



(12)

BREVET DE INVENȚIE

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

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

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/06/2021** BOPI nr. **6/2021**

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

(73) Titular:
• **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**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
EP 1773399 B1; EP 1240212 B1

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



RO 132541 B1

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

 În ultimele decenii domeniul sistemelor polimerice naturale și sintetice care intră în
5 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
7 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,
9 omogenitatea, proprietățile elastice, răspunsul la solicitare, comportarea vâscoelastică în
timp și posibilitatea eliberării controlate de principii active.

11 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
13 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
15 varietate de materiale (naturale sau sintetice) au fost studiate ca potențiale produse ale
ingineriei tisulare a cartilajului articular.

17 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
19 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
21 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
23 varietate de matrici: bureți, rețele și hidrogeluri.

 Hidrogelurile sunt rețele polimerice, alcătuite din polimeri hidrofilii, ce absorb și rețin
25 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
27 medicină și farmacie, dar și în alte domenii tehnice sau agricultură.

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

31 - conținutul de apă și elasticitatea le face similare cu țesutul natural din punct de
vedere al interacțiunilor biologice la nivel molecular;

33 - multe hidrogeluri furnizează suprafețe inerte (pentru diversele dispozitive
implantabile) care previn adsorbția nespecifică a proteinelor (antifouling);

35 - moleculele biologice pot fi legate covalent de hidrogeluri prin intermediul unor reacții
chimice bine controlate;

37 - proprietățile mecanice și gradul de umflare în apă ale hidrogelurilor pot fi proiectate
pentru a răspunde aplicației propuse, de exemplu prin modificarea densității de reticulare;

39 - hidrogelurile pot fi proiectate să-și modifice proprietățile sub acțiunea unor stimuli
externi, cum ar fi temperatura, pH etc.

41 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
43 biomedical: sisteme cu eliberare controlată a medicamentelor, în ingineria tisulară etc. Deși
derivații de acid hialuronic formează soluții cu vâscozitate mare, proprietățile lor mecanice
45 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
47 rezistența mecanică a acestor biomateriale se practică conjugarea cu polimeri sintetici.
Acidul hialuronic poate fi reticulat pentru a se folosi în domeniile chirurgicale și dermatologie
49 ca materiale pentru reconturarea sau reconstrucția țesuturilor.

RO 132541 B1

De exemplu, în brevetul US 8945624 din 2015 un material de umplură cosmetic	1
conține o compoziție polimerică fotoactivată, pe bază de polimer natural - acid hialuronic -	
și un polimer reticulabil modificat, cum ar fi polietilenglicolul sau polietilenoxid diacrilat.	3
Preparatul asigură o compoziție și un contur mai stabile în timpul gelifierii.	
În US 2008/0197324 o compoziție oftalmică antimicrobiană ce conține un copolimer	5
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	7
hialuronic.	
US 7014845 din 2006 se referă la un proces de preparare prin reticulare a unei	9
compoziții pe bază de copolimeri policarboxilici neretulați și cel puțin o polizaharidă ce	
poate fi acidul hialuronic sau derivați de acid hialuronic, cu agent de reticulare ce conține cel	11
puțin două funcții aminice. Acest material este în particular folosit ca suport în compozițiile	
biomedicale și farmaceutice.	13
US 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	15
polifuncțional având structură tip proteină, cu grupe laterale hidrazidice de-a lungul lanțului	
polimeric. Materialele obținute după reticulare suferă o degradare chimică și enzimatică	17
redușe față de acidul hialuronic.	
O altă compoziție sub formă de hidrogel de acid hialuronic și un alginat prezintă	19
brevetul WO 2015/050943 . Biomaterialul realizat conform brevetului se folosește ca matrice	
suport pentru ingineria tisulară la mamifere, localizând celule și alte componente biologice,	21
pentru a promova repararea unui țesut la locul defect. Compoziția permite controlul vitezei	
de gelifiere și timpul de resorbție, realizând adeziunea celulară și peptidică.	23
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	25
lanțul macromolecular. Polimerul este poli(α,β -aspartilhidrazida), o macromoleculă biocom-	
patibilă. Materialul preparat prezintă rezistență la degradare chimică și enzimatică și este	27
folosit pentru sisteme aplicate în domeniul biomedical și farmaceutic.	
Brevetul WO 2006/113407 prezintă matrici suport biomedicale tip hidrogel ce includ	29
acid hialuronic ca unul dintre componente, reticularea realizându-se <i>in situ</i> în regiunea cu	
infarct a inimii de exemplu, printr-o reacție de adiție Michael sau prin legătură disulfidică	31
formată prin proces oxidativ. Matricea suport astfel preparată se poate forma pe un stent sau	
pe un instrument din medicina cardiacă.	33
Anhidrida itaconică este un monomer obținut din resurse regenerabile (acid citric prin	
piroliză sau fermentația carbohidraților cu obținere de acid itaconic urmată de dehidratare).	35
Poate fi polimerizată sau copolimerizată cu alți monomeri prin reacții radicalice. Deoarece	
formează radicali terțiari cu reactivitate mare este aplicată pentru introducerea de funcționali-	37
tate polară în polimeri.	
Poli(ortoesterei) sunt o clasă de polimeri biocompatibili și bioerodabili, hidrofobi, cu	39
catena macromoleculară cu legături chimice labile hidrolitic, în care degradarea polimerului	
poate fi limitată la suprafață, protejând astfel substanța activă în matrice. În catena polime-	41
rului există legături esterice în poziție <i>orto</i> -, relativ stabile la pH neutru, dar care hidrolizează	
progresiv mai rapid cu descreșterea pH-ului mediului înconjurător. Există studii de analiză	43
a biocompatibilității și toxicității <i>in vitro</i> și <i>in vivo</i> a unor sisteme pe bază de rășini epoxi și	
monomeri derivați spiro ortoesterei, expandabili în reacțiile de polimerizare cu fotoinițiere, și	45
utilizarea lor potențială pentru compozite dentare. În cazul izomerilor de configurație <i>cis/cis</i> ,	

RO 132541 B1

1 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 candidații
3 promițători pentru materiale tip matrici compozite.

În **US 4212955** (1980) se exemplifică o compoziție polimerică degradabilă care are
5 în componență cel puțin un ortoester trialchilic ca substanță organică rapid autooxidabilă,
aplicabil la ambalaje. Brevetul **US 6258895** (2001) prezintă sinteza de polimeri cu grupări
7 repetabile spiro ortoesterice, cu aplicabilitate la compozitele dentare de umplutură.

În **US 2008/0033140** polimerii poli(ortoesterici) ca și compuși biodegradabili și
9 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
11 biodegradare și/sau bioerodare), fără a fi necesară doparea cu substanțe bazice sau acide
(exemplu: lactide și/sau glicolide) pentru a stimula hidroliza.

13 Astfel de materiale sunt descrise și în exemplul din brevetul **US 4304767** din 1981,
care prezintă matrici în compoziția cărora intră și poli(ortoesteri), pentru medicamente sau
15 alți agenți bioactivi folosiți în diferite terapii, care în contact cu mediul se degradează și
eliberează principiile active.

17 Brevetul **US 5461140** din 1995 se referă la polimeri bioerodabili pe bază de polimeri
ortoesterici care clivează în condițiile fiziologice, folosiți la eliberarea controlată a agenților
19 terapeutici.

US 2006/0008500 exemplifică un sensor implantabil pentru controlul sau inhibarea
21 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,
23 chimic, temperatură sau curgere, introdus subcutanat, percutanat sau chirurgical într-un
organ, țesut, lumen, temporar sau permanent, pentru profilaxie sau terapie, sau destinat
25 monitorizării activității fiziologice a organismului. Acoperirea biocompatibilă este o matrice
polimerică care poate fi un poli(ortoester). Această matrice poate îngloba un medicament
27 (sirolimus, steroid) sau o altă componentă activă.

US 6440571 din 2002 prezintă o metodă de tratare a suprafeței siliconice a unor dis-
29 pozitive medicale (lentile de contact, implanturi medicale) în scopul modificării biocom-
patibilității sau hidrofobiei prin acoperire cu un polimer hidrofil, prin intermediul unei reacții
31 între funcționalitățile reactive din polimer care sunt complementare funcționalităților reactive
de pe suprafața dispozitivului medical. Se pot folosi polimeri reactivi hidrofili cu grupe
33 anhidrice, derivați din monomeri cum ar fi anhidrida itaconică.

US 2006/0083710 se referă la un procedeu de obținere a unor materiale cu caracter
35 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
37 polimerice. Se prezintă o gamă largă de monomeri care pot fi utilizați în metoda descrisă,
printre care și anhidrida itaconică.

39 **US 2003/0077466** prevede tratarea unor produse medicale cu o structură multistrat
pe bază de un poliester ca prim strat, un copolimer cu o structură pe bază de etilenă, cu grad
41 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
43 sânge. Polietilena din structura containerului poate fi modificată prin grefare de acizi
carboxilici, anhidride carboxilice, cum ar fi anhidrida itaconică.

RO 132541 B1

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.

Procedeul de preparare a unei structuri reticulate cu aplicații biomedicale conform invenției, înlătură dezavantajele de mai sus prin aceea că în prima etapă se realizează sinteza copolimerului printr-o reacție de polimerizare prin alimentare în vasul de reacție a monomerilor în rapoarte molare de 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 maximum 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 h, cu răcire, reprecipitare în dietil eter, decantare și uscare în etuva de vid la temperatura camerei, urmată de a doua etapă de preparare a gelului pe bază 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 h, în regim staționar, dializare și liofilizare.

Procedeul 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 rot/min. 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 h 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 h 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 maximum 20%. Se continuă reacția pentru durată totală de 17 h, sub agitare de 250 rot/min, la 75°C; în final se răcește amestecul de reacție menținând agitare. 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 h, pentru îndepărtarea componentelor volatile.

RO 132541 B1

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 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 rot/min) timp de aproximativ 20-30 sec la temperatura ambientală (22°C), timp în care se observă gelifierea treptată a sistemului. Apoi se păstrează în regim staționar pentru 24 h 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 apa 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.

Codificarea probelor de gel preparate

Tabelul 1

Proba	Raport comonomeri în polimer
1:HA-(ITA-U) _{1:0,5}	ITA:U = 1:0,5
2:HA-P(ITA-U) _{1,2}	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.

Analiza termogravimetrică^{x)} a variantelor de gel preparate

Tabelul 2

Proba	Etape de degradare	T _i , °C	T _m , °C	T _f , °C	ΔW, %	T ₁₀ , °C	T ₂₀ , °C
1	I	117	140	147	6,90	165	195
	II	156	177	216	30,18		
	III reziduu	378	428	471	49,55 13,37		
2	I	109	205	279	37,40	178	215
	II reziduu	372	422	470	51,70 10,90		

x-) - Analiza termogravimetrică s-a realizat pe intervalul de temperatură 30-600°C, în azot cu o viteză de încălzire de 10°/min. T_i, T_m, T_f - temperatura inițială, temperatura vitezei maxime de pierdere în greutate și temperatura finală a proceselor principale de descompunere termică; ΔW - pierderi în greutate pe intervalul T_i - T_f; T₁₀ și T₂₀ - temperatura corespunzătoare pierderilor în greutate de 10%, respectiv 20%.

RO 132541 B1

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 min 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 $SD_{ech}(50 \text{ min}) = 325\%$, 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 $SD_{ech}(50 \text{ min}) = 60\%$. Creșterea conținutului de 3,9-divinil-2,4,8,10-tetra-oxaspiro[5.5] undecan micșorează capacitatea de a adsorbi apa 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 diametrului hidrodinamic al particulei de gel, de exemplu la 28 și 37°C, sau pH 5 sau 7 funcție de compoziția copolimerului (tabelul 3).

Caracterul dublu sensibil cu temperatura și pH-ul pentru probele de gel preparate

Tabelul 3

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

^{x)} - 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.

1

Revendicare

3

Procedeu de preparare a unei structuri reticulate cu aplicații 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 de 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 maximum 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 h, cu răcire, reprecipitare în dietil eter, decantare și uscare în etuva de vid la temperatura camerei, urmată de a doua etapă de preparare a gelului pe bază 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 h, în regim staționar, dializare și liofilizare.

5

7

9

11

13

15



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 270/2021