



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2012 00041

(22) Data de depozit: 19.01.2012

(41) Data publicării cererii:
30.09.2013 BOPI nr. 9/2013

(71) Solicitant:
• 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.D19, 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,
DE

(54) BIOFUNCȚIONALIZAREA NANOPARTICULELOR
MAGNETICE PRIN ATAȘAREA COVALENTĂ A GLUCOZEI

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor nanoparticule magnetice, funcționalizate, utilizate pentru diagnosticarea celulelor canceroase. Procedeu conform invenției constă din tratarea unui fluid magnetic, conținând nanoparticule de magnetită stabilizate, cu un strat dublu de acid lauric în apă cu glucozamină clorurată, în prezență de etil-(N, N-dimetilamino) propil-

carbodiimidă și 1-hidroxibenzotriazol, din care rezultă nanoparticule magnetice funcționalizate, cu unități de glucoză stabile, lipsite de citotoxicitate.

Revendicări: 2
Figuri: 3



DESCRIEREA INVENȚIEI

BIOFUNCȚIONALIZAREA NANOPARTICULELOR MAGNETICE PRIN ATAȘAREA COVALENTĂ A GLUCOZEI

Prezenta invenție se referă la prepararea de nanoparticule magnetice core-shell pe bază de magnetită și glucoză, magnetita constituind partea magnetică iar glucoza partea funcțională a acestor nanoparticule. Aceste nanoparticule magnetice funcționalizate cu glucoză pot fi utilizate în separarea magnetică, recunoașterea biomoleculară a celulelor canceroase pentru imagistică nucleară sau pentru tratamentul hipertermic al cancerului.

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

În cazurile descrise în literatură miezul magnetic este constituit din diferite materiale 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 strat de aur, ferită de cobalt sau ferită de mangan. Funcționalizarea nanoparticulelor magnetice cu zaharuri și polizaharide este realizată prin absorbția [1-4] sau prin legarea covalentă a acestora pe suprafața nanoparticulelor.

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

S. S. Banerjee et al. [5] prezintă atașarea maltozei pe suprafața nanoparticulei magnetice prin 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 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. [6]. J. Gallo et al. [7] și I. García et al. [8] descriu atașarea carbohidraților pe suprafața diferitelor nanoparticule magnetice prin schimbarea liganzilor aflați pe suprafața acestor nanoparticule magnetice cu liganzi greșați pe molecula carbohidraților.

acestor nanoparticule in nanomedicina pentru diagnosticarea celulelor canceroase si tratarea tumorilor canceroase prin hipertermie

Explicarea pe scurt a schemelor și figurilor:

Schema 1: Prepararea nanoparticulelor magnetice funcționalizate cu molecule de glucoză.

Figura 1: Microscopia electronică de transmisie pentru nanoparticulele magnetice funcționalizate cu unități de glucoză **MNP-Glu**. Imaginea de microscopie a nanoparticulelor magnetice funcționalizate cu molecule de glucoză **MNP-Glu**, ne arată ca sunt monodisperse și nu formează agregate dimensiunea medie a acestora fiind de 10-13 nm.

Figura 2: Spectroscopia FTIR pentru nanoparticulele magnetice funcționalizate cu unități de glucoză **MNP-Glu** și a ferofluidului folosit ca și materie primă de plecare. În ambele spectre FTIR se poate observa la 570 cm^{-1} banda de adsorbție atribuită legăturii Fe–O, iar la 1627 cm^{-1} este banda de adsorbție specifică atât grupărilor –OH din molecula de glucoză cât și a legăturii amidice formate între gruparea amino a glucozei și gruparea carboxil a acidului lauric. Banda specifică legăturii C–O apare la valoarea de 1545 cm^{-1} . Prezența celor două benzi de la 1627 cm^{-1} respectiv la 1545 cm^{-1} demonstrează atașarea covalentă a moleculei de glucoză pe suprafața nanoparticulelor magnetice.

Figura 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 magnetizării de saturație M_s pentru nanoparticulele magnetice **MNP-Glu** este $63,7\text{ emu/g}$; aceste două caracteristici corespund cerințelor pentru aplicații în biomedicină ale nanoparticulelor magnetice funcționalizate cu molecule de glucoză.

În scopul preparării nanoparticulelor magnetice funcționalizate cu molecule de glucoză se utilizează ca materii prime de plecare: fluid magnetic continand nanoparticule de magnetita stabilizate cu un strat dublu de acid lauric în apă și glucozamină hidroclorată.

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

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

Exemplul: Într-un balon se dizolvă în apă 5 ml ferrofluid magnetic, 40 mmoli D-glucozamină hidroclorată, 8 mmoli etil-(N',N'-dimetilamino)propilcarbodiimidă (EDC), 9 mmoli 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) și 45 mmoli N,N-diisopropiletilamină (DIPEA) (schema 1). Amestecul se agită magnetic timp de 24 de ore la temperatura camerei. După terminarea reacției nanoparticulele magnetice funcționalizate sunt separate magnetic și spălate în repetate rânduri cu apă, după îndepărtarea produșilor nereacționați prin spălări repetate nanoparticulele magnetice funcționalizate cu molecule de glucoză sunt redispersate în apă.

Referinte bibliografice:

1. S. Mohapatra, N. Panda, P. Pramanik, *Materials Science and Engineering C*, Vol. 29 (7), 2254-2260 (2009).
2. F. Chen, Q. Chen, S. Fang, Y. Sun, Z. Chen, G. Xie, Y. Du, *Dalton Transactions*, Vol. 40, 10857 (2011).
3. V. Ivanova, P. Petrova, J. Hristov, *International Review of Chemical Engineering*, Vol. 3(2), 289-299 (2011).
4. J. M. de la Fuente, D. Alcántara, P. Eaton, P. Crespo, T. C. Rojas, A. Fernández, A. Hernando, S. Penadés, *The Journal of Physical Chemistry B*, Vol. 110, 13021-13028 (2006).
5. S. S. Banerjee, D. H. Chen, *Chemistry of Materials*, Vol. 19, 3667-3672, (2007).
6. K. El-Boubbou, C. Gruden, X. Huang, *Journal of the American Chemistry Society*, Vol.129, 13392-13393 (2007).
7. J. Gallo, I. García, D. Padro, B. Arnáiz, S. Penadés, *Journal of Materials Chemistry*, Vol. 20, 10010-10020 (2010).
8. I. García, J. Gallo, N. Genicio, D. Padro, S. Penadés, *Bioconjugate Chemistry*, Vol. 22, 264-273 (2011).
9. D. Bica, RO Patent Nr. 90078, 1985.
10. D. Bica, L. Vékás, M. V. Avdeev, O. Marinică, V. Socoliuc, M. Bălăsoiu, V. M. Garamus, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, Vol. 311, 17-21 (2007).



120

REVEDICĂRI:

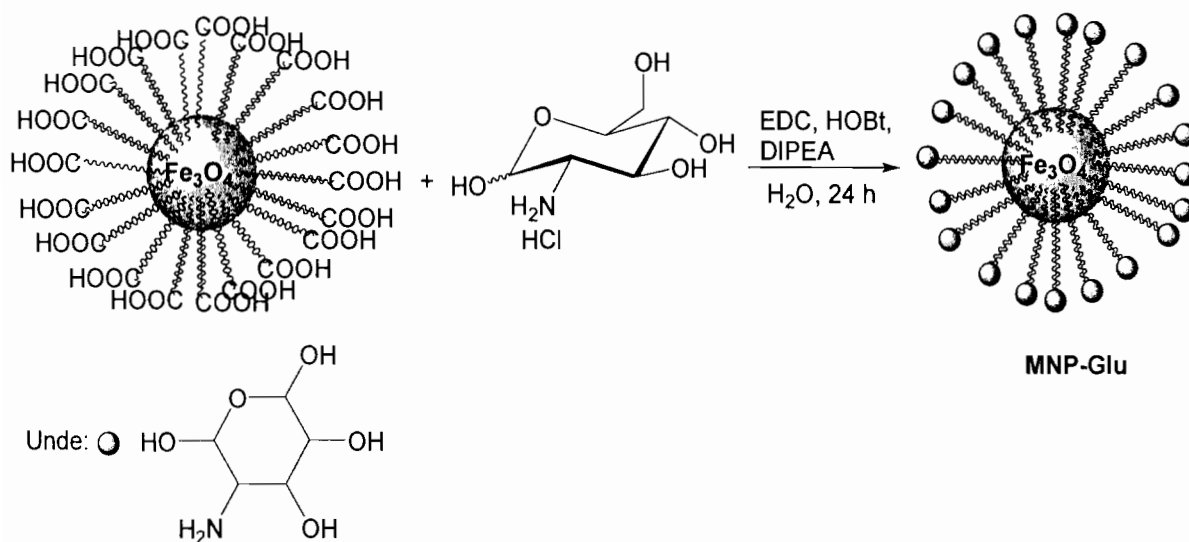
**BIOFUNCȚIONALIZAREA NANOPARTICULELOR MAGNETICE PRIN
ATAȘAREA COVALENTĂ A GLUCOZEI**

1. Nanoparticule magnetice funcționalizate caracterizate prin aceea că au absorbiți pe suprafață acizi grași ce conțin unități de glucoză atașate covalent.
2. Procedeu de obținere a nanoparticulelor magnetice funcționalizate cu unități de glucoză definite în revendicarea 1, caracterizat prin aceea că, au fost preparate prin atașarea covalentă a unităților de glucoză la acizii grași absorbiți pe suprafața nanoparticulelor magnetice.



DESENE

BIOFUNȚIONALIZAREA NANOPARTICULELOR MAGNETICE PRIN
ATAȘAREA COVALENTĂ A GLUCOZEI



Schema 1



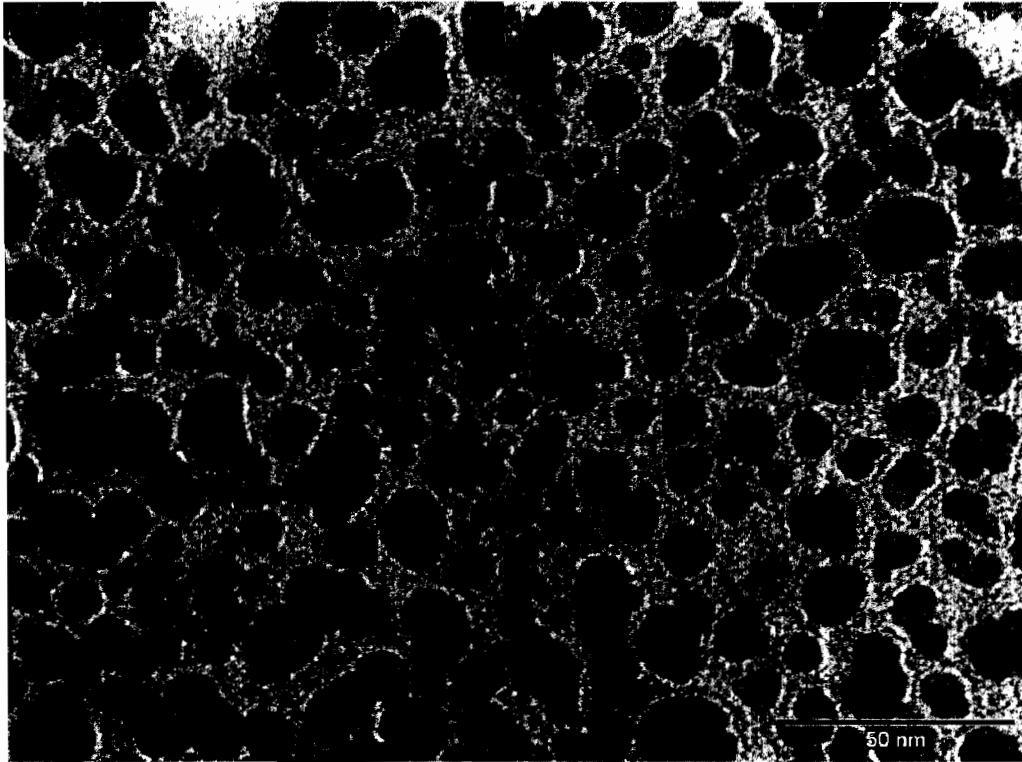


Figura 1

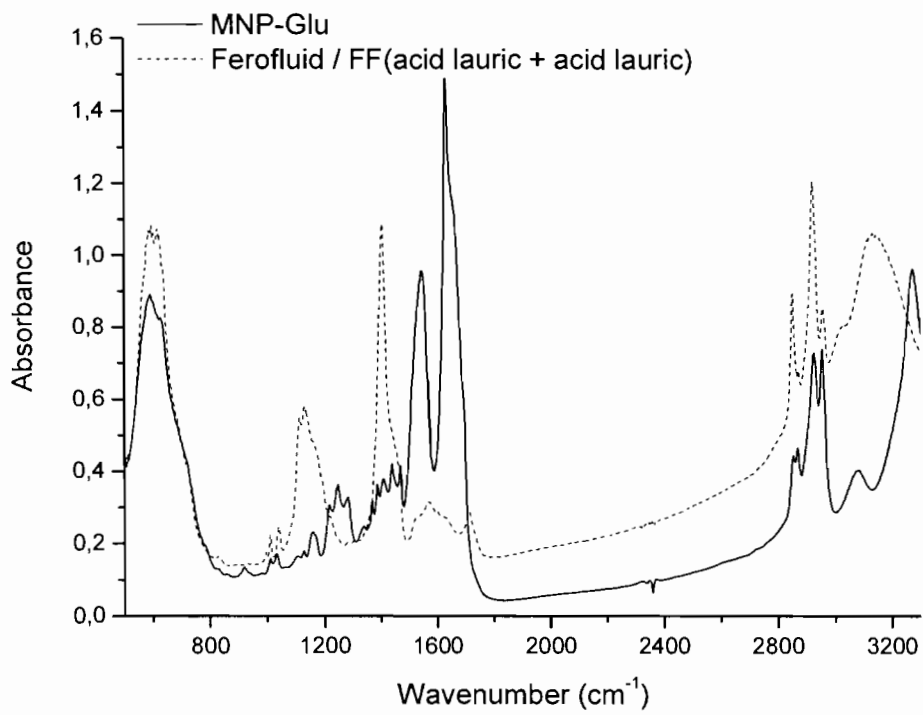


Figura 2



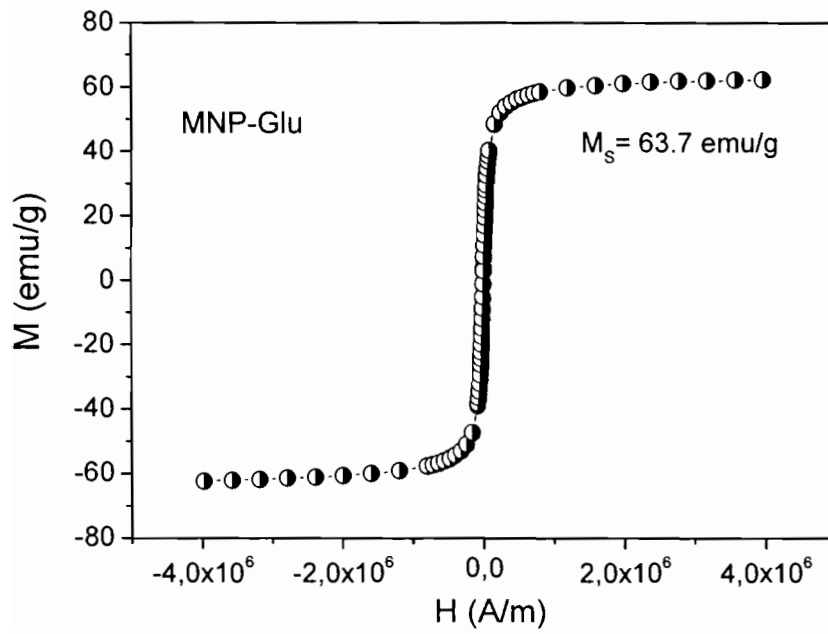


Figura 3



A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized, cursive script.