



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2013 00199

(22) Data de depozit: 05.03.2013

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

(71) Solicitant:  
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU  
CHIMIE ȘI PETROCHIMIE - ICECHIM,  
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.202,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:  
• SÂRBU ANDREI, STR.VALEA OLTULUI  
NR.16, BL.A 28, SC.C, ET.2, AP.37,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;  
• IANCU STELA, STR.CLUJ NR.81, BL.9,  
SC.C, ET.5, AP.95, SECTOR 1,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• DULDNER MONICA-MIRELA,  
CALEA MOȘILOR NR.262, BL.8, SC.B,  
ET.7, AP.53, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B,  
RO;  
• APOSTOL STELUȚA, STR. NOVACI  
NR. 10, BL. P60, SC. 4, AP. 92, SECTOR 5,  
BUCUREȘTI, B, RO;

• DIMA ȘTEFAN OVIDIU, STR. ODOBEȘTI  
NR.5B, BL. M7B, SC.B, AP.72, SECTOR 3,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• IONESCU ELENA,  
STR. ȘTEFAN CEL MARE NR. 60,  
PIATRA-NEAMȚ, NT, RO;  
• AVRAMESCU SORIN MARIUS,  
STR. NICOLAE FILIMON NR. 30, BL. 17,  
SC. 1, AP. 17, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,  
RO;  
• UDREA ION, INTRAREA VASILE PĂUN  
NR.5, ET.5, AP.12, SECTOR 5,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• GÂREA SORINA ALEXANDRA,  
STR. PRĂSILEI NR. 8, SECTOR 4,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• SANDU TEODOR, STR. PARÂNGULUI  
NR. 43A, ET. 1, AP. 4, SECTOR 1,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• SÂRBU LILIANA, STR.VALEA OLTULUI  
NR.16, BL.A 28, SC.C, AP.37, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• FLOREA ANA MIHAELA, STR. GRIVIȚEI  
NR. 4, BL. 2, AP. 1, SC. A, PARTER,  
BĂILE GOVORA, VL, RO

(54) PERLE POLIMERICE IMPRENTATE MOLECULAR PENTRU  
EXTRACȚIA SELECTIVĂ A HIPERICINEI DIN FITOEXTRACTE

(57) Rezumat:

Invenția se referă perle polimerice impregnate mole-  
cular, pentru extracția selectivă a hipericinei din fito-  
extracte. Perlele conform invenției sunt preparate din  
copolimeri acrilonitril-co-acid acrilic sau metacrilic, cu  
75...90% acrilonitril și în rest acid acrilic sau metacrilic,

având o vâscozitate relativă a polimerilor de 1,45...1,95,  
un diametru de 0,8...1,2 mm, o suprafață specifică de  
70...120 mp/g și un factor de impregnare de 2...4,5.

Revendicări: 3

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, 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 conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



## PERLE POLIMERICE IMPRENTATE MOLECULAR PENTRU EXTRAȚIA SELECTIVĂ A HIPERICINEI DIN FITOEXTRACTE

Prezenta invenție se referă la obținerea unor perle polimerice impregnate molecular pentru extracția selectivă a hipericinei din fitoextracte, cu aplicație în obținerea de fitopreparate cu concentrație mărită de hipericină și deci cu bioactivitate superioară.

Extracția selectivă a hipericinei din fitoextracte are ca scop obținerea unor fitopreparate cu bioactivitate superioară, știut fiind că hipericina are activitate antidepresivă, antivirală și este utilizată în fototerapia cancerului de piele.

Se cunosc mai multe metode de separare a hipericinei din fitoextracte, precum fitoextractele de sunătoare:

1. O posibilitate de separare a hipericinei din fitoextracte o reprezintă cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC) pe geluri polimerice. Metoda are dezavantajul că are o productivitate foarte mică, din care cauză se folosește în special în scopuri analitice [1]

2. O altă posibilitate de separare a hipericinei din fitoextracte, în scopul obținerii de fitopreparate cu concentrație mărită în hipericină o reprezintă extracția în fază solidă, folosind rășini macroporoase adsorbitive. Metoda are dezavantajul că, datorită lipsei de selectivitate a centrilor de adsorbție, creșterea în concentrație a hipericinei este mică. În același timp, în paralel cu creșterea concentrației în hipericină se înregistrează creșterea concentrației și a altor componente din fitoextract, unii cu efecte nule sau nedorite în aplicațiile fitopreparatelor [2].

3. O altă metodă pentru separarea hipericinei din fitoextracte, în scopul obținerii de fitopreparate cu concentrație mărită în hipericină o reprezintă extracția în fază solidă folosind granule de polimeri impregnate molecular obținute prin polimerizare, cu capacitate de recunoaștere moleculară [3]. Metoda are dezavantajul că ea conduce inițial la obținerea unui polimer bloc, care este concasat și măcinat cu dificultate și apoi sitat, iar fracția utilă (sub 70 μm) care poate fi aplicată la extracție reprezintă sub 15 % din masa totală a blocului. În plus, în cursul operațiilor de concasare și măcinare, mulți din centrii specifici de recunoaștere moleculară sunt distruși și ca urmare capacitatea de concentrare a hipericinei este diminuată [3].

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în obținerea perlelor polimerice impregnate molecular cu hipericină prin inversie de fază, pornind de la soluții în DMSO de copolimeri ai acrilonitrilului cu acidul acrilic sau metacrilic și care conțin ca moleculă țintă (templă) hipericină, introdusă în solvent sub formă de soluție alcoolică apoasă de hipericină, sau sub formă de fitoextract de hipericină, inversia de fază având loc prin picurarea soluției într-o baie de inversie de fază, după care, în vederea formării cavităților de recunoaștere

moleculară, hipericina conținută de perle este extrasă din acestea fie într-un aparat Soxhlet, fie prin spălare în câmp de ultrasunete.

Produsul și procedeul conform invenției înlătură dezavantajele materialelor și procedeele menționate anterior prin aceea că perlele polimerice impregnate molecular pentru extracția selectivă a hipericinei din fitoextracte sunt preparate din copolimeri acrilonitril-co-acid acrilic (AN: AA) sau acrilonitril-co-acid metacrilic (AN:MA), cu conținutul de acrilonitril de 75- 90 % (toate procente din acest text sunt procente masice, cu excepția cazului în care se precizează că sunt altfel de procente) și restul de 10-25 % acid acrilic sau acid metacrilic, cu viscozitatea relativă a copolimerilor de 1,45-1,95 (determinată în soluție 0,3% în dimetilformamidă la 25 °C), copolimerii fiind dizolvați în dimetilsulfoxid (DMSO), în care în prealabil s-a dizolvat fie o soluție alcoolică apoasă (50-80% vol. alcool etilic și restul de 20-50% vol. apă), conținând 10-20 % hipericină, fie un extract de sunătoare în soluție alcoolică (50-80% vol. alcool etilic și restul de 20-50% vol. apă), conținând 5-10 % hipericină iar restul de până la 10-20 % alți compuși, raportul masic al copolimerului față de DMSO fiind de 8:92- 12:88, iar concentrația de hipericină, față de copolimer fiind de 2,5- 5%, soluția fiind obținută prin dizolvare la temperatura de 50- 70 °C, la întuneric, timp de 2-8 ore, până la completa dizolvare, apoi soluția fiind introdusă într-o seringă de 5-10 mL, din care este picurată, prin acul seringii într-o baie de inversie de fază, formată din apă distilată sau formată din soluție apoasă de 10-50 % vol. alcool izopropilic, distanța dintre acul seringii și suprafața băii de inversie de fază fiind de 30-45 cm, perlele formate fiind lăsate în baia de inversie de fază timp de 1-3 ore, pentru definitivarea structurii, după care perlele sunt filtrate pe un filtru Buchner cu hârtie calitativă, și în cazul coagulării în soluții de alcool izopropilic, spălate cu apă distilată, perlele fie fiind apoi transferate într-un săculeț de poliamidă și introduse într-un aparat Soxhlet pentru extracție cu alcool etilic 95% (10-20 sifonări), fie fiind introduse într-un pahar Erlenmayer cu dop, conținând alcool etilic 95%, la un raport masă perle: volum alcool etilic de 1:50- 1:100, paharul Erlenmayer fiind introdus într-o baie de ultrasonare, în care este lăsat timp de 30-60 minute, pentru extragerea hipericinei, după care, în final, perlele sunt uscate la temperatura camerei în aerul dintr-o nișă ventilată.

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- perlele impregnate molecular cu hipericină, prin inversie de fază, prezintă selectivitate datorită capacității lor de recunoaștere moleculară a hipericinei și ca atare asigură extracția prioritară a acesteia din fitoextracte;
- procesul de obținere a perlelor prin inversie de fază asigură folosirea integrală a materialului impregnat molecular pentru extracția prioritară a hipericinei din fitoextracte;

- perlele obținute asigură o productivitate ridicată a procesului de concentrare a hipericinei în fitopreparate și deci pot fi folosite pentru aplicații preparative, nu doar pentru scopuri analitice;

- cavitățile impregnate molecular (cu capacitate de recunoaștere moleculară) nu sunt distruse în cursul obținerii perlelor, deoarece nu sunt aplicate procese de concasare și măcinare;

- nu există riscul de inhibare a polimerizării din cauza substanțelor care însoțesc hipericină în fitoextracte, deoarece se folosesc copolimeri preparați anterior;

- prin varierea compoziției de unități structurale de acrilonitril și acid acrilic sau acid metacrilic ale copolimerilor se poate dirija selectivitatea perlelor față de hipericină și reduce adsorbția unor componenți ai fitoextractelor cu bioactivitate nulă sau nedorită;

- asigură posibilitatea dirijării porozității perlelor deoarece utilizează o baie de inversie de fază monocomponentă sau bicomponentă;

- formează, în cursul extracției, legături necovalente ale hipericinei cu polimerul din perle, ceea ce ușurează eluția moleculei țintă după extracție, în vederea obținerii de fitopreparate concentrate în hipericină;

- utilizează un copolimer acrilic format din doi comonomeri de mare tonaj, ceea ce asigură un preț de cost redus al copolimerului acrilic și implicit perlelor.

Se dau în continuare exemple de realizare a invenției:

#### Exemplul 1

Într-o autoclavă metalică de 1L, cu agitator tip ancoră, prevăzută cu manta de încălzire și cu ștuț lateral, se introduc prin ștuțul lateral 418 mL DMSO, și apoi se introduc 5 mL de soluție 20% de hipericină în soluție alcoolică apoasă (80% vol. alcool etilic și 20% vol. apă). Se pornește încălzirea în manta, cu apa dintr-o baie ultratermostată având temperatura de 50 °C. Apoi se pornește agitarea. După circa 15 minute se introduc în autoclava, prin ștuțul lateral, 40 g de copolimer 75:25 AN: AA, cu viscozitatea relativă 1,45. Se menține agitarea la temperatura de 50 °C timp de 4 ore. Se obține astfel o soluție de copolimer acrilic în DMSO cu concentrația de 8% și care conține 5% hipericină față de copolimer. Cu o seringă de 10 ml se trage din această soluție până la umplerea completă a seringii. Seringa este apoi fixată într-un loc întunecos, pe o clemă, la o distanță de 35 cm între acul seringii și suprafața băii de inversie de fază, aflată într-un pahar Berzelius de 2L, conținând 1L soluție apoasă de 50% vol. alcool izopropilic și având temperatura camerei (circa 25 °C). Se începe picurarea soluției prin apăsarea pistonului seringii. După terminarea soluției din seringă, aceasta se reîncarcă cu soluție din autoclavă și se repetă procesul de picurare de 10 ori. Apoi se schimbă paharul Berzelius conținând 1L soluție apoasă 50% vol. de alcool izopropilic și se repetă operațiile de picurare la fel ca în cazul precedent. Se continuă picurarea a maxim 10 seringi de 10 mL în

băi de 1L soluție apoasă 50% vol. de alcool izopropilic, până la epuizarea soluției din autoclavă. Perlele formate în băile de inversie de fază sunt lăsate în aceeași baie timp de 3 ore de la terminarea picurării, pentru definitivarea structurii. Apoi suspensia conținând perlele este filtrată pe un filtru Buchner cu hârtie de filtru calitativă, în vederea reținerii perlelor din suspensie. Perlele reținute sunt spălate pe filtru cu 2 L apă distilată, pentru îndepărtarea alcoolului izopropilic. Apoi perlele sunt introduse într-un săculeț de poliamidă care este amplasat într-un aparat Soxhlet. În balonul aparatului Soxhlet se introduce alcool etilic 95 % și se pornește încălzirea. După ce au loc 20 sifonări săculețul se scoate din aparatul Soxhlet, iar perlele impregnate molecular se pun pe o sticlă de ceas, care se lasă pentru uscare în aerul dintr-o nișă ventilată. Se obțin astfel perle poroase cu diametrul de circa 0,8 mm, cu o suprafață specifică de 80 m<sup>2</sup>/g, cu factorul de impregnare de 3,25. Factorul de impregnare a fost calculat cu formula:

$$IF = \frac{B_{eMIP}}{B_{eNIP}}$$

în care  $B_{eMIP}$  reprezintă capacitatea de adsorbție a hipericinei pentru perlele impregnate molecular (g hipericină/g perle), iar  $B_{eNIP}$  reprezintă capacitatea de adsorbție a hipericinei de către perlele neimpregnate molecular, obținute în aceleași condiții ca cele impregnate, dar în lipsa hipericinei.

### Exemplul 2

Într-o autoclavă metalică de 1 L, cu agitator tip ancoră, prevăzută cu manta de încălzire și cu ștuț lateral, se introduc prin ștuțul lateral 400 mL DMSO, și apoi se introduc 7,5 mL de soluție 10% de hipericină în soluție alcoolică apoasă (50% vol. alcool etilic și 50% vol. apă). Se pornește încălzirea în manta, cu apă dintr-o baie ultratermostată având temperatura de 70 °C. Apoi se pornește agitarea. După circa 15 minute se introduc în autoclava prin ștuțul lateral 60 g de copolimer 90:10 AN: AA, cu viscozitatea relativă 1,95. Se menține agitarea la temperatura de 70 °C timp de 8 ore. Se obține astfel o soluție de copolimer acrilic în DMSO cu concentrația de 12% și care conține 2,5 % hipericină față de copolimer. Cu o seringă de 5 ml se trage din această soluție până la umplerea completă a seringii. Seringa este apoi fixată într-un loc întunecos, pe o clemă, la o distanță de 45 cm între acul seringii și suprafața băii de inversie de fază, aflată într-un pahar Berzelius de 2L, conținând 1L soluție apoasă 10% vol. de alcool izopropilic și având temperatura camerei (circa 25 °C). Se începe picurarea soluției prin apăsarea pistonului seringii. După terminarea soluției din seringă, aceasta se reîncarcă cu soluție din autoclavă și se repetă procesul de picurare de 20 ori. Apoi se schimbă paharul Berzelius conținând 1L soluție apoasă 10% vol. de alcool izopropilic și se repetă operațiile de picurare la fel ca în cazul precedent. Se continuă picurarea a maxim 20 seringi de 5 mL în băi de 1L soluție apoasă 10% vol. de alcool izopropilic, până la epuizarea soluției din autoclavă.

Perlele formate în băile de inversie de fază sunt lăsate în aceeași baie timp de 1 oră de la terminarea picurării, pentru definitivarea structurii. Apoi suspensia conținând perlele este filtrată pe un filtru Buchner cu hârtie de filtru calitativă, în vederea reținerii perlelor din suspensie. Perlele reținute sunt spălate pe filtru cu 4 L apă distilată, pentru îndepărtarea alcoolului izopropilic. Apoi perlele sunt introduse într-un pahar Erlenmayer cu dop conținând alcool etilic 95%, raportul masă perle: volum alcool etilic fiind de 1: 50. Paharul Erlenmayer este introdus într-o baie de ultrasonare unde este lăsat timp de 60 minute. Perlele impregnate molecular se separă de lichid prin filtrare pe un filtru Buchner cu hârtie de filtru calitativă și apoi se pun pe o sticlă de ceas, care se lasă pentru uscare în aerul dintr-o nișă ventilată. Se obțin astfel perle poroase cu diametrul de circa 1,2 mm, cu o suprafață specifică de  $70 \text{ m}^2/\text{g}$ , cu factorul de impregnare de 2,82.

### Exemplul 3

Într-o autoclavă metalică de 1 L, cu agitator tip ancoră, prevăzută cu manta de încălzire și cu ștuț lateral, se introduc prin ștuțul lateral 409 mL DMSO, și apoi se introduc 15 mL de soluție 10% de hipericină în soluție alcoolică apoasă (70% vol. alcool etilic și 30% vol. apă). Se pornește încălzirea în mantă, cu apă dintr-o baie ultratermostată având temperatura de  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ . Apoi se pornește agitarea. După circa 15 minute se introduc în autoclavă prin ștuțul lateral 50 g de copolimer 80:20 AN: AA, cu viscozitatea relativă 1,68. Se menține agitarea la temperatura de  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  timp de 2 ore. Se obține astfel o soluție de copolimer acrilic în DMSO cu concentrația de 10% și care conține 3 % hipericină față de copolimer. Cu o seringă de 10 ml se trage din această soluție până la umplerea completă a seringii. Seringa este apoi fixată într-un loc întunecos, pe o clemă, la o distanță de 40 cm între acul seringii și suprafața băii de inversie de fază, aflată într-un pahar Berzelius de 2L, conținând 1L apă distilată și având temperatura camerei (circa  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Se începe picurarea soluției prin apăsarea pistonului seringii. După terminarea soluției din seringă, aceasta se reîncarcă cu soluție din autoclavă și se repetă procesul de picurare de 10 ori. Apoi se schimbă paharul Berzelius conținând 1L apă distilată și se repetă operațiile de picurare la fel ca în cazul precedent. Se continuă picurarea a maxim 10 seringi de 10 mL în băi de 1L apă distilată, până la epuizarea soluției din autoclavă. Perlele formate în băile de inversie de fază sunt lăsate în aceeași baie timp de 2 ore de la terminarea picurării, pentru definitivarea structurii. Apoi suspensia conținând perlele este filtrată pe un filtru Buchner cu hârtie de filtru calitativă, în vederea reținerii perlelor din suspensie. Apoi perlele sunt introduse într-un pahar Erlenmayer cu dop conținând alcool etilic 95%, raportul masă perle: volum alcool etilic fiind de 1: 100. Paharul Erlenmayer este introdus într-o baie de ultrasonare unde este lăsat timp de 30 minute. Perlele impregnate molecular se separă de lichid prin filtrare pe un filtru Buchner cu hârtie de filtru calitativă și apoi se pun pe o sticlă de ceas, care se lasă pentru uscare în aerul dintr-o nișă ventilată. Se

obțin astfel perle poroase cu diametrul de circa 1 mm, cu o suprafață specifică de 100 m<sup>2</sup>/g, cu factorul de imprimare de 4,32.

#### Exemplu 4

Într-o autoclavă metalică de 1 L, cu agitator tip ancoră, prevăzută cu manta de încălzire și cu ștuț lateral, se introduc prin ștuțul lateral 418 mL DMSO, și apoi se introduc 5 mL de soluție 20% de hipericină în soluție alcoolică apoasă (80% vol. alcool etilic și 20% vol. apă). Se pornește încălzirea în mantă, cu apă dintr-o baie ultratermostată având temperatura de 50 °C. Apoi se pornește agitarea. După circa 15 minute se introduc în autoclavă prin ștuțul lateral 40 g de copolimer 90: 10 AN: MA, cu viscozitatea relativă 1,45. Se menține agitarea la temperatura de 50 °C timp de 3 ore. Se obține astfel o soluție de copolimer acrilic în DMSO cu concentrația de 8% și care conține 5% hipericină față de copolimer. Cu o seringă de 10 ml se trage din această soluție până la umplerea completă a seringii. Seringa este apoi fixată într-un loc întunecos, pe o clemă, la o distanță de 35 cm între acul seringii și suprafața băii de inversie de fază, aflată într-un pahar Berzelius de 2L, conținând 1L soluție apoasă de 50% vol. alcool izopropilic și având temperatura camerei (circa 25 °C). Se începe picurarea soluției prin apăsarea pistonului seringii. După terminarea soluției din seringă, aceasta se reîncarcă cu soluție din autoclavă și se repetă procesul de picurare de 10 ori. Apoi se schimbă paharul Berzelius conținând 1L soluție apoasă 50% vol. de alcool izopropilic și se repetă operațiile de picurare la fel ca în cazul precedent. Se continuă picurarea a maxim 10 seringi de 10 mL în băi de 1L soluție apoasă 50% vol. de alcool izopropilic, până la epuizarea soluției din autoclavă. Perlele formate în băile de inversie de fază sunt lăsate în aceeași baie timp de 3 ore de la terminarea picurării, pentru definitivarea structurii. Apoi suspensia conținând perlele este filtrată pe un filtru Buchner cu hârtie de filtru calitativă, în vederea reținerii perlelor din suspensie. Perlele reținute sunt spălate pe filtru cu 2 L apă distilată, pentru îndepărtarea alcoolului izopropilic. Apoi perlele sunt introduse într-un pahar Erlenmayer cu dop conținând alcool etilic 95%, raportul masă perle: volum alcool etilic fiind de 1: 100. Paharul Erlenmayer este introdus într-o baie de ultrasonare unde este lăsat timp de 30 minute. Perlele imprimate molecular se separă de lichid prin filtrare pe un filtru Buchner cu hârtie de filtru calitativă și apoi se pun pe o sticlă de ceas, care se lasă pentru uscare în aerul dintr-o nișă ventilată. Se obțin astfel perle poroase cu diametrul de circa 0,9 mm, cu o suprafață specifică de 85 m<sup>2</sup>/g, cu factorul de imprimare de 3,62.

#### Exemplul 5

Într-o autoclavă metalică de 1 L, cu agitator tip ancoră, prevăzută cu manta de încălzire și cu ștuț lateral, se introduc prin ștuțul lateral 400 mL DMSO, și apoi se introduc 7,5 mL de soluție 10% de hipericină în soluție alcoolică apoasă (50% vol. alcool etilic și 50% vol. apă). Se pornește încălzirea în mantă, cu apă dintr-o baie ultratermostată având temperatura de 70 °C.

Apoi se pornește agitarea. După circa 15 minute se introduc în autoclavă prin ștuțul lateral 60 g de copolimer 75:25 AN: MA, cu viscozitatea relativă 1,85. Se menține agitarea la temperatura de 70 °C timp de 8 ore. Se obține astfel o soluție de copolimer acrilic în DMSO cu concentrația de 12% și care conține 2,5 % hipericină față de copolimer. Cu o seringă de 5 ml se trage din această soluție până la umplerea completă a seringii. Seringa este apoi fixată într-un loc întunecos, pe o clemă, la o distanță de 45 cm între acul seringii și suprafața băii de inversie de fază, aflată într-un pahar Berzelius de 2L, conținând 1L soluție apoasă 10% vol. de alcool izopropilic și având temperatura camerei (circa 25 °C). Se începe picurarea soluției prin apăsarea pistonului seringii. După terminarea soluției din seringă, aceasta se reîncarcă cu soluție din autoclavă și se repetă procesul de picurare de 20 ori. Apoi se schimbă paharul Berzelius conținând 1L soluție apoasă 10% vol. de alcool izopropilic și se repetă operațiile de picurare la fel ca în cazul precedent. Se continuă picurarea a maxim 20 seringi de 5 mL în băi de 1L soluție apoasă 10% vol. de alcool izopropilic, până la epuizarea soluției din autoclavă. Perlele formate în băile de inversie de fază sunt lăsate în aceeași baie timp de 1 oră de la terminarea picurării, pentru definitivarea structurii. Apoi suspensia conținând perlele este filtrată pe un filtru Buchner cu hârtie de filtru calitativă, în vederea reținerii perlelor din suspensie. Perlele reținute sunt spălate pe filtru cu 4 L apă distilată, pentru îndepărtarea alcoolului izopropilic. Apoi perlele sunt introduse într-un săculeț de poliamidă care este amplasat într-un aparat Soxhlet. În balonul aparatului Soxhlet se introduce alcool etilic 95 % și se pornește încălzirea. După ce au loc 10 sifonari săculețul se scoate din aparatul Soxhlet, iar perlele impregnate molecular se pun pe o sticlă de ceas, care se lasă pentru uscare în aerul dintr-o nișă ventilată. Se obțin astfel perle poroase cu diametrul de circa 0,8 mm, cu o suprafața specifică de 90 m<sup>2</sup>/g, cu factorul de impregnare de 3,02.

#### Exemplul 6

Într-o autoclavă metalică de 1 L, cu agitator tip ancoră, prevăzută cu mantă de încălzire și cu ștuț lateral, se introduc prin ștuțul lateral 409 mL DMSO, și apoi se introduc 15 mL de soluție 10% de hipericină în soluție alcoolică apoasă (70% vol. alcool etilic și 30% vol. apă). Se pornește încălzirea în mantă, cu apă dintr-o baie ultratermostată având temperatura de 60 °C. Apoi se pornește agitarea. După circa 15 minute se introduc în autoclavă prin ștuțul lateral 50 g de copolimer 80:20 AN: MA, cu viscozitatea relativă 1,46. Se menține agitarea la temperatura de 60 °C timp de 2 ore. Se obține astfel o soluție de copolimer acrilic în DMSO cu concentrația de 10% și care conține 3 % hipericină față de copolimer. Cu o seringă de 10 ml se trage din această soluție până la umplerea completă a seringii. Seringa este apoi fixată într-un loc întunecos, pe o clemă, la o distanță de 40 cm între acul seringii și suprafața băii de inversie de fază, aflată într-un pahar Berzelius de 2L, conținând 1L apă distilată și având temperatura camerei (circa 25 °C). Se începe picurarea soluției prin apăsarea pistonului



seringii. După terminarea soluției din seringă, aceasta se reîncarcă cu soluție din autoclavă și se repetă procesul de picurare de 10 ori. Apoi se schimbă paharul Berzelius conținând 1L apă distilată și se repetă operațiile de picurare la fel ca în cazul precedent. Se continuă picurarea a maxim 10 seringi de 10 mL în băi de 1L apă distilată, până la epuizarea soluției din autoclavă. Perlele formate în băile de inversie de fază sunt lăsate în aceeași baie timp de 3 ore de la terminarea picurării, pentru definitivarea structurii. Apoi suspensia conținând perlele este filtrată pe un filtru Buchner cu hârtie de filtru calitativă, în vederea reținerii perlelor din suspensie. Apoi perlele sunt introduse într-un pahar Erlenmayer cu dop conținând alcool etilic 95%, raportul masă perle: volum alcool etilic fiind de 1: 50. Paharul Erlenmayer este introdus într-o baie de ultrasonare unde este lăsat timp de 60 minute. Perlele impregnate molecular se separă de lichid prin filtrare pe un filtru Buchner cu hârtie de filtru calitativă și apoi se pun pe o sticlă de ceas, care se lasă pentru uscare în aerul dintr-o nișă ventilată. Se obțin astfel perle poroase cu diametrul de circa 1,1 mm, cu o suprafață specifică de 120 m<sup>2</sup>/g, cu factorul de impregnare de 4,51

#### Exemplul 7

Într-o autoclavă metalică de 1 L, cu agitator tip ancoră, prevăzută cu mantă de încălzire și cu ștuț lateral, se introduc prin ștuțul lateral 409 mL DMSO, și apoi se introduc 15 ml extract de sunătoare în soluție alcoolică (70% vol. alcool etilic și restul de 30% vol. apă), conținând 10 % hipericină iar restul de până la 20 % alți compuși. Se pornește încălzirea în mantă, cu apă dintr-o baie ultratermostată având temperatura de 70 °C. Apoi se pornește agitarea. După circa 15 minute se introduc în autoclavă prin ștuțul lateral 50 g de copolimer 80:20 AN: AA, cu viscozitatea relativă 1,68. Se menține agitarea la temperatura de 60 °C timp de 4 ore. Se obține astfel o soluție de copolimer acrilic în DMSO cu concentrația de 10% și care conține 3 % hipericină față de copolimer. Cu o seringă de 10 ml se trage din această soluție până la umplerea completă a seringii. Seringa este apoi fixată într-un loc întunecos, pe o clemă, la o distanță de 45 cm între acul seringii și suprafața băii de inversie de fază, aflată într-un pahar Berzelius de 2L, conținând 1L apă distilată și având temperatura camerei (circa 25 °C). Se începe picurarea soluției prin apăsarea pistonului seringii. După terminarea soluției din seringă, aceasta se reîncarcă cu soluție din autoclavă și se repetă procesul de picurare de 10 ori. Apoi se schimbă paharul Berzelius conținând 1L apă distilată și se repetă operațiile de picurare la fel ca în cazul precedent. Se continuă picurarea a maxim 10 seringi de 10 mL în băi de 1L apă distilată, până la epuizarea soluției din autoclava. Perlele formate în băile de inversie de fază sunt lăsate în aceeași baie timp de 2 ore de la terminarea picurării, pentru definitivarea structurii. Apoi suspensia conținând perlele este filtrată pe un filtru Buchner cu hârtie de filtru calitativă, în vederea reținerii perlelor din suspensie. Apoi perlele sunt introduse într-un săculeț de poliamidă care este amplasat într-un aparat Soxhlet. În balonul

aparaturii Soxhlet se introduce alcool etilic 95 % și se pornește încălzirea. După 10 sifonări săculețul se scoate din aparatul Soxhlet, iar perlele impregnate molecular se pun pe o sticlă de ceas, care se lasă pentru uscare în aerul dintr-o nișă ventilată. Se obțin astfel perle poroase cu diametrul de circa 1,0 mm, cu o suprafață specifică de 70 m<sup>2</sup>/g, cu factorul de impregnare de 2,08.

#### Exemplul 8

Într-o autoclavă metalică de 1 L, cu agitator tip ancoră, prevăzută cu manta de încălzire și cu ștuț lateral, se introduc prin ștuțul lateral 409 mL DMSO, și apoi se introduc 30 ml extract de sunătoare în soluție alcoolică (70% vol. alcool etilic și restul de 30% vol. apă), conținând 5 % hipericină iar restul de până la 10 % alți compuși. Se pornește încălzirea în mantă, cu apă dintr-o baie ultratermostată având temperatura de 60 °C. Apoi se pornește agitarea. După circa 15 minute se introduc în autoclavă prin ștuțul lateral 50 g de copolimer 80:20 AN: MA, cu viscozitatea relativă 1,76. Se menține agitarea la temperatura de 60 °C timp de 6 ore. Se obține astfel o soluție de copolimer acrilic în DMSO cu concentrația de 10% și care conține 3 % hipericină față de copolimer. Cu o seringă de 10 ml se trage din această soluție până la umplerea completă a seringii. Seringa este apoi fixată într-un loc întunecos, pe o clemă, la o distanță de 30 cm între acul seringii și suprafața băii de inversie de fază, aflată într-un pahar Berzelius de 2L, conținând 1L soluție apoasă 80% alcool izopropilic și având temperatura camerei (circa 25 °C). Se începe picurarea soluției prin apăsarea pistonului seringii. După terminarea soluției din seringă, aceasta se reîncarcă cu soluție din autoclavă și se repetă procesul de picurare de 10 ori. Apoi se schimbă paharul Berzelius conținând 1L soluție apoasă 20% de alcool izopropilic și se repetă operațiile de picurare la fel ca în cazul precedent. Se continuă picurarea a maxim 10 seringi de 10 mL în băi de 1L soluție apoasă 20% de alcool izopropilic, până la epuizarea soluției din autoclavă. Perlele formate în băile de inversie de fază sunt lăsate în aceeași baie timp de 2 ore de la terminarea picurării, pentru definitivarea structurii. Apoi suspensia conținând perlele este filtrată pe un filtru Buchner cu hârtie de filtru calitativă, în vederea reținerii perlelor din suspensie. Apoi perlele sunt introduse într-un pahar Erlemayer cu dop conținând alcool etilic 95%, raportul masă perle: volum alcool etilic fiind de 1: 50. Paharul Erlemayer este introdus într-o baie de ultrasonare unde este lăsat timp de 60 minute. Perlele impregnate molecular se separă de lichid prin filtrare pe un filtru Buchner cu hârtie de filtru calitativă și apoi se pun pe o sticlă de ceas, care se lasă pentru uscare în aerul dintr-o nișă ventilată. Se obțin astfel perle poroase cu diametrul de circa 1,0 mm, cu o suprafață specifică de 75 m<sup>2</sup>/g, cu factorul de impregnare de 2,02.

**PERLE POLIMERICE IMPRENTATE MOLECULAR PENTRU EXTRAȚIA  
SELECTIVĂ A HIPERICINEI DIN FITOEXTRACTE  
REVENDICĂRI**

1. Perle polimerice imprentate molecular cu hipericină, caracterizate prin aceea că sunt preparate din copolimeri acrilonitril-co-acid acrilic (AN: AA) sau acrilonitril-co-acid metacrilic (AN:MA), cu conținutul de acrilonitril de 75- 90 % și restul de 10-25 % acid acrilic sau acid metacrilic, cu viscozitatea relativă a copolimerilor de 1,45-1,95 (determinată în soluție 0,3% în dimetilformamidă la 25 °C), au un diametru de 0,8-1,2 mm, o porozitate, reflectată prin suprafața specifică de 70-120 m<sup>2</sup>/g, și o capacitate de recunoaștere moleculară a hipericinei, reflectată printr-un factor de imprentare de 2 - 4,5.

2. Perle polimerice imprentate molecular cu hipericină conform revendicării 1, caracterizate prin aceea că se obțin prin inversie de fază prin picurarea în baie de inversie de fază a unei soluții de copolimer acrilic în DMSO, conținând hipericină.

3. Procedeu de obținere a perlelor polimerice imprentate molecular cu hipericină, conform revendicărilor 1 și 2, caracterizat prin aceea că copolimerii acrilici sunt dizolvați în dimetilsulfoxid (DMSO), în care în prealabil s-a dizolvat fie o soluție alcoolică apoasă (50-80% vol. alcool etilic și restul de 20-50% vol. apă), conținând 10-20 % hipericină, fie un extract de sunătoare în soluție alcoolică (50-80% vol. alcool etilic și restul de 20-50% vol. apă), conținând 5-10 % hipericină iar restul de până la 10-20 % alți compuși, raportul masic al copolimerului față de DMSO fiind de 8:92- 12:88, iar concentrația de hipericină, față de copolimer fiind de 2,5- 5%, soluția fiind obținută prin dizolvare la temperatura de 50- 70 °C, la întuneric, timp de 2-8 ore, până la completa dizolvare, apoi soluția fiind introdusă într-o seringă de 5-10 mL, din care este picurată, prin acul seringii într-o baie de inversie de fază, formată din apă distilată, sau formată din soluție apoasă de 10-50 % vol. alcool izopropilic, distanța dintre acul seringii și suprafața băii de inversie de fază fiind de 30-45 cm, perlele formate fiind lăsate în baia de inversie de fază timp de 1-3 ore, pentru definitivarea structurii, după care perlele sunt filtrate pe un filtru Buchner cu hârtie calitativă și, în cazul coagulării în soluții de alcool izopropilic, spălate cu apă distilată, perlele fie fiind apoi transferate într-un săculeț de poliamidă și introduse într-un aparat Soxhlet pentru extracție cu alcool etilic 95% (10-20 sifonări), fie fiind introduse într-un pahar Erlenmayer cu dop, conținând alcool etilic 95%, la un raport masă perle: volum alcool etilic de 1:50- 1:100, paharul Erlenmayer fiind introdus într-o baie de ultrasonore, în care sunt lăsate timp de 30-60 minute, pentru extragerea hipericinei, după care, în final perlele sunt uscate la temperatura camerei în aerul dintr-o nișă ventilată.