



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2012 00779**

(22) Data de depozit: **01.11.2012**

(41) Data publicării cererii:
30.10.2013 BOPI nr. **10/2013**

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

(72) Inventatori:
• CHIRIAC AURICA,
STR.ALEXANDRU VLAHUȚĂ NR.7B, AP.16,
IAȘI, IS, RO;

• NIȚĂ LOREDANA ELENA, BD.COPOU
NR.42, BL.A 3, SC.B, PARTER, AP.3, IAȘI,
IS, RO;
• NEAMȚU IORDANA,
STR.THEODOR PALLADY NR.8, SC.B,
ET.3, AP.9, IAȘI, IS, RO;
• NISTOR MANUELA TATIANA,
STR.CUZA VODĂ, BL.41, SC.B, ET.2, AP.6,
TÂRGU FRUMOS, IS, RO

(54) PROCEDEU DE SINTEZĂ A UNEI STRUCTURI MULTIMEMBRANARE PE BAZĂ DE HIDROGEL POLIMERIC

(57) Rezumat:

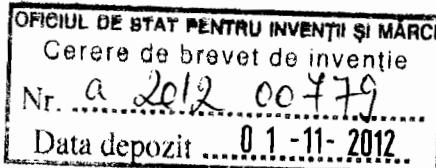
Invenția se referă la un procedeu de sinteză al unui hidrogel polimeric, în vederea obținerii unor sisteme multimembranare, utilizabile ca matrice pentru înglobarea de substanțe bioactive cu eliberare controlată a acestora. Procedeul conform invenției conține în reticularea unui copolimer pe bază de monomer metacrilic

și un spiro-orthoester, utilizând ca agent de reticulare un monomer amidic, în prezența unui inițiator radicalic, persulfat de sodiu, și a unui accelerător de reacție (N, N, N', N'-tetrametiletilendiamina) în dimetilacetamidă.

Revendicări: 1

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conjuinate în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).





PROCEDEU DE SINTEZA AL UNUI HIDROGEL POLIMERIC CU POSIBILITATE DE ORGANIZARE MULTIMEMBRANARA

Inventia se refera la un procedeu de obtinere a unui hidrogel prin reticularea unui copolimer pe baza de monomer metacrilic si un spiro-ortoester, utilizand ca agent de reticulare un monomer amidic, in vederea obtinerii unor sisteme multimembranare utilizabile ca matrice pentru inglobarea de substante bioactive cu eliberare controlata a acestora.

Hidrogelurile sunt materiale polimerice cu structura tridimensională capabile de a se umfla în apa fără a se dizolva în aceasta, cu proprietăți intermediare lichidelor și solidelor. În general, cantitatea de solvent incorporat reprezintă mai mult de 20% din greutatea totală a hidrogelului. În cazul în care continutul de solvent depășește 95 % din greutatea totală, gelul devine o structură superabsorbantă.

Caracteristicile remarcabile ale hidrogelurilor pe baza de polimeri sintetici și naturali, cum sunt continutul mare de apă și proprietățile mecanice, bio-chimice și fizice asemănătoare cu cele ale tesuturilor vii, susțin aplicarea lor cu succes în medicina și farmacie pentru eliberarea controlată a medicamentelor și regenerarea tisulară, sau în domeniul biosenzorilor.

Avantajele hidrogelurilor pe baza de polimeri sintetici derivă din posibilitatea de a controla proprietățile din sinteza și din alegerea mecanismului de reticulare. Astfel se realizează un control eficient al gradului de umflare, a stabilității și biodegradabilității, cât și a proprietăților mecanice. Uzual, hidrogelurile sunt utilizate ca materiale injectabile sau preformate ca matrice pentru medicamente sau pentru incapsularea de bacterii și celule. Oricum, eliberarea de medicamente diferite într-o ordine secvențială sau formarea de straturi celulare ordonate care să imite structura tesuturilor este greu de obținut prin utilizarea unui hidrogel format dintr-un singur strat. De aceea în ultimul timp o atenție deosebită se acordă studiului obtinerii de sisteme multistrat, formate din mai multe membrane de hidrogel cu diferite proprietăți fizice și biochimice care permit încarcarea fiecarui strat cu diferite medicamente sau celule.

Hidrogelurile sunt descrise în literatura de patente de mulți ani, de exemplu US Pat 2.976.576 descrie sinteza de hidrogeluri pe baza de metacrilat de 2-hidroxietil și N-vinil pirolidona, reticulate, cu capacitate de umflare în apa. În general, aceste materiale sunt folosite ca purtatori inerti pentru substantive active cum ar fi medicamentele (US Pat 3.577.826, 3.577.512, 3.551.556, 3.520.949, 4.177.056, 4.192.827), auxiliarii pentru agricultura ca în US Pat 3.576.260 sau pentru arome ca în US Pat 3.400.890, 3.567.118 și 3.697.643.

In domeniul farmaceutic principalul interes consta in eliberarea controlata si lenta a medicamentelor din astfel de structuri. Materialele tip hidrogel cu medicament inclus se prezinta sub forma de bandaje, implanturi subcutanate, dispozitive bucale sau intrauterine, insertii oculare. Ele sunt realizate prin tehnici complicate care de obicei includ etalarea solutiei de monomeri intr-un mulaj si polimerizarea cu reticularea in prezenta unei surse de energie (fotochimica, plasma, termica) si a unui initiator generator radicalic.

Hidrogelurile pe baza de polizaharide au potential pentru numeroase aplicatii, de la procesarea produselor cosmetice sau alimentare pana la eliberarea controlata a medicamentelor si ingineria tisulara, de exemplu ca matrice pentru regenerarea tesuturilor naturale.

US Pat 4.423.099 descrie o compositie de amestec stratificat de polimeri interpenetrati insolubili in apa, ce contine un substrat polimeric permeabil si cu capacitate de umflare gradata in apa la suprafata, acoperit cu un al doilea polimer mai putin permeabil, pentru a forma o membrana care sa prezinte difuzie cu viteza controlabila de diferite substante active. Astfel de compositii sunt folosite ca polimeri cu permeabilitati reduse pentru apa si solventi organici, si in consecinta cu eliberare controlata in aer, medii apoase sau in procese de separare membranara, a ingredientilor activi cum ar fi arome, parfumuri, agenti bioactivi.

Hidrogelurile multimembranare "onion-like" sunt materiale promitatoare aparute recent, fara a fi inca descrise prea mult in literatura de patente, cu aplicatii in domeniul biomedical. In lucrările publicate din domeniu, S. Ladet si colaboratorii, cat si H. Dai si colaboratorii mentioneaza sinteza de hidrogeluri multimembranare "onion-like" pe baza de polielectroliti naturali cum ar fi alginati, acid hialuronic, chitosan, pornind de la un miez matrice sub forma de gel si stratificare printr-o metoda de autoasamblare dinamica. Prin monitorizarea factorilor care intervin in formarea sistemului complex se pot prepara sisteme multistrat de diferite forme cu spatii interne de separare bine definite. Din astfel de structuri macromoleculare, se poate realiza o eliberare controlata de tip pulsatoriu pentru diferite substante active inglobate in diferitele straturi. Prin aplicarea unui proces de gelificare in mai multe trepte discontinuu, in conditii fizico-chimice controlabile se pot genera hidrogeluri complexe cu arhitecturi multimembranare "onion-like". Procedeul descris simplifica procesarea gelurilor cu forma complexa si organizare multimembranara. El permite formarea de spatii intermembranare libere, corespunzatoare introducerii de compusi bioactivi. Aceste materiale destinate in special aplicatiilor biomedicale, deschid perspective interesante de proiectare de structuri multimembranare tubulare sau sferice. Noile structuri sunt pe baza de chitosan sau alginati, polimeri naturali biocompatibili, iar organizarea lor stratificata creaza spatii intermembranare

vacante potrivite pentru introducere de substante bioactive. Gelul initial poate avea orice forma si in principiu se pot crea oricate straturi se vrea.

De asemenea un gel multimembranar permite crearea de straturi cu diferite proprietati biochimice si fizice, distribuite conform aplicabilitatii si incarcate cu diferite substante bioactive. Astfel de materiale permit eliberarea secentiala a diferitelor medicamente incarcate in diferitele straturi ale sistemului multimembranar. Intermembranele de spatiere pot fi de dimensiune micrometrica. De asemenea, proprietatile chimice se pot schimba de la strat la strat.

In EP1855792 se prezinta un procedeu simplu, rapid, putin costisitor si usor de realizat la scara mare, de sinteza de capsule multimembranare pe baza de polizaharide, in special chitosan, pentru encapsulare de principii active sau regenerare de tesuturi. Capsulele multimembranare sunt formate dintr-o succesiune de membrane nesolidare, fiecare constituita dintr-un gel fizic de polizaharida ionizabila, iar procedeul de sinteza consta din: formarea unui hidrogel fizic din polizaharida ionizabila cationica sau anionica intr-un mulaj conform formei dorite pentru capsula, imersarea hidrogelului intr-o baie alcalina (pentru polizaharida cationica) sau acida (pentru polizaharida anionica), relaxare pentru obtinerea primei membrane si ulterior repetarea etapelor functie de numarul de membrane successive depuse pe exteriorul capsulei.

Kizilel si colaboratorii au propus ideea formarii de hidrogeluri multistrat fara interspatii folosind reticularea fotochimica. Aceasta metoda implica folosirea de suporturi solide cum sunt suporturile de sticla sau placutele siliconice.

De asemenea R. Grayson si colaboratorii arata posibilitatea eliberarii controlate a medicamentului folosind un microchip special cu polimeri degradabili ca membrane. Johnson si colaboratorii au prezentat posibilitatea de obtinere de hidrogeluri 3D multistrat cu initiere redox mediata prin intermediul de enzime, rezultand multistraturi cu grosime cuprinsa intre 150 - 650 μm .

Polimerii termosensibili pot fi utilizati intr-un numar variat de aplicatii biomedicale: eliberare controlata a principiilor active, ingineria tisulara, tehnici moleculare biofuncionale, etc. Aceste structuri polimere manifesta la o anumita temperatura un fenomen de separare din starea de solutie sau solidificare. Acest prag este numit temperatura critica inferioara a solutiei LCST. Cei mai reprezentativi polimeri ce prezinta LCST apartin familiei poli(acrilamidelor N-substituite). Dintre acestia cel mai investigat este poli(N-isopropil acrilamida), deoarece prezinta un LCST aproape de temperatura corpului uman. Alt polimer utilizat in aplicatii biomedicale este poli(N, N'- dietil acrilamida) ce prezinta un LCST in domeniul de

temperatura 26-35 °C. Polimerii ce prezinta LCST au fost testati ca matricei pentru eliberarea controlata a medicamentelor, precum si ca sisteme cu regim pulsatil de eliberare a medicamentelor datorat schimbarilor de temperatura. In US 5.057.560 se descriu metodele de obtinere a unui copolimer termotrop pe baza de N,N-dimetilacrilamida si metoxi-etil (met)acrilat. Umflarea in apa a polimerilor reticulati este puternic dependenta de temperatura si gelul prezinta o tranzitie clara de la structura transparenta la structura opaca. Noii polimeri sunt utili in obtinere de sisteme de eliberare a medicamentelor, in procesele de adsorptie si extractie si ca si termometrii calitativi, senzori termici. In brevetul US Patent Application 343979 se descrie obtinerea de copolimeri liniari sau sub forma de hidrogeluri pe baza de N, N – dimetilacrilamida (DMA) cu alchil- sau alcoxi-alchil acrilati cu o tranzitie puternica de la clar la opac, dependenta de temperatura si LCST in apa scazut. Astfel copolimerii pe baza de DMA (care este foarte hidrofil, dar a carui homopolimer nu formeaza el singur solutii apoase termoreversibile) in combinatii cu metoxietil acrilat sau metacrilat formeaza copolimeri care in solutii apoase sau geluri prezinta LCST si punct de turbiditate dependent de temperatura.

Poli(orthoesterii) sunt o alta clasa de polimeri biocompatibili si bioerodabili, hidrofobi, cu catena macromoleculara cu legaturi chimice labile hidrolitic, in care degradarea polimerului poate fi limitata la suprafata, protejand astfel substanta activa in matrice. In catena polimerului exista legaturi esterice in pozitie orto-, relativ stabile la pH neutru, dar care hidrolizeaza progresiv mai rapid cu descresterea pH-ului mediului inconjurator. Eliberarea unui principiu activ dintr-o astfel de matrice polimerica poate avea loc atat prin erodare cat si prin difuzie. Hidrofobia ridicata si impermeabilitatea la apa a matricii reduc penetrarea apei in masa, permitand degradarea hidrolitica doar la suprafata. Reglarea vitezei de degradare se poate controla prin folosire de dioli cu diferite lungimi ale lantului macromolecular, cat si prin incorporarea de excipienti acizi sau bazici. Poli(orthoesterii) sunt prezenti in literatura de specialitate pentru aplicatii biomedicale (dispozitive de eliberare controlata a substanelor bioactive, suturi, acoperiri bioerodabile). Acestia incorporeaza diferite tipuri de dioli in catena principala, care confera in mod predictibil bioerodabilitate. De asemenea, poli(orthoesterii) sunt utilizati ca si coparticipanti in procese de polimerizare pentru diminuarea impachetarilor lanturilor polimerice si generarea de retele relaxate pentru compusii macromoleculari. Interesul in sinteza de polimeri sintetici biodegradabili pentru eliberarea controlata a agentilor terapeutici este evidentiat de numeroase brevete si care includ si poli(orthoesteri) biodegradabili sau bioerodabili, hidrofobi, si care asigura matricea in compositii bioactive pentru administrarea cu viteza controlata a medicamentului. US Pat 7070590 (2006) prezinta compositii de eliberare controlata de medicamente si care includ un microcip, formate dintr-

un substrat cu cel putin doua rezervoare si un sistem de eliberare bioerodabil care poate fi un poli(orthoester) prezent in rezervoare. Moleculele bioactive sunt eliberate din rezervoare in mod controlat, prin difuzie sau dezintegrarea acoperirii rezervorului. Exista referinte bibliografice in literatura de patente care se refera si la aplicarea poli(orthoesterilor) in compozitii destinate matricilor polimerice si care intra in structura senzorilor. US Pat Application 0131909 se refera la senzori selectivi ionici care permit masurarea selectiva a ionilor de Na^+ , K^+ , Cl^- . Senzorul cuprinde elemente care sunt dispuse intr-o matrice polimerica si care poate fi pe baza de poli(orthoesteri). US Pat Application 0155183 descrie o structura senzitiva pentru detectia de dioli si carbohidrati, de exemplu glucoza; matricea polimerica include poli(orthoesteri), o componenta chelatoare care leaga analitul si o componenta care emite sau absoarbe fotonii de o anumita lungime de unda, in prezenta sau absenta analitului.

Cererea de brevet OSIM A/00371/2012 descrie obtinerea unei structuri polimere sensibile la temperatura prin copolimerizarea N, N' - dimetilacrilamidei cu un comonomer de tip spiroacetalic, cum ar fi 3,9-divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5] undecan, utilizand peroxidul de benzoil ca initiator in dimetilacetamida ca mediu de reactie, pentru un continut teoretic in substanta solida de maxim 40%. Raportul gravimetric intre N, N' - dimetilacrilamida si 3,9-divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5] undecan este cuprins intre 2/1 ÷ 4/1.

Problema pe care o rezolva inventie este realizarea unei reactii de sinteza a unui hidrogel sensibil la temperatura si pH, cu posibilitatea de organizare multimembranara, printr-o reactie de reticulare a unui copolimer pe baza de monomer metacrilic si un spiro-orthoester, utilizand ca agent de reticulare un monomer amidic – si care extinde gama de hidrogeluri polimerice.

Procedeul de sinteza a hidrogelului polimeric sensibil la temperatura si pH conform inventiei, se realizeaza prin reticularea copolimerului poli(N, N' - dimetilacrilamida - co - 3,9 - divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5] undecan)-ului (8g) cu N, N' - metilen - bis - acrilamida (0.125g) utilizand persulfatul de amoniu (0.25 g) ca initiator si N,N,N',N' - tetrametiletillenediamina (0.025g) ca accelerator de reactie. Mediul de reactie l-a constituit amestecul dimetilacetamida/apa (40g dimetilacetamida la 50 g apa pentru 100 g hidrogel). S-a procedat initial la crearea miezului structurii multimembranare, reactie ce a durat 30 minute. Stratul s-a obtinut de asemenea, prin reticularea poli(N, N' - dimetilacrilamida -co-3,9-divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5]undecan)-ului (8g) cu N, N' - metilen - bis - acrilamida (0.125g) utilizand persulfatul de amoniu ca initiator (0.25g) si N,N,N',N'-

tetrameiiletilenediamina (0.025g) ca accelerator de reactie. Procedeul se reia si se repeta in functie de numarul de straturi ce se doresc a fi obtinute.

Procedeul conform inventiei prezinta urmatoarele avantaje :

- Este un procedeu ecologic, fara emanatii toxice.
- Este simplu de realizat si aplicat pe instalatii existente, sigur in exploatare.
- Necesa un numar redus de faze tehnologice.
- Prin selectarea spiro-ortoesterului cu o anumita configuratie a diolului se pot obtine structuri aplicabile pentru senzori si biomateriale, cu temperatura de tranzitie sticloasa proiectata si cu sensibilitate la pH.
- Prin utilizarea N, N – dimetilacrilamidei se pot obtine structuri aplicabile pentru senzori si biomateriale, cu LCST proiectat si cu sensibilitate la temperatura.
- Prezenta segmentelor hidrofile si hidrofobe in structura hidrogelului asigura conditii mai bune pentru: retentia compusului bioactiv; activitatea si cinetica de eliberare a principiilor active inglobate, cat si pentru prevenirea agregarii lor.

Se da in continuare un exemplu de realizare a inventiei.

EXEMPLU

Poli(N, N' – dimetilacrilamida – co – 3,9 – divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5] undecan)-ului (8g copolimer raportat la 100 g hidrogel – produs final) se solva in 15g dimetilacetamida (DMAc). Cand copolimerul este solvit se adauga (sub agitare magnetica 240 rpm) N, N' – metilen – bis – acrilamida (0.125 g raportata la 100 g produs final) solvata in 25 g DMAc. Dupa agitarea timp de 3 minute, in vederea omogenizarii amestecului de reactie, se adauga initiatorul: persulfatul de amoniu (0.25 g solvit in 25 g apa) si acceleratorul (0.025 g solvit in 25g apa). Se mai agita 60 secunde pentru omogenizare apoi produsul final se pune in eprubete in vederea obtinerii unui hidrogel monostrat sau in cutii Petri in vederea obtinerii hidrogelului multistrat. In acest caz miezul hidrogelului multistrat se lasa 30 minute in vederea definitivarii reactiei de reticulare apoi se trece la crearea primului strat: poli(N, N' – dimetilacrilamida – co – 3,9 – divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5] undecan)-ului (8g copolimer raportat la 100 g hidrogel – produs final) se solva in 15g DMAc; in copolimerul solvit se adauga (sub agitare magnetica 240 rpm) N, N' – metilen – bis – acrilamida (0.125 g raportata la 100 g produs final) solvata in 25 g DMAc; dupa agitarea timp de 3 minute, in vederea omogenizarii reactiei

se adauga initiatorul: persulfatul de amoniu (0.25 g solvit in 25 g apa) si acceleratorul (0.025 g solvit in 25g apa).

Amestecul astfel preparat se depune cu o seringa in jurul miezului creat in prima faza, in cantitate variabila in functie de grosimea stratului dorita. Se lasa 30 minute pentru maturarea stratului si eventual se repeta operatia in functie de numarul de straturi ce se doresc a fi obtinute.

In final produsul se lasa 24 ore pentru maturarea hidrogelului apoi se scoate din vasul de testare. Urmeaza evaporarea in vid de 40mbar si la temperatura de -50°C prin lyophilizare, timp de 24 ore. Hidrogelul se pastreaza in exicator de vid in vederea analizelor si a prelucrarii ulterioare (incapsulare de substante bioactive, structuri responsive pentru senzori, ferita).

In legatura cu cerintele impuse de aplicabilitatea ca matrice pentru inglobarea de substante biologic active, hidrogelul polimeric sintetizat este testat din punct de vedere al capacitatii de adsorbție / incapsulare de substante active prin evaluarea gradului de umflare functie de temperatura si pH si prin evaluarea cantitatii de medicament model (norfloxacin) incapsulata/ eliberata. In tabelul 1 sunt prezentate datele privind gradul de umflare la echilibru pentru diferite valori de temperatura si pH. In tabelul 2 sunt prezentate datele privind gradul de incarcare / eliberare de medicament din hidrogelul polimeric obtinut.

Tabelul 1. Gradul de umflare la echilibru functie de temperatura si pH a hidrogelului sintetizat pe baza de poli(N, N – dimetilacrilamida –co-3,9-divinil-2,4,8,10-tetraoxaspiro[5.5] undecan) reticulat cu N, N' – metilen – bis – acrilamida

	Temperatura		pH						
	25 °C	37 °C	pH=5	pH=6	pH=7	pH=8	pH=9	pH=10	
Grad de umflare % ^{a)}	2400	3100	1500	1550	1620	1350	1510	1630	

a) Gradul de umflare la echilibru s-a determinat gravimetric prin imersarea probei in solutie apoasa tampon fosfat disodic/acid citric 0,2 M, pentru 48 ore.

Gradul de umflare la echilibru ca masura a capacitatii de inglobare de substante active manifesta o crestere cu aproximativ 30 % cu cresterea temperaturii de la 25 la 37 °C, indicand caracterul sensibil la temperatura al structurii polimerice sintetizate. Influenta pH-ului asupra proprietatilor fizico-chimice a hidrogelului sintetizat este esentiala pentru aplicatiile biomedicale ulterioare. In acest context s-a evaluat gradul de umflare la echilibru in domeniul de pH = 5 - 10. Se observa ca o crestere a gradului de umflare in domeniul de pH = 5 - 7, cu o descrestere in domeniul de pH = 7 - 8 si revenire pe domeniul pH = 9 – 10. Variatia gradului

de umflare cu modificarea pH-ului permite obtinerea unui dispozitiv biomedical eliberare pulsatila a medicamentelor.

Tabelul 2.Gradul de incarcare cu norfloxacin (NRF)

si procentul de medicament eliberat din hidrogel

Grad de incarcare^{b)} cu NRF, utilizand amestec apa/etanol ca mediu de incarcare		% NRF eliberat^{c)}	Grad de incarcare^{b)} cu NRF, utilizand DMAc ca mediu de incarcare		% NRF eliberat^{c)}
mg NRF incarcat	% NRF incarcat		mg NRF incarcat	% NRF incarcat	
20.45±1.75	82±9.6%	90%	11.32±1.95	60±10.4%	80%

b) gradul de incarcare a fost evaluat utilizand tehnica de imagistica chimica NIR-CI si modelul de predictie PLS-DA.

c) procentul de medicament eliberat a fost determinat din solutie utilizand tehnica UV-Vis.

Se observa din tabelul 2 ca structura hidrogelului permite incarcarea cu medicament, diferit in functie de mediul incarcare utilizat: amestec apa/etanol sau dimetilacetamida. De asemenea odata incarcat, medicamentul nu este blocat in ochiurile hidrogelului putand fi eliberat in cantitate mare (90% atunci cand incarcarea cu norfloxacin se realizeaza in amestec etanol/apa, respectiv 80% atunci cand incarcarea cu medicament se face in DMAc).

K
16**REVENDICARE**

1. Procedeu de sinteza a unui hidrogel polimeric sensibil la temperatura si pH, *caracterizat prin aceea ca* se realizeaza prin reactia de reticularea copolimerului poli(N, N' – dimetilacrilamida – co – 3,9 – divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5] undecan)-ului (8g) cu N, N' – metilen – bis – acrilamida (0.125g) utilizand persulfat de amoniu (0.25 g) ca initiator si N,N,N',N' -tetrametiletilenediamina (0.025g) ca acceleratoare de reactie si amestec dimetilacetamida/apa (40g dimetilacetamida la 50 g apa pentru 100 g hidrogel) ca mediu de reactie, pentru un continut teoretic in substanta solida de maxim 10%, in regim dinamic cu agitare magnetica de 240 rpm, la temperatura de 25°C timp de 5 minute, repaus pentru maturare 24 ore si purificarea prin liofilizare la final a structurii polimerice.