



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2013 00238

(22) Data de depozit: 20.03.2013

(41) Data publicării cererii:  
30.10.2014 BOPI nr. 10/2014

(71) Solicitant:  
• UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN  
BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI  
NR. 313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:  
• FICAI DENISA, STR. RAHOVEI, NR. 30-32,  
SC. 2, ET. 1, AP. 11, BRAGADIRU, IF, RO;  
• ANDRONESCU ECATERINA,  
CALEA PLEVNEI NR. 141B, BL. 4, ET. 1,  
AP. 1, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;

• SONMEZ MARIA, STR. MIHAI VITEAZU  
NR. 15, SEINI, MM, RO;  
• FICAI ANTON, STR. RAHOVEI, NR. 30-32,  
SC. 2, ET. 1, AP. 11, BRAGADIRU, IF, RO;  
• OPREA OVIDIU, STR. GH. POLIZU  
NR. 1-7, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;  
• VASILE BOGDAN ȘTEFAN,  
STR. REZERVELOR NR. 89, BL. 2, AP. 31,  
ET. 4 SAT ROȘU, COMUNA CHIAJNA, IF,  
RO

(54) **SISTEME MULTIFUNCȚIONALE DE TIP  
MAGNETITĂ/TIOACIZI/Ag SAU Au, UTILIZATE PENTRU  
DIAGNOZĂ ȘI TRATAMENTUL DIRIJAT AL CANCERULUI**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor sisteme magnetice funcționalizate, de tip magnetită/tioacizi/Ag sau Au, utilizat pentru diagnoza și tratamentul dirijat al cancerului. Procedeu conform invenției constă în precipitarea nanoparticulelor de magnetită într-o soluție de tioacizi în mediu de NaOH, peste suspensia

de magnetită se adaugă glucoză și azotat de argint, din care rezultă o structură triplu stratificată de tip core-shell.

Revendicări: 1  
Figuri: 2





### Descrierea invenției

Prezenta cerere de brevet prezintă, în premieră, sisteme complexe de tip  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ /tioacizi/nanoAg sau Au precum și tehnologia de obținere a acestora. Aceste sisteme sunt eficiente **pentru diagnoza și tratamentul loco-regional, țintit al cancerului** prin hipertermia produsă de aplicarea unui câmp electromagnetic extern, prin acțiunea nanoparticulelor de Au sau Ag precum și prin fototerapia indusă de excitarea nanoparticulelor de Au sau Ag.

Sistemele multifuncționale propuse utilizează metode neconvenționale de tratare a cancerului prin utilizarea atât a magnetitei cât și a ionilor de Au/ Ag care induc apoptoza prin diverse metode.

Aceste sistemele multifuncționale conțin particule magnetice (în special magnetită) cu rol anti-tumoral indus prin hipertermie, o componentă organică (tioacizi) cu rol de agent de legare - linker și ioni de Ag sau Au cu rol anti-tumoral și antiseptic indus de prezența acestor nanoparticule sau de excitarea acestor nanoparticule prin fototerapie.

Combinarea nanoparticulelor de magnetita cu cele de Ag sau Au este deosebit de utilă deoarece astfel este permisă atât tratarea cancerului prin diverse mecanisme dar asigură și un mediu septic împiedicând astfel dezvoltarea infecțiilor la nivelul organului sau țesutului tratat.

Datorită proprietăților remarcabile (**dimensiunile controlabile și comparabile cu cele ale celulelor (10-100nm), ale virusurilor (20-450), ale proteinelor (5-50 nm) sau ale genelor (2nm lățime și 10-100nm lungime), biocompatibilitatea; lipsa de toxicitate; posibilitatea de administrare i.m. sau i.v.; nivelul ridicat de acumulare în țesutul țintă sau organ prin control magnetic**)[1] magnetita este folosită cu succes în numeroase aplicații medicale precum: agent de contrast, sisteme de transport și eliberare controlată, imagistică RMN, diagnosticare, recunoaștere biomoleculară, separare magnetică, hipertermie, etc[2].

Folosirea cu succes a nanoparticulelor magnetice în diverse aplicații depinde de o serie de factori:

- mărimea particulelor trebuie să se situeze în intervalul 6-20nm[1];
- să prezinte distribuții dimensionale înguste care să asigure proprietăți fizico-chimice uniforme;

- să prezinte superparamagnetism (proprietate legată de dimensiunea nanoparticulelor); după îndepărtarea câmpului magnetic, aceste particule să nu prezinte magnetizare remanentă[1];
- suprafața nanoparticulelor magnetice să poată fi funcționalizată pentru diferite aplicații biomedicale[1] (transportul și eliberarea controlată a medicamentelor, diagnoza RMN, hipertermie, bio-separare, etc) și industriale (epurarea apelor reziduale și menajere, cataliza etc).

Comportamentul biologic al nanoparticulelor este parțial dependent de mărimea acestora. Diferențe semnificative de absorbție celulară, funcție și de toxicitate pot apărea pentru un același material cu diferite dimensiuni[3,4]. Astfel un control riguros al dimensiunii particulelor face posibilă omorârea doar a celulelor canceroase prin procesul de hipertermie, fără a afecta celulele sănătoase[4, 5].

Funcționalizarea suprafeței nanoparticulelor de magnetită este controlată prin metoda de sinteză folosită [1]. Astfel este foarte important ca metoda de sinteză să asigure formarea unei populații monodisperse de nanoparticule magnetice de anumite dimensiuni, să fie reproductibilă și să nu implice procese de sinteză complicate de purificare.

Odată obținute aceste nanoparticule de magnetită este necesară stabilizarea, in-situ prin absorbția unor molecule pe suprafața acestora (amine, aminoacizi, acizi grași, acid citric). Procesul de stabilizare este foarte important în utilizarea nanoparticulelor magnetice în aplicațiile biomedicale deoarece expunerea acestora în timp duce la oxidarea oxidului de Fe(II) din magnetită la Fe(III) în maghemită și pierderea proprietăților magnetice și totodată oferă posibilitatea introducerii pe suprafața magnetitei a unor grupări funcționale ( $\text{NH}_2$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{SH}\dots$ ), sau a unor biomolecule[6].

De asemenea o proprietate foarte importantă a nanoparticulelor magnetice utilizate în domeniul biomedical și în special în hipertermie o reprezintă **temperatura Curie** [7]. Pentru a fi folosite în aplicații biomedicale, în special în tratarea cancerului prin hipertermie nanoparticulele trebuie să prezinte magnetizare mare.

Nanoparticulele cu –cu temperatura Curie scăzută- - definită ca temperatura la care materialul pierde momentul său magnetic – se încălzesc până când ating temperatura Curie după care rămân inactive cu excepția cazului în care temperatura lor scade sub

temperatura Curie. Nanoparticulele cu temperaturi Curie apropiate de intervalul terapeutic pot menține eficient temperaturi între 42 și 45 °C caracteristice procesului de hipertermie. Aceste nanoparticule cu putere de auto-reglarea temperaturii asigură ajungerea la temperatura Curie a țesuturile bolnave ajung necesar în timp ce prevenirea încălzirii excesive și deteriorarea tesuturilor inconjuratoare sanatoase.

Hipertermia este un procedeu terapeutic folosit pentru tratarea cancerului prin ridicarea temperaturii în regiunea afectată de boală.

Potrivit Institutului National de Cancer, tratamentul cancerului prin procesul de hipertermie are la baza distrugerea celulelor canceroase prin ridicare temperaturi lor la o temperatură cuprinsa in intervalul terapeutic de 42-45° C. Acesta abordare duce la distrugerea tumorilor canceroase și totodată face celule canceroase rezistente mai vulnerabile la alte tratamente. Astfel in prezent, medicii oncologi folosesc adesea tratamentul cancerului prin hipertermie in asociere cu radioterapie și chimioterapie.

Fiecare componenta din sistemul multifuncțional are un rol bine stabilit și anume:

**Magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) are rolul:**

- de a facilita transportul sistemului în zonele de interes și totodată tratarea organului săi țesutului bolnav prin procesul de hipertermie
- antitumoral (pot genera hipertermie „la comanda” atunci când se aplica câmpuri electromagnetice externe de frecvența 100-300 kHz)

**Partea organica are rolul:**

- de a lega ionii de Ag sau Au prin interacții electrostatice de nanoparticulele de magnetita;
- de dispersie a nanoparticulelor magnetice.

În funcție de modul de legare a magnetitei de partea organică se pot obține doua tipuri de sisteme multifuncționale de tip **magnetita/ tioacizi/ Ag sau Au.**

**Nanoparticulele de Au/Ag**

- manifesta activitate antiseptica și anti-tumorală [8-11];
- prezintă avantajul că nu manifestă efecte secundare în comparație cu citostaticele utilizate în tratarea cancerului.

În funcție de compoziție și ruta de procesare se pot obține:

**Exemplu 1 - Sisteme  $Fe_3O_4$ /tioacizi/Ag sau Ag de tip triplu stratificat (core-shell)**

Obținerea sistemelor magnetice de tip  $Fe_3O_4$ /tioacizi/Ag sau Au se realizează conform schemei prezentate în Figura 1, A. În linii mari sinteza urmează următoarele etape, și anume:

- **precipitarea magnetitei** în prezență de agentul de legare dorit (cisteină, tioacizi, tioalcooli, ...) are loc prin alcalinizarea soluției de precursori de  $Fe_3O_4$  și agent de legare cu hidroxizi sau mai degrabă cu amoniac;
- **reducerea  $Ag^+$**  presupune adăugarea ionilor de  $Au^{3+}$  sau  $Ag^+$  și a unui agent reducător solubil (produsul de reacție rezultat tot solubil) în soluția rezultată în etapa de precipitare (după perfectarea precipitării);
- **purificarea** presupune filtrarea și spălarea precipitatului obținut cu apă și sau alcool pentru îndepărtarea produșilor de reacție rezultați, a reactanților în exces precum și a mediului de reacție utilizat.

Conform acestei rute, se obțin structuri triplu stratificate cu miez magnetic, strat intermediar de agent de legare și strat extern de nanoparticule de Au sau Ag (Figura 2A). Stratul extern poate fi continuu sau insular în sensul că argintul este dispus doar în anumite zone.

**Exemplu 2 - Sisteme de tip  $Fe_3O_4$ /tioacizi/Au sau Ag de tip compozit (omogen)**

Ruta de sinteza este similară cazului prezentat mai sus cu mențiunea că precipitarea magnetitei are loc simultan cu reducerea ionilor de  $Au^{3+}$  sau  $Ag^+$ . În acest caz etapa de precipitare are loc simultan sau ulterior reducerii ionilor. În acest caz se obțin structuri compozite omogene în care nanoparticulele de Au sau Ag sunt dispuse în masă. Sinteza acestor sisteme magnetice se poate realiza și pomind de la suspensie de Au sau Ag, etapa de reducere fiind astfel eliminată.

**Exemplu 3 - Sisteme magnetice de tip  $Fe_3O_4$ /citostatic/Ag sau Au**

Această rută de sinteză este identică cu cel prezentat în exemplele 1 și 2 cu mențiunea că agentul de legare este însăși agentul anti-tumoral. Interacția magnetită citostatic va permite o eliberare controlată/prelungită a acestora la locul țintit (sistemul fiind ușor de dirijat în câmp magnetic la nivelul țesutului/organului dorit).

***Exemplu 4 - Sisteme magnetice de tip  $Fe_3O_4$ /tioacizi/Ag sau Au încărcate cu diverse medicamente***

Sistemele magnetice *magnetita/tioacizi/Ag sau Au* obținute anterior pot fi supuse unui procedeu de încărcare cu medicamente, dintre care, datorită potențialului anti-tumoral al sistemelor magnetice propuse un rol important va revenii agenților anti-tumorali. În acest caz se vor obține structuri complexe care pot îmbina efectul chimioterapiei (rută clasică / convențională de tratament al cancerului) cu hipertermia și fototerapia (rută neconvențională) (Figura 2. C,D).

## Revendicări

Prin prezentul brevet revendicăm dreptul de proprietate intelectuală asupra sistemelor magnetice prezentate cât și a tehnologiei de obținere a acestora:

- sistemele magnetice de tip  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{tioacid}/\text{Ag}$  **caracterizate prin aceea că** au fost propuse pentru prima dată atât ca structură core-shell cât și ca structuri compozite, omogene sunt destinate diagnozei și tratamentului cancerului;
- sistemele magnetice de tip  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{tioacid}/\text{Ag}$  **caracterizate prin aceea că** pot fi dirijate spre locul țintit prin aplicarea unui (unor) câmp magnetic;
- sistemele magnetice de tip  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{tioacid}/\text{Ag}$  încărcate cu medicament **caracterizate prin aceea că**, în funcție de natura medicamentului încorporat pot fi utilizate pentru tratarea cancerului sau pot fi ușor dirijate magnetic la locul țintit unde va avea loc eliberarea;
- tehnologia de obținere a structurilor  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{tioacid}/\text{Ag}$  sau Au de tip core-shell **caracterizate prin aceea că** permite obținerea unor structuri triplu stratificate în care miezul o reprezintă nanoparticulele de magnetită, stratul intermediar o reprezintă agentul de legare care poate fi orice moleculă bifuncțională care are afinitate pentru magnetită și respectiv pentru Au sau Ag iar stratul extern reprezentat de nanoparticule de Au sau Ag dispuse în insule sau chiar strat compact care să acopere aceste particule;
- tehnologia de obținere a structurilor  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{tioacid}/\text{Ag}$  sau Au de tip compozit (omogen) **caracterizate prin aceea că** nanoparticulele de Au sau Ag sunt dispuse în toată masa materialului;
- tehnologia de obținere a sistemelor  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{tioacid}/\text{Ag}$  sau Au încărcate cu medicament (în special medicament anti-tumoral) **caracterizate prin aceea că** sistemele magnetice sunt dirijate în țesutul/organul dorit unde are loc eliberare controlată a medicamentului și unde, prin excitație externă se produce hipertermie indusă de câmpul electromagnetic (hipertermia produsă de magnetită) sau fasciculul laser (hipertermie produsă de nanoparticulele de Au sau Ag).

Figuri

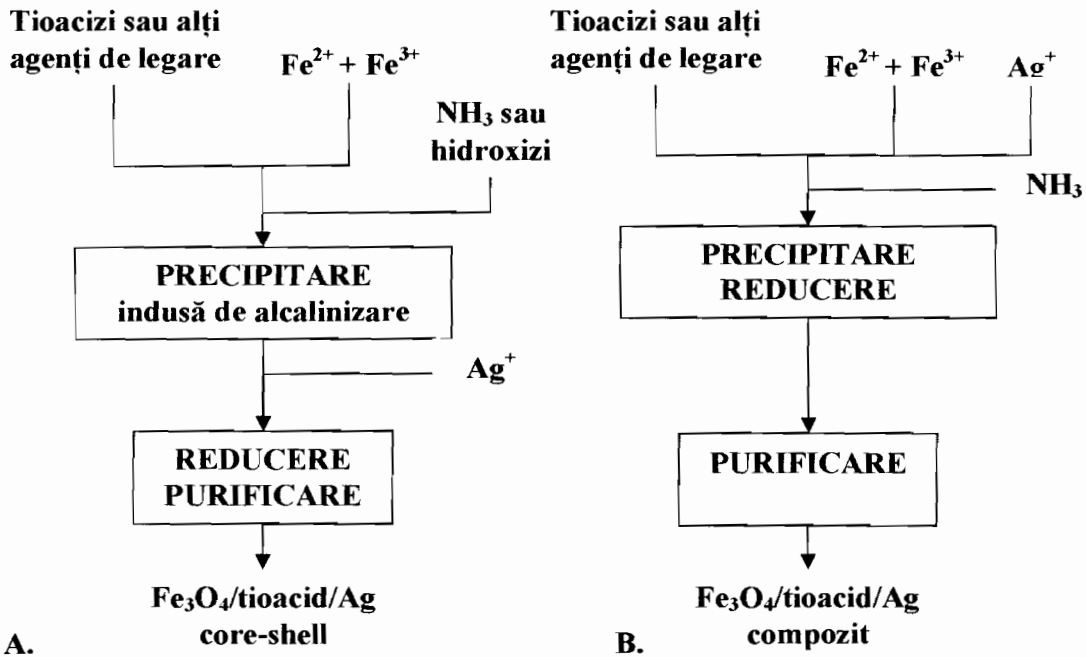


Figura 1. Reprezentarea Schematică a sintezei sistemelor magnetice Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/tioacid/Ag de tip A. core-shell si B. compozit

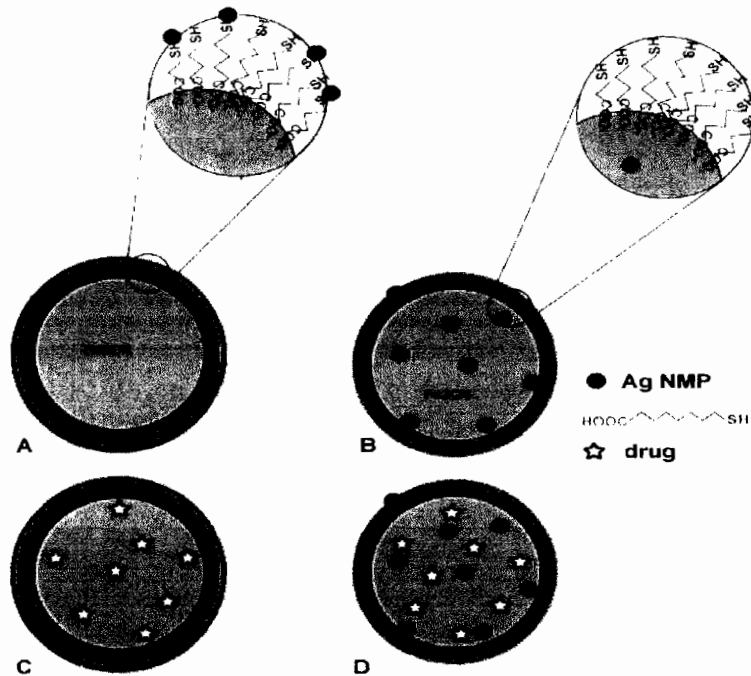


Figura 2. Structura sistemelor magnetice propuse: A) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/tioacid/Ag tip triplu core shell; B. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/tioacid/Ag tip compozit; C-D. sisteme Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/tioacid/Ag de tip coore-shell sau compozit încărcate cu medicament