



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2016 00895**

(22) Data de depozit: **24/11/2016**

(41) Data publicării cererii:  
**30/05/2018** BOPI nr. **5/2018**

(71) Solicitant:  
• **INSTITUTUL DE CHIMIE  
MACROMOLECULARĂ "PETRU PONI" DIN  
IAȘI, ALEEA GRIGORE GHICA VODĂ  
NR.41 A, 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;**  
• **DIACONU ALINA, STR. VIILOR NR. 17,  
TÂRGU BUJOR, GL, RO;**  
• **RUSU ALINA GABRIELA,  
STR. 1 DECEMBRIE 1918 NR. 8, BL. B4BIS,  
SC. A, ET. 4, AP. 20, PAȘCANI, IS, RO;**  
• **NEAMȚU IORDANA,  
STR. THEODOR PALLADY NR.8, SC.B,  
ET.3, AP.9, IAȘI, IS, RO;**  
• **TUDORACHI NIȚĂ, STR. DECEBAL  
NR. 14, SC. A, AP. 19, IAȘI, IS, RO**

(54) **PROCEDEU DE PREPARARE A UNEI STRUCTURI  
RETICULATE CU APLICAȚII BIOMEDICALE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unei structuri reticulate cu aplicații biomedicale. Procedeu conform invenției constă în sinteza, printr-o reacție de copolimerizare în soluție de 1,4-dioxan, a copolimerului pe bază de anhidridă itaconică și 3,9-divinil- 2,4,8,10-tetra-oxaspiro [5.5] undecan, în rapoarte molare 1:0,5 și 1:2, cu inițiator radicalic 2,2'-azobis(izobutironitril) adăugat în trei trepte, la temperatura de 75°C, timp de 17 h, sub agitare de 250 rot/min, rezultând copolimerul în soluție care se precipită în dietileter anhidru, se

separă și se usucă la temperatura de 30°C, după care se amestecă în soluție de concentrație 20% în 1,4-dioxan cu acid hialuronic de concentrație 1% în apă, la temperatura de 22°C a mediului, timp de 24 h, în regim staționar, dializare și liofilizare, rezultând o structură de gel având caracter dublu senzitiv: cu temperatură și pH.

Revendicări: 1



86

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr. ....	a 2016 0895
Data depozit .....	24-11-2016

## PROCEDEU DE PREPARARE A UNEI STRUCTURI RETICULATE CU APLICATII BIOMEDICALE

Invenția se referă la un procedeu de preparare a unei structuri reticulate cu aplicații biomedicale, sub forma de gel, responsivă la modificarea unui stimul (termic, pH), destinată înglobării de substanțe bioactive sau ca structură tip senzor.

În ultimele decenii domeniul sistemelor polimerice naturale și sintetice care intră în constituția unor dispozitive și materiale cu aplicații biomedicale a cunoscut o extindere deosebită, deși cerințele impuse acestor polimeri au restrâns sever numărul lor. Pe lângă biocompatibilitate și biodegradabilitate, acestea sunt legate de o serie de proprietăți fizice și mecanice, cum ar fi : geometria dispozitivului sau implantului, gradul de umflare la echilibru, omogenitatea, proprietățile elastice, răspunsul la solicitare, comportarea vâscoelastică în timp și posibilitatea eliberării controlate de principii active.

De asemenea, biomaterialele trebuie să poată fi sterilizate, fără alterarea formei sau proprietăților și fără absorbția permanentă a agenților de sterilizare. Ele nu trebuie să prezinte reacții inflamatorii când vin în contact cu țesuturile naturale, iar acestea nu trebuie să fie degradate în prezența enzimelor naturale din fluidele biologice. Până în prezent, o varietate de materiale (naturale sau sintetice) au fost studiate ca potențiale produse ale ingineriei tisulare a cartilajului articular.

Materialele naturale pot adesea interacționa cu celulele, dar au în același timp o serie de dezavantaje legate de răspunsul imun și proprietățile mecanice necorespunzătoare cu cele ale cartilajului articular. Astfel că, materialele sintetice au fost propuse ca și candidate pentru ingineria tisulară a cartilajului articular, pentru că structura lor poate fi controlată astfel încât să se poată anticipa anumite proprietăți chimice și fizice specifice, pentru a putea obține anumite caracteristici mecanice. Aceste biomateriale pot fi sintetizate într-o mare varietate de matrici: bureți, rețele și hidrogeluri.

Hidrogelurile sunt rețele polimerice, alcătuite din polimeri hidrofilii, ce absorb și rețin o mare cantitate de apă. Domeniul s-a dezvoltat continuu și se dezvoltă în continuare exploziv, datorită aplicațiilor multiple și importante pe care hidrogelurile le au în special în medicină și farmacie, dar și în alte domenii tehnice sau agricultură.

*Handwritten signatures and initials:*  
J  
L. N. de  
S. C.  
J. C.  
J. C.  
M. T.

În domeniul biomedical, hidrogelurile se aplică în special în cadrul eliberării controlate a medicamentelor, a regenerării tisulare sau al biosenzorilor, datorită proprietăților remarcabile pe care acestea le au:

- conținutul de apă și elasticitatea le face similare cu țesutul natural din punct de vedere al interacțiunilor biologice la nivel molecular;
- multe hidrogeluri furnizează suprafețe inerte (pentru diversele dispozitive implantabile) care previn adsorbția nespecifică a proteinelor (antifouling);
- moleculele biologice pot fi legate covalent de hidrogeluri prin intermediul unor reacții chimice bine controlate;
- proprietățile mecanice și gradul de umflare în apă ale hidrogelurilor pot fi proiectate pentru a răspunde aplicației propuse, de exemplu prin modificarea densității de rețiculare;
- hidrogelurile pot fi proiectate să-și modifice proprietățile sub acțiunea unor stimuli externi, cum ar fi temperatura, pH, etc.

Acidul hialuronic este o polidizaharidă naturală compusă din acid D-glucuronic și D-N-acetilglucozamină, unite prin legături glicozidice alternante, cu aplicații multiple în domeniul biomedical: sisteme cu eliberare controlată a medicamentelor, în ingineria tisulară, etc. Deși derivații de acid hialuronic formează soluții cu viscozitate mare, proprietățile lor mecanice sunt slabe. Practic, biomaterialele pe bază de acid hialuronic sunt compuși cu rezistență joasă la solicitări și la degradare. Pentru a încetini și controla degradarea și a îmbunătăți rezistența mecanică a acestor biomateriale se practică conjugarea cu polimeri sintetici. Acidul hialuronic poate fi rețiculat pentru a se folosi în domeniile chirurgicale și dermatologie ca materiale pentru reconturarea sau reconstrucția țesuturilor.

De exemplu, în brevetul US Pat 8945624 din 2015 un material de umplură cosmetic conține o compoziție polimerică fotoactivată, pe bază de polimer natural - acid hialuronic - și un polimer rețiculabil modificat, cum ar fi polietilenglicolul sau polietilenoxid diacrilat. Preparatul asigură o compoziție și un contur mai stabile în timpul gelifierii.

În US Pat Application 2008 / 0197324 o compoziție oftalmică antimicrobiană ce conține un copolimer cu unități monomerice ale unuia sau mai multor alcooli sau polioli polimerizabili și unități monomerice ale unuia sau mai multor acizi carboxilici polimerizabili, poate include și acid hialuronic.

Lu  
LW

Lu  
Mimik

US 7014845 din 2006 se referă la un proces de preparare prin reticulare a unei compoziții pe bază de copolimeri policarboxilici nereticulați și cel puțin o polizaharidă ce poate fi acidul hialuronic sau derivați de acid hialuronic, cu agent de reticulare ce conține cel puțin două funcții aminice. Acest material este în particular folosit ca suport în compozițiile biomedicale și farmaceutice.

US Pat Application 2008 / 0292664 prezintă prepararea unui sistem cu aplicații în domeniul biomedical și farmaceutic sub formă de hidrogel pe bază de acid hialuronic reticulat chimic cu un polimer polifuncțional având structură tip proteină, cu grupe laterale hidrazidice de-a lungul lanțului polimeric. Materialele obținute după reticulare suferă o degradare chimică și enzimatică reduse față de acidul hialuronic.

O altă compoziție sub formă de hidrogel de acid hialuronic și un alginat prezintă brevetul WO 2015 / 050943. Biomaterialul realizat conform brevetului se folosește ca matrice suport pentru ingineria tisulară la mamifere, localizând celule și alte componente biologice, pentru a promova repararea unui țesut la locul defect. Compoziția permite controlul vitezei de gelifiere și timpul de resorbție, realizând adeziunea celulară și peptidică.

Brevetul CA 2572127 din 2013 prezintă compoziții pe bază de acid hialuronic reticulat chimic cu un polimer polifuncțional cu structură tip proteină, cu grupe laterale hidrazidice pe lanțul macromolecular. Polimerul este poli( $\alpha,\beta$ -aspartilhidrazida), o macromoleculă biocompatibilă. Materialul preparat prezintă rezistență la degradare chimică și enzimatică și este folosit pentru sisteme aplicate în domeniul biomedical și farmaceutic.

Brevetul WO 2006 / 113407 prezintă matrici suport biomedicale tip hidrogel ce includ acid hialuronic ca unul dintre componente, reticularea realizându-se *in situ* în regiunea cu infarct a inimii de exemplu, printr-o reacție de adiție Michael sau prin legătură disulfidică formată prin proces oxidativ. Matricea suport astfel preparată se poate forma pe un stent sau pe un instrument din medicina cardiacă.

Anhidrida itaconică este un monomer obținut din resurse regenerabile (acid citric prin piroliză sau fermentația carbohidraților cu obținere de acid itaconic urmată de dehidratare). Poate fi polimerizată sau copolimerizată cu alți monomeri prin reacții radicalice. Deoarece formează radicali terțiari cu reactivitate mare este aplicată pentru introducerea de funcționalitate polară în polimeri.

Poli(ortoesterii) sunt o clasă de polimeri biocompatibili și bioerodabili, hidrofobi, cu catena macromoleculară cu legături chimice labile hidrolitic, în care degradarea polimerului poate fi limitată la suprafață, protejând astfel substanța activă în matrice. În catena polimerului există legături esterice în poziție orto-, relativ stabile la pH neutru, dar care hidrolizează progresiv mai

Luise

Luise

rapid cu descreșterea pH-ului mediului înconjurător. Există studii de analiză a biocompatibilității și toxicității *in vitro* și *in vivo* a unor sisteme pe bază de rășini epoxi și monomeri derivați spiro ortoesteri, expandabili în reacțiile de polimerizare cu fotoinițiere, și utilizarea lor potențială pentru compozite dentare. În cazul izomerilor de configurație cis/cis, cis/trans și trans/trans ai 2,3,8,9-di(tetrametilen)-1,5,7,11-tetraoxaspiro-[5,5]undecanului s-au identificat proprietăți acceptabile de citotoxicitate și genotoxicitate, făcându-i candidați promițători pentru materiale tip matrici compozite.

În US Pat 4.212.955 (1980) se exemplifică o compoziție polimerică degradabilă care are în componență cel puțin un ortoester trialchilic ca substanță organică rapid autooxidabilă, aplicabil la ambalaje. Brevetul US Pat 6.258.895 (2001) prezintă sinteza de polimeri cu grupări repetabile spiro ortoesterice, cu aplicabilitate la compozitele dentare de umplură.

În US Pat Application 2008 / 0033140 polimerii poli(ortoesterici) ca și compuși biodegradabili și compozițiile ce includ acești polimeri sunt utili pentru aplicații ca dispozitive medicale și compoziții farmaceutice, cu viteză apreciabilă de hidroliză (utilă în aplicațiile care necesită biodegradare și/sau bioerodare), fără a fi necesară doparea cu substanțe bazice sau acide (ex. lactide și/sau glicolide) pentru a stimula hidroliza.

Astfel de materiale sunt descrise și în exemplul din brevetul US Pat. 4.304.767 din 1981, care prezintă matrici în compoziția cărora intră și poli(ortoesteri), pentru medicamente sau alți agenți bioactivi folosiți în diferite terapii, care în contact cu mediul se degradează și eliberează principiile active.

Brevetul U.S. Pat. 5.461.140 din 1995 se referă la polimeri bioerodabili pe bază de polimeri ortoesterici care clivează în condițiile fiziologice, folosiți la eliberarea controlată a agenților terapeutici.

US Pat Application 2006 / 0008500 exemplifică un sensor implantabil pentru controlul sau inhibarea creșterii unui țesut. Senzorul este prevăzut cu o acoperire biocompatibilă care controlează sau inhibă creșterea de țesut pe / în jurul senzorului. Senzorul poate fi de presiune, poziție, chimic, temperatură sau curgere, introdus subcutanat, percutanat sau chirurgical într-un organ, țesut, lumen, temporar sau permanent, pentru profilaxie sau terapie, sau destinat monitorizării activității fiziologice a organismului. Acoperirea biocompatibilă este o matrice polimerică care poate fi un poli(ortoester). Această matrice poate îngloba un medicament (sirolimus, steroid) sau o altă componentă activă.

Lu  
2.11.16

Lu  
2.11.16

US Pat 6.440.571 din 2002 prezintă o metodă de tratare a suprafeței siliconice a unor dispozitive medicale (lentile de contact, implanturi medicale) în scopul modificării biocompatibilității sau hidrofobiei prin acoperire cu un polimer hidrofili, prin intermediul unei reacții între funcționalitățile reactive din polimer care sunt complementare funcționalităților reactive de pe suprafața dispozitivului medical. Se pot folosi polimeri reactivi hidrofilii cu grupe anhidridice, derivați din monomeri cum ar fi anhidrida itaconică.

US Pat Application 2006/0083710 se referă la un procedeu de obținere a unor materiale cu caracter antimicrobian sau de inhibare a mirosurilor nedorite, care utilizează tehnici de depunere în vid sau cu fascicol de electroni pentru grefarea de grupe funcționale aminice pe materiale polimerice. Se prezintă o gamă largă de monomeri care pot fi utilizați în metoda descrisă, printre care și anhidrida itaconică.

US Pat Application 2003/0077466 prevede tratarea unor produse medicale cu o structură multi strat pe bază de: un poliester ca prim strat, un copolimer cu o structură pe bază de etilenă, cu grad mare de elasticitate. Containerele polimerice flexibile proiectate astfel pot conține, depozita și elibera agenți terapeutici cum ar fi soluții intravenoase, renale, sânge sau produși de sânge. Polietilena din structura containerului poate fi modificată prin grefare de acizi carboxilici, anhidride carboxilice, cum ar fi anhidrida itaconică.

Problema pe care o rezolvă invenția este realizarea unui procedeu de preparare a unei structuri reticulate cu aplicații biomedicale, printr-o reacție de conjugare covalentă a unui copolimer pe bază de anhidridă itaconică și un spiro ortoester în soluție de 1,4-dioxan, cu acid hialuronic în soluție apoasă, sensibilă la stimuli temperatură și pH, care extinde gama de biomateriale. sau de sisteme tip senzor.

Procedeu de preparare a unei structuri reticulate cu aplicații biomedicale conform invenției, sub forma de gel din copolimerul pe baza de monomerii anhidridă itaconică și 3,9-divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5] undecan, conjugat covalent cu acid hialuronic, se realizează în prima etapă sinteza copolimerului printr-o reacție de polimerizare prin alimentare în vasul de reacție a monomerilor în rapoarte molare anhidridă itaconică / 3,9-divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5]undecan = 1 / 0,5 și 1 / 2 în soluție de 1,4-dioxan pentru un conținut teoretic în substanță solidă de maxim 20 %, în prezență de inițiator radicalic 2,2' - azobis(izobutironitril) în proporție de 0,9 % față de cantitatea de monomeri, adăugat în trei etape, la 75°C, sub agitare de 250 rot/min timp de 17 ore, cu răcire, reprecipitare în dietil eter, decantare și uscare în etuva de vid la temperatura camerei, urmată de a doua etapă în care se obține gelul pe bază de copolimer: poli(anhidridă itaconică -co-3,9-divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5] undecan) și acid hialuronic

*Lu*  
dN 130

*Lu*  
2016/00895

printr-o reacție de conjugare covalentă la un raport gravimetric copolimer / acid hialuronic = 1 / 2, la temperatura de 22 °C timp de 24 ore, în regim staționar.

Procedeeul conform invenției prezintă următoarele avantaje :

- Este un procedeu ecologic, fără emanații toxice și energo-economic.
- Este simplu de aplicat pe instalații existente, sigur în exploatare.
- Necesită un număr redus de faze tehnologice.
- Stabilitate la stocare cât și operațională în decursul unei potențiale utilizări a gelului sintetizat.

Se dă în continuare un exemplu de realizare a invenției.

### EXEMPLU

În prima etapă se sintetizează printr-o reacție de copolimerizare în soluție de 1,4-dioxan copolimerul pe bază de anhidridă itaconică (ITA) și 3,9-divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5] undecan (U), cu inițiator radicalic 2,2'-azobis(izobutironitril) (AIBN). Într-o instalație de laborator în sine cunoscută, compusă dintr-un vas de reacție de 100 ml cu fund rotund și trei găuri, echipat cu agitator, condensator de reflux și termometru, plasat în baia de apă pentru încălzire, se alimentează monomerii ITA și U în rapoartele molare  $ITA / U = 1 / 0,5$  și  $1 / 2$ , dispersați în 10 ml dioxan, sub agitare de 250 rotații/minut. Se încălzește sistemul la 75 °C menținând sub agitare pentru solvirea monomerilor. Când temperatura de reacție atinge valoarea de 75 °C se începe adăosul treptat de inițiator radicalic AIBN, o primă cantitate de 0,012 g (0,073 mmol, corespunzător 0,3 % față de cantitatea de monomeri) dizolvat în 2 ml dioxan. După 6 ore durată de reacție se adaugă a doua cantitate de AIBN de 0,012 g (0,073 mmol, corespunzător 0,3 % față de cantitatea de monomeri) dizolvat în 2 ml dioxan, apoi la durată de reacție de 12 ore se adaugă a treia cantitate de AIBN de 0,012 g (0,073 mmol, corespunzător 0,3 % față de cantitatea de monomeri) dizolvat în 1,5 ml dioxan. Conținutul teoretic de substanță solidă în sistem este de maxim 20%. Se continuă reacția pentru durată totală de 17 ore, sub agitare de 250 rotații/minut, la 75 °C; în final se răcește amestecul de reacție menținând agitarea. Copolimerul în soluție se precipită în dietil eter anhidru; se separă precipitatul prin decantare, se rezolvă în dioxan și se reprecipită în dietil eter anhidru, apoi se separă prin decantare. Copolimerii se usucă în etuva de vid la 600 mm Hg și temperatura de 30 °C pentru 24 de ore, pentru îndepărtarea componentelor volatile.

În etapa a doua se prepară gelul din soluțiile de stocare de copolimer ITA-U în 1,4-dioxan (concentrație 20%) și acid hialuronic (HA) în apă (concentrație 1 %). Se folosesc cantități exacte

*Lu  
din us*

*Lu  
munt*

din aceste două soluții în așa fel încât să se păstreze un raport gravimetric de 1 : 2 între copolimer și acidul hialuronic. Se amestecă cele două soluții în recipiente plane și se agită lent (60 rotații / minut) timp de aproximativ 20 – 30 secunde la temperatura ambientală (22° C), timp în care se observă gelifierea treptată a sistemului. Apoi se păstrează în regim staționar pentru 24 ore la temperatura ambientală (22° C) pentru definitivarea procesului de gelifiere. Reacția chimică de conjugare dintre HA și copolimer ITA-U apare spontan la amestecarea celor două soluții de stocare și este realizată prin prezența grupelor hidroxilice din molecula de acid hialuronic care desfac ciclul anhidridic din structura copolimerului.

Urmează separarea compușilor nereacționați prin dializare față de apă distilată și uscare prin liofilizare. Probele de gel preparate, codificate conform **Tabelul 1**, se păstrează în exicator de vid în vederea analizelor și a prelucrării ulterioare prin încapsulare de substanțe bioactive.

**Tabelul 1.** Codificarea probelor de gel preparate

Proba	Raport comonomeri in polimer
1 : HA - (ITA-U) <sub>1:0,5</sub>	ITA:U = 1:0,5
2 : HA - P(ITA-U) <sub>1:2</sub>	ITA:U = 1:2

În concordanță cu cerințele impuse de aplicațiile biomedicale potențiale, probele de gel sunt testate din punct de vedere al comportării termice prin analiza termogravimetrică, umflare dinamică pentru evaluarea gradului de umflare la echilibru, difracția luminii laser pentru determinarea evoluției diametrului hidrodinamic al particulelor cu variația temperaturii și a pH-ului.

În **Tabelul 2** sunt înregistrate principalele caracteristici (intervale de descompunere, temperatura inițială de descompunere, temperatura medie de descompunere, temperatura finală de descompunere, pierderi în greutate) deduse din analiza termogravimetrică realizată pe variantele de copolimer din Tabelul 1.

**Tabelul 2.** Analiza termogravimetrică <sup>x)</sup> a variantelor de gel preparate

Proba	Etape de degradare	T <sub>i</sub> , °C	T <sub>m</sub> , °C	T <sub>f</sub> , °C	ΔW, %	T <sub>10</sub> , °C	T <sub>20</sub> , °C
1	I	117	140	147	6.90	165	195

*Luca*

*Luca*



	II	156	177	216	30.18		
	III	378	428	471	49.55		
	reziduu				13.37		
2	I	109	205	279	37.40	178	215
	II	372	422	470	51.70		
	reziduu				10.90		

x) - Analiza termogravimetrică s-a realizat pe intervalul de temperatură 30 - 600 °C, în azot, cu o viteză de încălzire de 10 ° /minut.  $T_i$ ,  $T_m$ ,  $T_f$  - temperatura inițială, temperatura vitezei maxime de pierdere în greutate și temperatura finală a proceselor principale de descompunere termică;  $\Delta W$  - pierderi în greutate pe intervalul  $T_i - T_f$ ;  $T_{10}$  și  $T_{20}$  - temperatura corespunzătoare pierderilor în greutate de 10%, respectiv 20%.

Proba 1 prezintă două procese principale de degradare termică (II și III) cu importante pierderi în greutate (30,18 și 49,55 %) în timp ce proba 2 prezintă un singur proces de degradare termică (II) cu o pierdere în greutate de 51,70 %.

În funcție de temperatura la care apar 10 % pierderi în greutate ( $T_{10}$ ) și 20 % pierderi în greutate ( $T_{20}$ ), gelul cu o cantitate mai mare de 3,9-divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5] undecan în raport cu anhidrida itaconică în compoziția copolimerului prezintă o stabilitate termică mai bună.

Gradul de umflare la echilibru ( $SD_{ech}$ ) a fost determinat în 1,4-dioxan la 25 ° C. Cantitatea de solvent adsorbită în timp a fost măsurată gravimetric, până la stabilirea echilibrului. Ambele variante de gel preparat ating echilibrul la umflarea dinamică la aproximativ 50 minute de la începerea experimentului; proba 1 cu raportul molar anhidrida itaconică / 3,9-divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5] undecan în compoziția copolimerului = 1 / 0,5 prezintă  $SD_{ech}(50 \text{ minute}) = 325 \%$ , în timp ce proba 2 cu raportul molar anhidrida itaconică / 3,9-divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5] undecan în compoziția copolimerului = 1 / 2 prezintă  $SD_{ech}(50 \text{ minute}) = 60 \%$ . Creșterea conținutului de 3,9-divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5] undecan micșorează capacitatea de a adsorbi apă de către structura reticulată tip gel. Acest aspect influențează capacitatea de încărcare cu agent bioactiv a gelului.

Caracterul dublu sensibil cu temperatura și pH-ul al gelului preparat este o caracteristică importantă pentru sistemele cu eliberare controlată a principiilor bioactive din matricile în care sunt înglobate, sau pentru sistemele tip senzor. Acest caracter este atribuit prezenței grupei spiroacetalice cu o conformație specifică, inclusiv axială mai stabilă, cu o stare de energie mai joasă, care se manifestă atunci când apar variații de temperatură sau de pH; rezultatul este creșterea sau descreșterea

Lu  
2016

Ju  
2016

diametrului hidrodinamic al particulei de gel, de exemplu la 28 și 37 °C, sau pH 5 sau 7 funcție de compoziția copolimerului (**Tabelul 3**).

**Tabelul 3.** Caracterul dublu senyitiv cu temperatura si pH-ul penrtu probele de gel preparate

Proba / Temperatura	Diametru hidrodinamic mediu, nm <sup>x)</sup>	
	28 °C	37 °C
1	395	320
2	5250	1300
Proba / pH	Diametru hidrodinamic mediu, nm	
	5	7
1	750	2000
2	3750	2400

<sup>x)</sup> – Se măsoară folosind tehnica de difracție dinamică a razei laser pe dispozitivul Malvern Nano ZS ZetaSizer device (Malvern Instruments, UK), la 25 °C.

Astfel, la temperatura de 28 °C conformația permite încărcarea cu substanțe bioactive în timp ce la 37 °C este favorizată eliberarea acestora din structura de gel. În același fel, variația pH-ului la 5 sau 7 determină creșterea sau descreșterea diametrului hidrodinamic, cu implicații în procesele de adsorbție sau eliberare de substanțe bioactive.

## REVENDICARE

Procedeu de preparare a unei structuri reticulate cu aplicatii biomedicale sub forma de gel din copolimerul pe baza de monomerii anhidridă itaconică și 3,9-divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5] undecan, conjugat covalent cu acid hialuronic, caracterizat prin aceea că se realizează în prima etapa sinteza copolimerului printr-o reacție de polimerizare prin alimentare în vasul de reacție a monomerilor în rapoarte molare anhidridă itaconică / 3,9-divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5]undecan: 1 / 0,5 și 1 / 2, în soluție de 1,4-dioxan pentru un conținut teoretic în substanță solidă de maxim 20 %, în prezență de inițiator radicalic 2,2' - azobis(izobutironitril) în proporție de 0,9 % față de cantitatea de monomeri, adăugat în trei etape, la 75°C, sub agitare de 250 rot/min timp de 17 ore, cu răcire, reprecipitare în dietil eter, decantare și uscare în etuva de vid la temperatura camerei, urmata de a doua etapa de preparare a gelului pe baza de copolimer poli(anhidridă itaconică – co - 3,9-divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5] undecan) și acid hialuronic printr-o reacție de conjugare covalentă la un raport gravimetric copolimer / acid hialuronic = 1 / 2, la temperatura de 22 ° C timp de 24 ore, în regim staționar, dializare și liofilizare.