF NON-POLAR ORGANIC  
FERROFLUIDS STABILIZED BY  
SATURATED MONO-CARBOXYLIC  
ACIDS", JOURNAL OF COLLOID AND  
INTERFACE SCIENCE, PP. 37-41, 2009;  
RO 90078**

(54) **NANOPARTICULE MAGNETICE FUNCȚIONALIZATE  
ȘI PROCEDEU DE OBȚINERE A ACESTORA**



1 Prezenta invenție se referă la nanoparticule magnetice funcționalizate de tip core-  
shell și la un procedeu de obținere a acestora. Aceste nanoparticule magnetice funcționali-  
3 zate pot fi utilizate în separarea magnetică, recunoașterea biomoleculară a celulelor cance-  
roase pentru imagistică nucleară sau pentru tratamentul hipertermic al cancerului.

5 Nanoparticulele magnetice, conform invenției, au miezul magnetic constituit din mag-  
netită, iar învelișul organic este format din unități de glucozamină atașate covalent de acizi  
7 grași absorbiți pe suprafața nanoparticulelor de magnetită. În literatură există câteva articole  
care descriu funcționalizarea diferitelor tipuri de nanoparticule magnetice cu carbohidrați  
9 (lactoză, glucoză, galactoză, manoză, chitosan, celuloză, etc.).

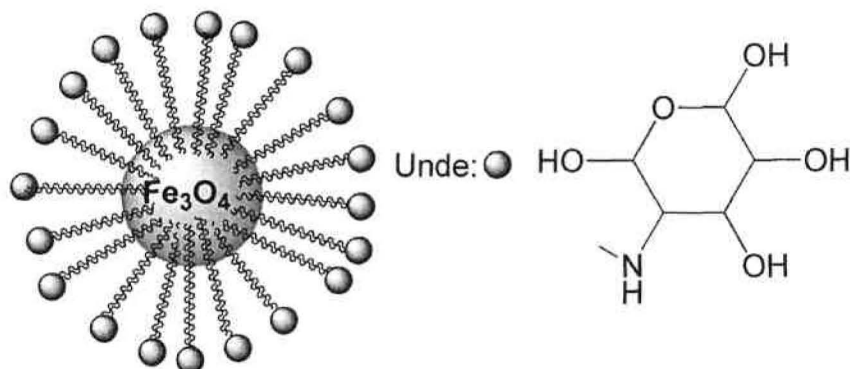
În cazurile descrise în literatură, miezul magnetic este constituit din diferite materiale,  
11 și anume nanoparticule de oxid de fier, nanoparticule de fier acoperite cu aur, nanoparticule  
de oxid de fier acoperite de un strat de carbon, nanoparticule de oxid de fier acoperite de un  
13 strat de aur, ferită de cobalt sau ferită de mangan. Funcționalizarea nanoparticulelor magne-  
tice cu zaharuri și polizaharide este realizată prin absorbția [S. Mohapatra, N. Panda, P.  
15 Pramanik, *Materials Science and Engineering C*, Vol. 29 (7), 2254-2260 (2009); F. Chen,  
Q. Chen, S. Fang, Y. Sun, Z. Chen, G. Xie, Y. Du, *Dalton Transactions*, Vol. 40, 10857  
17 (2011); V. Ivanova, P. Petrova, J. Hristov, *International Review of Chemical  
Engineering*, Vol. 3(2), 289-299 (2011); J. M. de la Fuente, D. Alcántara, P. Eaton, P.  
19 Crespo, T. C. Rojas, A. Fernández, A. Hernando, S. Penades, *The Journal of Physical  
Chemistry B*, Vol. 110, 13021-13028 (2006)] sau prin legarea covalentă a acestora pe  
21 suprafața nanoparticulelor.

Metoda atașării moleculelor de carbohidrat pe suprafața nanoparticulelor magnetice  
23 prin absorbție nu conferă stabilitate nanoparticulelor magnetice rezultate, deoarece, în timp,  
în anumite medii de reacție (spre exemplu: temperatură, solvent, pH), moleculele de carbohi-  
25 drați pot fi îndepărtate de pe suprafața nanoparticulelor. Din cauza acestei instabilități,  
aceste nanostructuri magnetice funcționalizate prin absorbția diferitelor tipuri de carbohidrați  
27 nu pot fi folosite pentru un timp îndelungat în orice mediu și, de asemenea, nu pot fi reciclate  
în scopul reutilizării.

29 S. S. Banerjee et al. [S. S. Banerjee, D. H. Chen, *Chemistry of Materials*, Vol. 19,  
3667-3672, (2007)] prezintă atașarea maltozei pe suprafața nanoparticulei magnetice prin  
31 intermediul unei reacții de reducere a grupării aminice a gumei arabice absorbite în prealabil  
pe suprafața nanoparticulelor magnetice. Grefarea unor unități de manoză și galactoză pe  
33 suprafața nanoparticulelor magnetice de tip oxid de fier funcționalizate cu silica prin  
intermediul unei reacții [2 + 3] Huisgen a fost raportată de către K. El-Boubbou et al. [K.  
35 El-Boubbou, C. Gruden, X. Huang, *Journal of the American Chemistry Society*, Vol.  
129, 13392-13393 (2007)]. J. Gallo et al. [J. Gallo, I. García, D. Padro, B. Arnáiz, S.  
37 Penadés, *Journal of Materials Chemistry*, Vol. 20, 10010-10020 (2010)] și I. García et al.  
[I. Garcia, J. Gallo, N. Genicio, D. Padro, S. Penadés, *Bioconjugate Chemistry*, Vol. 22,  
39 264-273 (2011)] descriu atașarea carbohidraților pe suprafața diferitelor nanoparticule magne-  
tice prin schimbarea liganzilor aflați pe suprafața acestor nanoparticule magnetice cu liganzi  
41 grefați pe molecula carbohidraților. Într-un alt brevet [Jin Woo Cheon, Young Wook Jun,  
Jin Sil Choi, Nr. Brevet WO 2007/097605 A1, 2007], autorii descriu nanoparticule pe bază  
43 de oxid metalic acoperite cu un ligand de transfer de fază care conține în moleculă o grupare  
de legare, o grupare de legare cuplată la o grupare de intercalare, sau o grupare de legare  
45 cuplată la o grupare reactivă. Într-o variantă de realizare a invenției revendicate, oxidul  
metalic poate fi  $Fe_xO_y$ , unde  $0 < x \leq 20$ ,  $0 < y \leq 20$  (incluzând și  $Fe_3O_4$ ). Într-una dintre

variantele de realizare, ligandul de transfer ar putea fi un acid gras sau un carbohidrat (spre exemplu: glucoza). De asemenea, ligandul de transfer ar putea conține în moleculă o grupare de legare pe miezul magnetic și o altă grupare de reticulare sau o grupare reactivă capabilă să lege alte molecule de interes aplicativ, ca, de exemplu, glucoza.

Tema principală a invenției este dezvoltarea și prepararea unor nanoparticule magnetice având miezul de oxid de fier funcționalizat cu unități ale derivatului amidic de glucozamină având formula descrisă mai jos (formula 1):



Formula 1

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este de a mări stabilitatea structurilor funcționalizate cu derivatul amidic de glucozamină, pe bază de magnetită, în diferite medii de reacție. Obiectivul prezentei invenții este acela de a obține nanoparticule magnetice având glucozamină atașată covalent pe suprafața acestora. Aceste nanoparticule magnetice sunt stabilizate în prealabil cu un strat dublu de acid lauric sub forma unui fluid magnetic în apă, prepararea acestor fluide magnetice fiind descrisă în invenția RO 90078, 1985 [D. Bica, Brevet RO Nr. 90078, 1985] și [D. Bica, L. Vékás, M. V. Avdeev, O. Marinică, V. Socoliuc, M. Bălășoiu, V. M. Garamus, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, Vol. 311, 17-21 (2007)]. Reacția de atașare covalentă a moleculelor de glucozamină pe suprafața nanoparticulelor magnetice are loc prin activarea grupărilor carboxil, grupare aparținând acidului lauric utilizat pentru stabilizarea acestor nanoparticule, agenții de activare a grupării carboxil folosiți în cadrul acestei invenții fiind etil-(N',N'-dimetilamino)propilcarbodiimidă și 1-hidroxibenzotriazol.

Nanoparticulele magnetice funcționalizate, conform invenției, au un miez de magnetită pe care este absorbit un strat dublu de acid lauric, de care sunt atașate resturi de glucozamină printr-o legătură de tip amidic între grupările -COOH ale acidului lauric și gruparea -NH<sub>2</sub> a glucozaminei.

Procedeele de obținere a nanoparticulelor magnetice funcționalizate, conform invenției, constă în aceea că se aduce în contact un fluid magnetic în apă care conține nanoparticule de magnetită, stabilizate cu un strat dublu de acid lauric, cu clorhidrat de glucozamină, în prezență de etil-(N',N'-dimetilamino)propilcarbodiimidă, 1-hidroxibenzotriazol și N,N-diisopropiletilamină timp de 24 h, la temperatura camerei.

Pentru utilizarea nanoparticulelor magnetice funcționalizate în diferite domenii (separarea celulară magnetică, recunoaștere biomoleculară sau folosirea lor în organocataliză), este necesar ca atașarea grupării funcționale pe suprafața nanoparticulei magnetice să se realizeze printr-o legătură stabilă. Legătura amidică covalentă formată între gruparea carboxil a acidului lauric aflat pe suprafața nanoparticulelor magnetice și gruparea amino din molecula glucozaminei este una puternică și foarte stabilă.

# RO 128880 B1

1 Această invenție prezintă o metodă nouă de funcționalizare a nanoparticulelor mag-  
netice prin atașarea covalentă a moleculelor de glucozamină. Această metodă prezintă  
3 avantaje față de metodele existente, în ceea ce privește stabilitatea nanostructurii magnetice  
funcționalizate în diferite medii de reacție. Un alt avantaj al metodei prezentate este și faptul  
5 că s-au obținut nanoparticule magnetice funcționalizate cu un derivat amidic al glucozaminei  
care este biocompatibil și nu prezintă citotoxicitate.

7 Chiar dacă au fost dezvoltate multe tipuri de nanoparticule magnetice care pot fi folo-  
site în diferite aplicații ale sectorului tehnologic sau biotehnologic, este totuși o mare nevoie  
9 de a dezvolta noi nanostructuri magnetice funcționalizate. De exemplu, prin aplicarea acestei  
invenții putem atașa unități derivate ale glucozaminei biologic active pe suprafața nanoparti-  
11 culelor magnetice, ceea ce prezintă importanță aplicativă. De asemenea, funcționalizarea  
nanoparticulelor magnetice cu glucoză oferă posibilitatea aplicării acestor nanoparticule în  
13 nanomedicină pentru diagnosticarea celulelor canceroase și tratarea tumorilor canceroase  
prin hipertermie.

15 Explicarea pe scurt a schemelor și figurilor:

17 Schema 1, prepararea nanoparticulelor magnetice funcționalizate cu derivatul amidic  
al glucozaminei.

19 Fig. 1, microscopia electronică de transmisie pentru nanoparticulele magnetice  
funcționalizate cu unități ale derivatului amidic al glucozaminei MNP-Glu. Imaginea de micro-  
scopie a nanoparticulelor magnetice, funcționalizate cu molecule de glucozamină MNP-Glu,  
21 ne arată că au o distribuție dimensională îngustă și nu formează agregate, dimensiunea  
medie a acestora fiind în jur de 10 nm.

23 Fig. 2, spectroscopia FTIR pentru nanoparticulele magnetice funcționalizate cu unități  
ale derivatului amidic al glucozaminei MNP-Glu și a ferofluidului folosit ca materie primă de  
25 plecare. În ambele spectre FTIR se poate observa, la  $570\text{ cm}^{-1}$ , banda de adsorbție atribuită  
legăturii Fe-O, iar la  $1627\text{ cm}^{-1}$  este banda de adsorbție, specifică atât grupărilor -OH din  
27 molecula de glucozamină, cât și a legăturii amidice formate între gruparea amino a glucoz-  
aminei și gruparea carboxil a acidului lauric. Banda specifică legăturii C-O apare la valoarea  
29 de  $1545\text{ cm}^{-1}$ . Prezența celor două benzi de la  $1627\text{ cm}^{-1}$ , respectiv la  $1545\text{ cm}^{-1}$ , demons-  
trează atașarea covalentă a moleculei derivatului amidic al glucozaminei pe suprafața nano-  
31 particulelor magnetice.

33 Fig. 3, comportarea magnetizării în funcție de câmpul magnetic aplicat la temperatura  
camerei pentru nanoparticulele magnetice MNP-Glu. Lipsa histerezisului indică faptul că  
nanoparticulele magnetice funcționalizate au comportament superparamagnetic, iar valoarea  
35 magnetizării de saturație Ms pentru nanoparticulele magnetice MNP-Glu este  $63,7\text{ emu/g}$ ;  
aceste două caracteristici corespund cerințelor pentru aplicații în biomedicină ale nanopar-  
37 ticulelor magnetice funcționalizate cu unități ale derivatului amidic al glucozaminei.

39 În scopul preparării nanoparticulelor magnetice funcționalizate cu unități ale  
derivatului amidic al glucozaminei, se utilizează ca materii prime de plecare: fluid magnetic  
conținând nanoparticule de magnetită stabilizate cu un strat dublu de acid lauric în apă și  
41 glucozamină hidroclorată.

43 Reacția de atașare a glucozaminei hidroclorate pe suprafața nanoparticulelor magne-  
tice se realizează prin activarea grupărilor carboxil aflate pe suprafața acestora, folosind ca  
reactivi etil-(N',N'-dimetilamino)propilcarbodiimidă (EDC) și 1-hidroxibenzotriazol (HOBt).  
45 Datorită faptului că materia primă de plecare este glucozamină hidroclorată, se va folosi în  
reacție și N,N-diisopropiletilamină (DIPEA) pentru a elibera amina.

# RO 128880 B1

Se prezintă, în continuare, un exemplu concret nelimitativ, de realizare a invenției. 1

## **Exemplu**

Într-un balon se dizolvă în apă 5 ml ferofluid magnetic, 40 mmol D-glucozamină hidro- 3  
clorată, 8 mmol etil-(N',N'-dimetilamino)propilcarbodiimidă (EDC), 9 mmol 1-hidroxibenzo- 5  
triazol (HOBt) și 45 mmol N,N-diisopropiletilamină (DIPEA) (schema 1). Amestecul se agită 7  
magnetic timp de 24 h la temperatura camerei. După terminarea reacției, nanoparticulele 9  
magnetice funcționalizate sunt separate magnetic și spălate în repetate rânduri cu apă, iar  
după îndepărtarea produșilor nereacționați prin spălări repetate, nanoparticulele magnetice  
funcționalizate cu unități ale derivatului amidic al glucozaminei sunt redispersate în apă.

# RO 128880 B1

## Revendicări

1

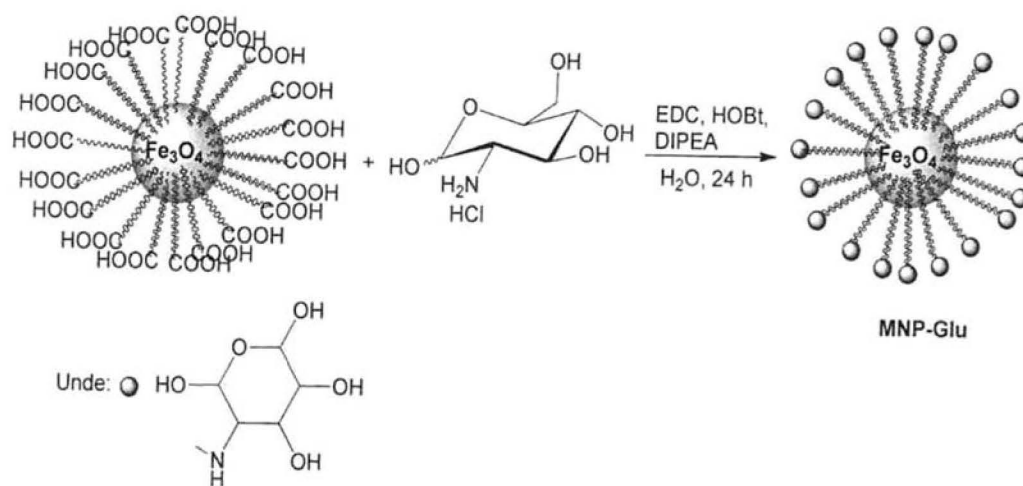
3

1. Nanoparticule magnetice funcționalizate, **caracterizate prin aceea că** au un miez de magnetită pe care este absorbit un strat dublu de acid lauric de care sunt atașate resturi de glucozamină printr-o legătură de tip amidic între grupările -COOH ale acidului lauric și gruparea -NH<sub>2</sub> a glucozaminei.

7

2. Procedeu de obținere a nanoparticulelor magnetice funcționalizate definite în revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că** se aduce în contact un fluid magnetic în apă care conține nanoparticule de magnetită, stabilizate cu un strat dublu de acid lauric, cu clorhidrat de glucozamină, în prezență de etil-(N',N'-dimetilamino)propilcarbodiimidă), 1-hidroxi-benzotriazol și N,N-diisopropiletilamină timp de 24 h, la temperatura camerei.

11



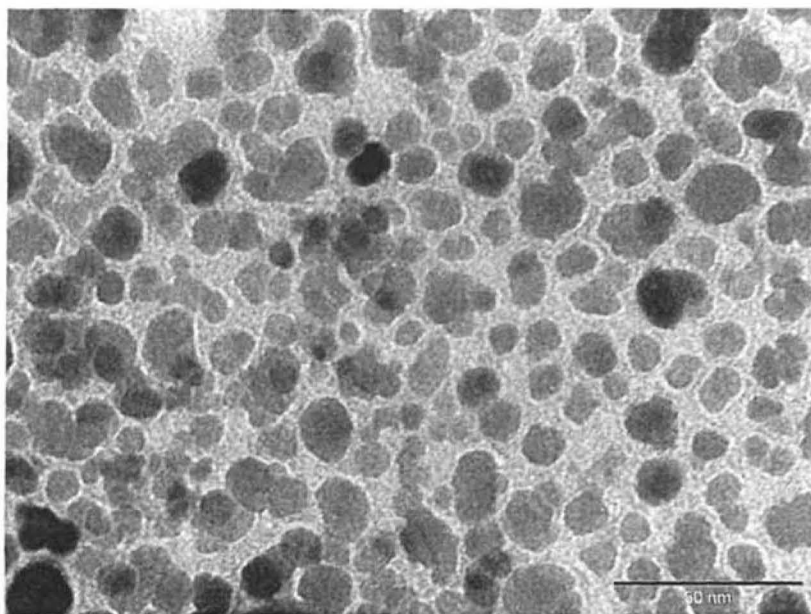
Schema 1

(51) Int.Cl.

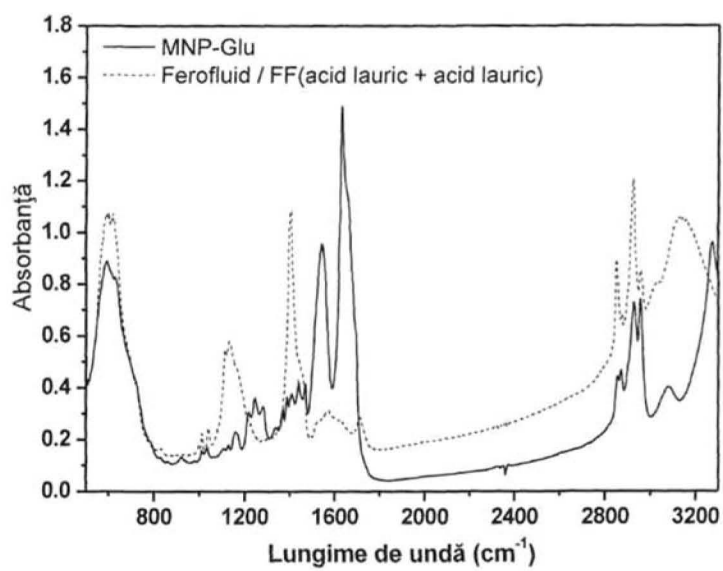
**A61K 49/18** (2006.01),

**B82B 3/00** (2006.01),

**B82Y 5/00** (2011.01)



**Fig. 1**



**Fig. 2**



(51) Int.Cl.

**A61K 49/18** (2006.01),

**B82B 3/00** (2006.01),

**B82Y 5/00** (2011.01)

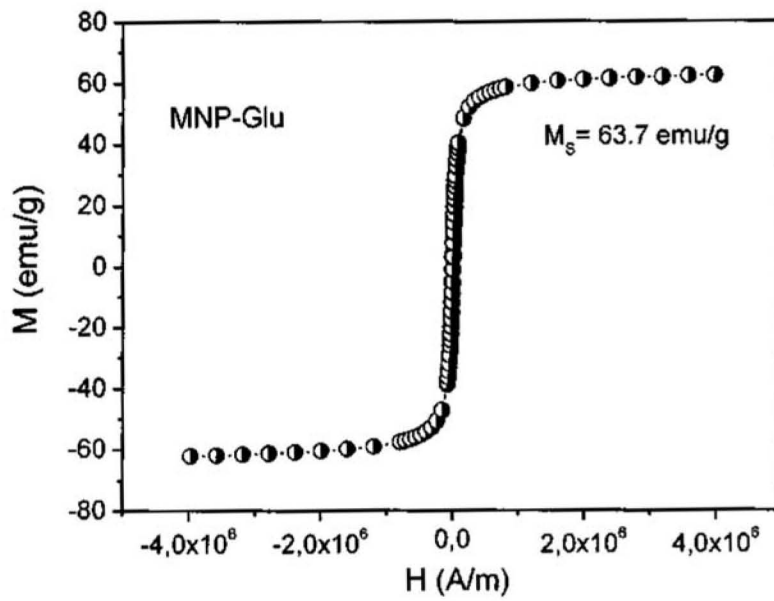


Fig. 3



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM  
Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci  
sub comanda nr. 111/2018