



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2017 00105

(22) Data de depozit: 23/02/2017

(41) Data publicării cererii:  
30/08/2018 BOPI nr. 8/2018

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

(72) Inventatori:  
• RADU ANITA LAURA,  
INTRAREA CUCURUZULUI NR. 20,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;  
• ZAHARIA ANAMARIA,  
STR. SERGENT GHEORGHE TACHE  
NR. 8, BL. B44, SC. 1, ET. 4, AP. 14,  
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;

• SÂRBU ANDREI, STR.VALEA OLTULUI  
NR. 16, BL.A 28, SC.C, ET. 2, AP.37,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;  
• TEODORESCU SAVA MIRCEA,  
CALEA VĂCĂREȘTI NR.220-224, BL.69 B,  
SC.2, ET.7, AP.58, SECTOR 4,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• CURSARU BOGDAN,  
CALEA DOROBANȚILOR NR. 248, AP. 3,  
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;  
• SPATARELU PAULA CATALINA,  
STR. CAMELIEI, NR.16, BL.30, AP.90, SC.E,  
PLOIEȘTI, PH, RO;  
• SANDU TEODOR, STR. PARÂNGULUI  
NR. 43A, ET. 1, AP. 4, SECTOR 1,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• IORDACHE TANȚA-VERONA,  
ALEEA DOLINA, NR.6, BL.70, SC.1, AP.4,  
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO

(54) HIBRIDE ANORGANIC-ORGANICE PE BAZĂ  
DE NANOZEOLIȚI ȘI NANOGELURI, PENTRU ELIBERAREA  
CONTROLATĂ DE MEDICAMENTE, ȘI PROCEDEU  
DE OBTINERE A ACESTORA

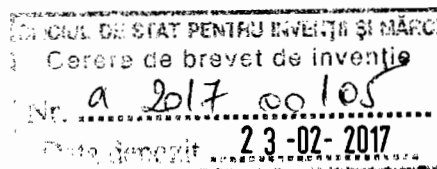
(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor hibride anorganic-organice pe bază de nanozeoliți și nanogeluri utilizate ca suporturi pentru eliberarea controlată a medicamentelor. Procedeu, conform invenției, constă în aceea că zeolitul natural de tip clinoptilonit este îmbibat cu o soluție de dimetil sulfoxid, 5-fluorouracil sau diclofenac sodic, până la un raport masic medicament:zeolit de 1:1...1:3, după care se adaugă o soluție apoasă de diacrilat de polietilenglicol conținând reducătorul tetrametilediamină, faza apoasă se picură sub agitare în ciclohexan, conținând doi

emulgatori uzuali, apoi se picură o soluție apoasă conținând oxidantul sistemului redox de inițiere persulfat de amoniu sub agitare, urmată de polimerizare în emulsie inversă la temperatura de 20...30°C, după care masa de reacție este centrifugată, partea solidă este spălată cu ciclohexan și liofilizată, rezultând nano xero geluri zeolitice cu medicament încapsulat având o dimensiune de 10...180 nm.

Revendicări: 3





## **HIDRIDE ANORGANIC- ORGANICE PE BAZĂ DE NANOZEOLIȚI ȘI NANOGELURI, PENTRU ELIBERAREA CONTROLATĂ DE MEDICAMENTE ȘI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTORA**

Prezenta invenție se referă la hibride anorganic-organice pe bază de nanozeoliți și nanohidrogeluri pentru eliberarea controlată de medicamente și la un procedeu de obținere a acestora cu aplicații în domeniul biomedical. Este cunoscută folosirea zeoliților naturali și sintetici ca rezervoare pentru eliberarea controlată de medicamente. Astfel, în [Ahmad Ainurofiq and Syaiful Choir, Drug Release Mechanism of Slightly Soluble Drug from Nanocomposite Matrix Formulated with Zeolite/Hydrotalcite as Drug Carrier, Tropical Journal of Pharmaceutical Research July 2015; 14 (7): 1129-1135], se descrie utilizarea zeolitului natural ca suport pentru eliberarea controlată a teofilinei. Dezavantajul acestei metode constă în faptul că, deoarece se utilizează zeolitul nemodificat, eliberarea medicamentului se face prea rapid. În vederea creșterii duratei de eliberare a medicamentului din porii zeolitului s-a propus tratarea suprafeței porilor. Astfel, în [Haoyu Zhang, Yanghee Kim, Prabir K. Dutta, Controlled release of paraquat from surface-modified zeolite Y, Microporous and Mesoporous Materials 88 (2006) 312–318] se descrie tratarea suprafeței porilor zeolitului sintetic Y cu 1,1,3,3-tetrametildisilazan,  $\text{HN}(\text{SiHMe}_2)_2$ . Dezavantajul acestei metode este că se lucrează cu un zeolit sintetic, care are pori mezoporoși, și cu tot tratamentul efectuat, viteza de eliberare a medicamentului este prea mare.

În brevetul [US 7,749,521] se descrie tratarea unui zeolit mezoporos cu un surfactant cationic sau cu un tribloc copolimer, conținând polietilenglicol (PEG). Dezavantajul acestei metode este că lucrând cu un zeolit mezoporos, tratamentul cu surfactant și triblocopolimer, nu asigură o durată suficientă de eliberare a medicamentului. Pentru a mări durata de eliberare a medicamentului s-a propus realizarea unei sinergii, între efectul de reținere a medicamentului în porii zeolitului cu efectul de reținere în structura poroasă a unui hidrogel. Astfel, în [Nophawan Paradee, Anuvat Sirivat, Encapsulation of Folic Acid in Zeolite Y for Controlled Release via Electric Field, Mol. Pharmaceutics, 2016, 13 (1), pp 155–162] se descrie introducerea medicamentului într-un zeolit sintetic în prezența unui hidrogel natural: alginat. Dezavantajul acestei metode este că utilizând un hidrogel natural nu se poate asigura o dimensiune suficient de mică a particulelor (nano sau micro) și utilizarea unui zeolit sintetic, mezoporos nu asigură o durată de eliberare suficient de mare a medicamentului.

În [Saman Sotoudeh, Aboulfazl Barati, Reza Davarnejad, Mohammad Aliabadi Farahani, Antibiotic Release Process from Hydrogel Nano Zeolite Composites, Middle-East Journal of Scientific Research 12 (3): 392-396, 2012] se descrie încapsularea medicamentului în zeolit A (un zeolit sintetic în forma sodiu) care la rândul lui este încapsulat într-un hidrogel. Hidrogelul este format din polietilenglicol, acrilamidă și N,N' metilenbisacrilamidă, prin polimerizarea în soluție apoasă în prezența sistemului de inițiere persulfat de amoniu - tetrametilendiamină (TMEDA). Dezavantajul acestei metode este că se utilizează un zeolit sintetic (mezoporos), nu se obțin nano sau microparticule iar utilizarea în cantitate însemnată a acrilamidei (care este cancerigenă) nu recomandă aceste hidrogeluri pentru scopuri biomedicale. În [US Patent Application 20150147378] se descrie încapsularea unor medicamente în hidrogeluri de tipul tirozina-poli(alchilen glicol)-derivat de poli(etercarbonat) sau de tipul policarbonat conținând un ester de tirozină și polietilenglicol. Dezavantajul acestei metode este că utilizează hidrogeluri cu structură complicată, implicând substanțe scumpe (de exemplu tirozina). În plus, din descrierea patentului nu rezultă că se obțin nano sau microparticule.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în obținerea de hibride anorganic-organice pe bază de nanozeoliți și nanogeluri, adecvate pentru utilizarea ca suporturi pentru eliberarea controlată a medicamentelor într-un timp mai îndelungat, asigurându-se efectul medicamentului pe o perioadă mai mare, care se prepară prin îmbibarea medicamentului în nanozeolit natural de tip clinoptilonit, dizolvarea diacrilatului de polietilenglicol (PEGDA) în apă, introducerea în soluția de PEGDA a reducătorului sistemului de inițiere redox (TMEDA), adăugarea soluției de PEGDA peste nanozeolitul îmbibat și picurarea fazei apoase astfel obținute în mediul continuu organic, aflat sub agitare, constând din ciclohexan conținând 2 emulgatori: Span 80 (polietilenglicol sorbitan monooleat) și Tween 60 (polietilenglicol sorbitan monostearat). La sfârșitul picurării, se începe picurarea în mediul continuu aflat sub agitare a unei a doua soluții apoase, care conține oxidantul sistemului de inițiere: persulfat de amoniu (APS). După terminarea picurării și a celei de a 2-a soluții se continuă agitarea la o temperatură apropiată de cea a camerei (20-30 °C), pentru polimerizare. La sfârșitul duratei de polimerizare masa de reacție este centrifugată, iar partea solidă este spălată cu ciclohexan și în final produsul este uscat prin liofilizare.

Invenția înlătură dezavantajele procedeelelor menționate anterior prin aceea că nanozeoliții din zeolit natural, de tip clinoptilonit, având în componența lor medicament: 5- fluorouracil sau diclofenac sodic sunt încapsulați în nanohidrogeluri de diacrilat de polietilenglicol (PEGDA), PEGDA fiind produs dintr-un singur sort de PEG având masa moleculară în domeniul de 500- 4000 Da, raportul masic între medicament și zeoliti fiind în domeniul 1:1-1:3, se obțin printr-un procedeu în care zeolitul este îmbibat, timp de 8-24 ore, cu o soluție în dimetilsulfoxid (DMSO) cu concentrație de 10-30 % 5- fluorouracil sau diclofenac sodic sau în alcool etilic p.a (EtOH) cu concentrația de 2,5-3,5 % diclofenac sodic, astfel încât raportul masic între medicament și zeolit să fie de 1:1- 1:3. Simultan se prepară o soluție apoasă de PEGDA (având masa moleculară a PEG de 500- 4000 Da) cu concentrația de 10-25 % și conținând 0,7-2,0 % reducător tetrametilendiamină (TMEDA), se adaugă soluția apoasă de PEGDA cu reducător peste nanozeolitul îmbibat, astfel încât raportul între PEGDA și nanozeolit să fie de 33: 1 - 100: 1 și se amestecă bine, obținându-se o fază apoasă (1), se prepară apoi o altă fază apoasă (2) reprezentată de o soluție cu concentrația de 10 - 15 % oxidant persulfat de amoniu (APS) și se mai prepară și o fază organică (3) formată dintr-o soluție de ciclohexan conținând 8-12 % Span 80 și 1-5 % Tween 60, se introduce soluția de ciclohexan în vasul de reacție și se purjează cu azot toate cele 3 faze și vasul de reacție, timp de câte 10-15 minute, se pornește o agitare foarte energetică a fazei organice (3) și se picură în ea faza apoasă (1), la un raport volumetric fază apoasă : soluție organică de 1:4 - 1:10, după care se picură o cantitate din faza apoasă (2) în mediul de reacție, astfel încât să se realizeze un raport masic între APS și TMEDA de 0,7 - 1,5, se continuă agitarea la temperatura de 22-30 °C timp de 18-48 ore, sub azot, după care masa de reacție se centrifughează timp de 15-20 minute cu o centrifugă având turația de 7.000-9.000 rot/ minut, supernatantul este îndepărtat, iar partea solidă este resuspendată în ciclohexan (spălare) la un raport de flotă lichid: solid de 10:1- 30:1 și se recentrifughează timp de 15-20 minute cu o aceeași centrifugă și la aceeași turație, iar solidul spălat este uscat prin liofilizare. Alternativ, în loc de a utiliza un singur sort de PEGDA, cu o anumită masă moleculară se pot utiliza amestecuri de PEGDA cu diferite mase moleculare (situate însă în domeniul 500- 4000 Da).

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- Se folosesc materii prime ieftine;
- Datorită microporilor zeolitelui natural și încapsulării în hidrogel durata de eliberare a medicamentului este mare;
- Nu se folosesc în sinteză substanțe toxice, cum ar fi acrilamida;
- Atât zeolitul natural cât și hidrogelul pe bază de PEGDA sunt biocompatibile;

- Se obțin nano sau microgeluri cu posibilitatea de utilizare medicală prin injectare sau ingerare;
- Datorită inițierii cu un sistem redox, reacția de polimerizare se produce în jurul temperaturii camerei, evitând consumul energetic pentru încălzirea masei de reacție și prevenind degradarea emulgatorilor;
- Nu este necesară o aparatură specială;
- Nu sunt prezente probleme deosebite de protecție a mediului de lucru.

Se dau în continuare exemple de realizare a invenției:

#### Exemplul 1:

Într-un flacon Eppendorf de 5 mL se cântăresc 6 mg nanozeolit de tip clinoptilonit, cu dimensiunea de cca 90 nm. Într-un pahar Erlenmeyer de 10 mL se cântăresc 0,1 g de 5-fluorouracil și se adaugă 0,9 mL DMSO. Se introduce în paharul Erlenmeyer o bară magnetică teflonată și se pune paharul pe un agitator magnetic. Se pornește agitarea la temperatura camerei (cca 22 °C), și se menține agitarea până la obținerea unei soluții clare a medicamentului. Se iau din aceasta soluție 54 μL și se adaugă în flaconul Eppendorf conținând nanozeolitul. Se închide flaconul Eppendorf și se introduce într-o baie de ultrasonare în funcțiune, unde se lasă la temperatura camerei, timp de 8 ore, pentru îmbibarea zeolitelui cu medicament. În paralel, într-un pahar Erlenmeyer de 10 mL se introduc 0,6 g PEGDA, cu masa moleculară a PEG de 500 Da, și 1,8 mL apă distilată. Se introduce în pahar o bară magnetică teflonată și se pune paharul Erlenmeyer pe un agitator magnetic. Se pornește agitarea care se menține până la completa dizolvare a PEGDA. Apoi, peste soluția de PEGDA se adaugă 4,2 μL TMEDA și se omogenizează soluția. Această soluție se introduce în flaconul Eppendorf conținând zeolitul îmbibat, formând astfel faza apoasă (1). Într-un flacon de 10 mL se introduc 0,5 g APS, peste care se adaugă 4,5 mL apă și se agită până la completa dizolvare a APS. Se obține astfel faza apoasă (2). Într-un balon cu fund plat, de 100 mL cu 2 găuri, se adaugă 1,2343 g Span 80, 0,1543 g Tween 60 și 18 mL ciclohexan. Se introduce în balon o bară magnetică teflonată și balonul se introduce într-un cristalizor cu apă, amplasat pe un agitator magnetic cu placă de încălzire. Se reglează temperatura apei din cristalizor la 30 °C și se pornește o agitare energetică. În momentul când cei 2 emulgatori s-au dizolvat, se pun dopuri de cauciuc la cele 2 găuri ale balonului și se oprește agitarea. Prin dopul de cauciuc din gâtul lateral se introduce un cateter și se începe o ușoară barbotare de azot în lichidul din balon, timp de 10 minute. În paralel, se face o ușoară barbotare de azot și în vasele conținând fazele apoase (1) și (2). La sfârșitul perioadei de deaerare se scoate din lichid cateterul din dopul lateral și se menține vasul de reacție sub pernă de azot. În dopul de cauciuc de la gâtul central se introduce un ac al unei seringi cu capacitatea de 5 mL. Se ia cu seringă din flaconul Eppendorf, faza apoasă (1) și se picură prin dopul central în balonul de reacție aflat sub agitare energetică. La sfârșitul picurării se ia o cantitate de 33 μL din paharul conținând faza apoasă (2) și se picură în balonul cu fund plat, aflat sub agitare. La sfârșitul picurării fazei apoase (2) se scoate acul seringii din dopul de cauciuc și se lasă balonul cu dopurile de cauciuc montate, timp de 18 ore, sub agitare, la temperatura de 30 °C, pentru polimerizarea în emulsie inversă. La sfârșitul duratei de polimerizare, se scoate masa de reacție și se introduce în tuburile unei centrifuge. Se pornește centrifugarea la turația de 9000 rot/min, timp de 15 minute. Se îndepărtează supernatantul și se adaugă o cantitate de 18 mL ciclohexan proaspăt, peste solid. Se amestecă bine solidul cu solventul și se face o nouă centrifugare în aceleași condiții cu prima, în vederea spălării. La sfârșitul spălării se îndepărtează supernatantul, iar partea solidă se liofilizează. Se obțin astfel nano xero geluri zeolitice cu medicament încapsulat cu dimensiunea de cca 150 nm.

#### Exemplul 2

Într-un flacon Eppendorf de 5 mL se cântăresc 6 mg nanozeolit de tip clinoptilonit, cu dimensiunea de cca 100 nm. Într-un pahar Erlenmeyer de 10 mL se cântăresc 0,2 g de diclofenac sodic și se adaugă 510  $\mu$ L DMSO. Se introduce în paharul Erlenmeyer o bară magnetică teflonată și se pune paharul pe un agitator magnetic. Se pornește agitarea la temperatura camerei (cca 22 °C), și se menține agitarea până la obținerea unei soluții clare a medicamentului. Se iau din această soluție 15,3  $\mu$ L și se adaugă în flaconul Eppendorf conținând nanozeolitul. Se închide flaconul Eppendorf și se lasă la temperatura camerei, timp de 24 ore, pentru îmbibarea zeolitului cu medicament. În paralel, într-un pahar Erlenmeyer de 10 mL se introduc 0,6 g PEGDA, cu masa moleculară a PEG de 700 Da și 1,8 mL apă distilată. Se introduce în pahar o bară magnetică teflonată și se pune paharul Erlenmeyer pe un agitator magnetic. Se pornește agitarea, care se menține până la completa dizolvare a PEGDA. Apoi, peste soluția de PEGDA se adaugă 120  $\mu$ L TMEDA și se omogenizează soluția. Această soluție se introduce în flaconul Eppendorf conținând zeolitul îmbibat, formând astfel faza apoasă (1). Într-un flacon de 10 mL se introduc 0,5 g APS, peste care se adaugă 2,83 mL apă și se agită până la completa dizolvare a APS. Se obține astfel faza apoasă (2). Într-un balon cu fund plat, de 100 mL cu 2 găuri, se adaugă 1,2343 g Span 80, 0,1543 g Tween 60 și 18 mL ciclohexan. Se introduce în balon o bară magnetică teflonată și balonul se introduce într-un cristalizor cu apă, amplasat pe un agitator magnetic cu placă de încălzire. Se reglează temperatura apei din cristalizor la 22 °C și se pornește o agitare energetică. În momentul când cei 2 emulgatori s-au dizolvat, se pun dopuri de cauciuc la cele 2 găuri ale balonului și se oprește agitarea. Prin dopul de cauciuc din gâtul lateral se introduce un cateter și se începe o ușoară barbotare de azot în lichidul din balon, timp de 10 minute. În paralel, se face o ușoară barbotare de azot și în vasele conținând fazele apoase (1) și (2). La sfârșitul perioadei de deaerare se scoate din lichid cateterul din dopul lateral și se menține vasul de reacție sub pernă de azot. În dopul de cauciuc de la gâtul central se introduce un ac al unei seringi cu capacitatea de 5 mL. Se ia cu seringă din flaconul Eppendorf, faza apoasă (1) și se picură prin dopul central în balonul de reacție aflat sub agitare energetică. La sfârșitul picurării se ia o cantitate de 0,33 mL din paharul conținând faza apoasă (2) și se picură în balonul cu fund plat, aflat sub agitare. La sfârșitul picurării fazei apoase (2) se scoate acul seringii din dopul de cauciuc și se lasă balonul cu dopurile de cauciuc montate, timp de 48 ore sub agitare, la temperatura de 25 °C, pentru polimerizarea în emulsie inversă. La sfârșitul duratei de polimerizare, se scoate masa de reacție și se introduce în tuburile unei centrifuge. Se pornește centrifugarea la turația de 9000 rot/min, timp de 15 minute. Se îndepărtează supernatantul și se adaugă o cantitate de 6 mL ciclohexan proaspăt, peste solid. Se amestecă bine solidul cu solventul și se face o nouă centrifugare în aceleași condiții cu prima, în vederea spălării. La sfârșitul spălării se îndepărtează supernatantul, iar partea solidă se liofilizează. Se obțin astfel nano xero geluri zeolitice cu medicament încapsulat cu dimensiunea de cca 10 nm.

### Exemplul 3:

Într-un flacon Eppendorf de 5 mL se cântăresc 6 mg nanozeolit de tip clinoptilonit, cu dimensiunea de cca 100 nm. Într-un pahar Erlenmeyer de 10 mL se cântăresc 50 mg de diclofenac sodic și se adaugă 2,5 mL EtOH. Se introduce în paharul Erlenmeyer o bară magnetică teflonată și se pune paharul pe un agitator magnetic. Se pornește agitarea la temperatura camerei (cca 22 °C), și se menține agitarea până la obținerea unei soluții clare a medicamentului. Se ia din această soluție 100  $\mu$ L și se adaugă în flaconul Eppendorf conținând nanozeolitul. Se închide flaconul Eppendorf și se introduce într-o baie de ultrasonare în funcțiune, unde se lasă la temperatura camerei, timp de 12 ore, pentru îmbibarea zeolitului cu medicament. În paralel, într-un pahar Erlenmeyer de 10 mL se

introduc 0,2 g PEGDA, cu masa moleculară a PEG de 4000 și 1,13 mL apă distilată. Se introduce în pahar o bară magnetică teflonată și se pune paharul Erlenmeyer pe un agitator magnetic. Se pornește agitarea care se menține până la completa dizolvare a PEGDA. Apoi, peste soluția de PEGDA se adaugă 4  $\mu$ L TMEDA și se omogenizează soluția. Această soluție se introduce în flaconul Eppendorf conținând zeolitul îmbibat, formând astfel faza apoasă (1). Într-un flacon de 10 mL se introduc 0,5 g APS, peste care se adaugă 4,5 mL apă și se agită până la completa dizolvare a APS. Se obține astfel faza apoasă (2). Într-un balon cu fund plat, de 100 mL cu 2 găuri, se adaugă 1,4705 g Span 80, 0,6127 g Tween 60 și 9 mL ciclohexan. Se introduce în balon o bară magnetică teflonată și balonul se introduce într-un cristalizor cu apă, amplasat pe un agitator magnetic cu placă de încălzire. Se reglează temperatura apei din cristalizor la 25 °C și se pornește o agitare energetică. În momentul când cei 2 emulgatori s-au dizolvat, se pun dopuri de cauciuc la cele 2 găuri ale balonului și se oprește agitarea. Prin dopul de cauciuc din gâtul lateral se introduce un cateter și se începe o ușoară barbotare de azot în lichidul din balon, timp de 15 minute. În paralel, se face o ușoară barbotare de azot și în vasele conținând fazele apoase (1) și (2). La sfârșitul perioadei de dezaerare se scoate din lichid cateterul din dopul lateral și se menține vasul de reacție sub pernă de azot. În dopul de cauciuc de la gâtul central se introduce un ac al unei seringi cu capacitatea de 5 mL. Se ia cu seringă din flaconul Eppendorf, faza apoasă (1) și se picură prin dopul central în balonul de reacție aflat sub agitare energetică. La sfârșitul picurării se ia o cantitate de 54  $\mu$ L din paharul conținând faza apoasă (2) și se picură în balonul cu fund plat, aflat sub agitare. La sfârșitul picurării fazei apoase (2) se scoate acul seringii din dopul de cauciuc și se lasă balonul cu dopurile de cauciuc montate, timp de 36 ore, sub agitare, la temperatura de 25 °C, pentru polimerizarea în emulsie inversă. La sfârșitul duratei de polimerizare, se scoate masa de reacție și se introduce în tuburile unei centrifuge. Se pornește centrifugarea la turația de 7000 rot/min, timp de 20 minute. Se îndepărtează supernatantul și se adaugă o cantitate de 6 mL ciclohexan proaspăt, peste solid. Se amestecă bine solidul cu solventul și se face o nouă centrifugare în aceleași condiții cu prima, în vederea spălării. La sfârșitul spălării se îndepărtează supernatantul, iar partea solidă se liofilizează. Se obțin astfel nano xero geluri zeolitice cu medicament încapsulat cu dimensiunea de cca 170 nm.

#### Exemplul 4

Într-un flacon Eppendorf de 5 mL se cântăresc 6 mg nanozeolit de tip clinoptilonit, cu dimensiunea de cca 90 nm. Într-un pahar Erlenmeyer de 10 mL se cântăresc 60 mg de 5-fluorouracil și se adaugă 309  $\mu$ L DMSO. Se introduce în paharul Erlenmeyer o bară magnetică teflonată și se pune paharul pe un agitator magnetic. Se pornește agitarea la temperatura camerei (cca 22 °C), și se menține agitarea până la obținerea unei soluții clare a medicamentului. Se iau din această soluție 20,6  $\mu$ L și se adaugă în flaconul Eppendorf conținând nanozeolitul. Se închide flaconul Eppendorf și se lasă la temperatura camerei, timp de 20 ore, pentru îmbibarea zeolitului cu medicament. În paralel, într-un pahar Erlenmeyer de 10 mL se introduc 0,2 g PEGDA, cu masa moleculară a PEG de 4000 și 1,8 mL apă distilată. Se introduce în pahar o bară magnetică teflonată și se pune paharul Erlenmeyer pe un agitator magnetic. Se pornește agitarea, care se menține până la completa dizolvare a PEGDA. Apoi, peste soluția de PEGDA se adaugă 4  $\mu$ L TMEDA și se omogenizează soluția. Această soluție se introduce în flaconul Eppendorf conținând zeolitul îmbibat, formând astfel faza apoasă (1). Într-un flacon de 10 mL se introduc 0,5 g APS, peste care se adaugă 2,83 mL apă și se agită până la completa dizolvare a APS. Se obține astfel faza apoasă (2). Într-un balon cu fund plat, de 100 mL cu 2 găuri, se adaugă 0,4937 g Span 80, 0,1206g Tween 60 și 7,2 mL ciclohexan. Se introduce în balon o bară magnetică teflonată și balonul se introduce într-un cristalizor cu apă, amplasat pe un agitator magnetic cu placă de încălzire. Se reglează

temperatura apei din cristalizor la 27 °C și se pornește o agitare energetică. În momentul când cei 2 emulgatori s-au dizolvat, se pun dopuri de cauciuc la cele 2 gâturi ale balonului și se oprește agitare. Prin dopul de cauciuc din gâtul lateral se introduce un cateter și se începe o ușoară barbotare de azot în lichidul din balon, timp de 15 minute. În paralel, se face o ușoară barbotare de azot și în vasele conținând fazele apoase (1) și (2). La sfârșitul perioadei de dezaerare se scoate din lichid cateterul din dopul lateral și se menține vasul de reacție sub pernă de azot. În dopul de cauciuc de la gâtul central se introduce un ac al unei seringi cu capacitatea de 5 mL. Se ia cu seringă din flaconul Eppendorf, faza apoasă (1) și se picură prin dopul central în balonul de reacție aflat sub agitare energetică. La sfârșitul picurării se ia o cantitate de 16 μL din paharul conținând faza apoasă (2) și se picură în balonul cu fund plat, aflat sub agitare. La sfârșitul picurării fazei apoase (2) se scoate acul seringii din dopul de cauciuc și se lasă balonul cu dopurile de cauciuc montate, timp de 24 ore sub agitare, la temperatura de 27 °C, pentru polimerizarea în emulsie inversă. La sfârșitul duratei de polimerizare, se scoate masa de reacție și se introduce în tuburile unei centrifuge. Se pornește centrifugarea la turația de 7000 rot/min, timp de 20 minute. Se îndepărtează supernatantul și se adaugă o cantitate de 6 mL ciclohexan proaspăt, peste solid. Se amestecă bine solidul cu solventul și se face o nouă centrifugare în aceleași condiții cu prima, în vederea spălării. La sfârșitul spălării se îndepărtează supernatantul, iar partea solidă se liofilizează. Se obțin astfel nano xero geluri zeolitice cu medicament încapsulat cu dimensiunea de cca 160 nm.

#### Exemplu 5

Într-un flacon Eppendorf de 5 mL se cântăresc 6 mg nanozeolit de tip clinoptilonit, cu dimensiunea de cca 100 nm. Într-un pahar Erlenmeyer de 10 mL se cântăresc 0,2 g de diclofenac sodic și se adaugă 424 μL DMSO. Se introduce în paharul Erlenmeyer o bară magnetică teflonată și se pune paharul pe un agitator magnetic. Se pornește agitare la temperatura camerei (cca 22 °C), și se menține agitare până la obținerea unei soluții clare a medicamentului. Se iau din această soluție 4,2 μL și se adaugă în flaconul Eppendorf conținând nanozeolitul. Se închide flaconul Eppendorf și se lasă la temperatura camerei, timp de 24 ore, pentru îmbibarea zeolitelor cu medicament. În paralel, într-un pahar Erlenmeyer de 10 mL se introduc 0,2 g PEGDA, din care 0,1 g cu masa moleculară a PEG de 4000 și 0,1 g cu masa moleculară a PEG de 500 și 1,8 mL apă distilată. Se introduce în pahar o bară magnetică teflonată și se pune paharul Erlenmeyer pe un agitator magnetic. Se pornește agitare, care se menține până la completa dizolvare a PEGDA. Apoi, peste soluția de PEGDA se adaugă 4 μL TMEDA și se omogenizează soluția. Această soluție se introduce în flaconul Eppendorf conținând zeolitul îmbibat, formând astfel faza apoasă (1). Într-un flacon de 10 mL se introduc 0,5 g APS, peste care se adaugă 2,83 mL apă și se agită până la completa dizolvare a APS. Se obține astfel faza apoasă (2). Într-un balon cu fund plat, de 100 mL cu 2 gâturi, se adaugă 0,4937 g Span 80, 0,1206 g Tween 60 și 7,2 mL ciclohexan. Se introduce în balon o bară magnetică teflonată și balonul se introduce într-un cristalizor cu apă, amplasat pe un agitator magnetic cu placă de încălzire. Se reglează temperatura apei din cristalizor la 27 °C și se pornește o agitare energetică. În momentul când cei 2 emulgatori s-au dizolvat, se pun dopuri de cauciuc la cele 2 gâturi ale balonului și se oprește agitare. Prin dopul de cauciuc din gâtul lateral se introduce un cateter și se începe o ușoară barbotare de azot în lichidul din balon, timp de 15 minute. În paralel, se face o ușoară barbotare de azot și în vasele conținând fazele apoase (1) și (2). La sfârșitul perioadei de dezaerare se scoate din lichid cateterul din dopul lateral și se menține vasul de reacție sub pernă de azot. În dopul de cauciuc de la gâtul central se introduce un ac al unei seringi cu capacitatea de 5 mL. Se ia cu seringă din flaconul Eppendorf, faza apoasă (1) și se picură prin dopul central în balonul de reacție aflat sub agitare energetică. La sfârșitul picurării se ia o cantitate de 16 μL din paharul

conținând faza apoasă (2), și se picură în balonul cu fund plat, aflat sub agitare. La sfârșitul picurării fazei apoase (2) se scoate acul seringii din dopul de cauciuc și se lasă balonul cu dopurile de cauciuc montate, timp de 24 ore sub agitare, la temperatura de 27 °C, pentru polimerizarea în emulsie inversă. La sfârșitul duratei de polimerizare, se scoate masa de reacție și se introduce în tuburile unei centrifuge. Se pornește centrifugarea la turația de 8000 rot/min, timp de 15 minute. Se îndepărtează supernatantul și se adaugă o cantitate de 6 mL ciclohexan proaspăt, peste solid. Se amestecă bine solidul cu solventul și se face o nouă centrifugare în aceleași condiții cu prima, în vederea spălării. La sfârșitul spălării se îndepărtează supernatantul, iar partea solidă se liofilizează. Se obțin astfel nano xero geluri zeolitice cu medicament încapsulat cu dimensiunea de cca 180 nm.

#### Exemplul 6

Într-un flacon Eppendorf de 5 mL se cântăresc 6 mg nanozeolit de tip clinoptilonit, cu dimensiunea de cca 100 nm. Într-un pahar Erlenmeyer de 10 mL se cântăresc 60 mg de diclofenac și se adaugă 2,12 mL EtOH. Se introduce în paharul Erlenmeyer o bară magnetică teflonată și se pune paharul pe un agitator magnetic. Se pornește agitarea la temperatura camerei (cca 22 °C), și se menține agitarea până la obținerea unei soluții clare a medicamentului. Se iau 212 μL din această soluție și se adaugă în flaconul Eppendorf conținând nanozeolitul. Se închide flaconul Eppendorf și se introduce într-o baie de ultrasonare în funcțiune, unde se lasă la temperatura camerei, timp de 8 ore, pentru îmbibarea zeolitelui cu medicament. În paralel, într-un pahar Erlenmeyer de 10 mL se introduc 0,6 g PEGDA, din care 0,2 g cu masa moleculară a PEG de 4000 și 0,4 g cu masa moleculară a PEG de 500 și 1,8 mL apă distilată. Se introduce în pahar o bară magnetică teflonată și se pune paharul Erlenmeyer pe un agitator magnetic. Se pornește agitarea care se menține până la completa dizolvare a PEGDA. Apoi, peste soluția de PEGDA se adaugă 12 μL TMEDA și se omogenizează soluția. Această soluție se introduce în flaconul Eppendorf conținând zeolitul îmbibat, formând astfel faza apoasă (1). Într-un flacon de 10 mL se introduc 0,5 g APS, peste care se adaugă 4,5 mL apă și se agită până la completa dizolvare a APS. Se obține astfel faza apoasă (2). Într-un balon cu fund plat, de 100 mL cu 2 găuri se adaugă 2,6411 g Span 80, 1,1005 g Tween 60 și 20,1 mL ciclohexan. Se introduce în balon o bară magnetică teflonată și balonul se introduce într-un cristalizor cu apă, amplasat pe un agitator magnetic cu placă de încălzire. Se reglează temperatura apei din cristalizor la 22 °C și se pornește o agitare energetică. În momentul când cei 2 emulgatori s-au dizolvat, se pun dopuri de cauciuc la cele 2 găuri ale balonului și se oprește agitarea. Prin dopul de cauciuc din gâtul lateral se introduce un cateter și se începe o ușoară barbotare de azot în lichidul din balon, timp de 10 minute. În paralel, se face o ușoară barbotare de azot și în vasele conținând fazele apoase (1) și (2). La sfârșitul perioadei de dezaerare se scoate din lichid cateterul din dopul lateral și se menține vasul de reacție sub pernă de azot. În dopul de cauciuc de la gâtul central se introduce un ac al unei seringi cu capacitatea de 5 mL. Se ia cu siringa din flaconul Eppendorf faza apoasă (1) și se picură prin dopul central în balonul de reacție aflat sub agitare energetică. La sfârșitul picurării se ia o cantitate de 180 μL din paharul conținând faza apoasă (2) și se picură în balonul cu fund plat, aflat sub agitare. La sfârșitul picurării fazei apoase (2) se scoate acul seringii din dopul de cauciuc și se lasă balonul cu dopurile de cauciuc montate, timp de 40 ore, sub agitare, la temperatura de 22 °C, pentru polimerizarea în emulsie inversă. La sfârșitul duratei de polimerizare, se scoate masa de reacție și se introduce în tuburile unei centrifuge. Se pornește centrifugarea la turația de 8000 rot/min, timp de 20 minute. Se îndepărtează supernatantul și se adaugă o cantitate de 6 mL ciclohexan proaspăt, peste solid. Se amestecă bine solidul cu solventul și se face o nouă centrifugare în aceleași condiții cu prima, în vederea spălării. La sfârșitul spălării se îndepărtează supernatantul, iar partea solidă se liofilizează. Se obțin astfel nano xero geluri zeolitice cu medicament încapsulat cu dimensiunea de cca 170 nm.



## **HIDRIDE ANORGANIC- ORGANICE PE BAZĂ DE NANOZEOLIȚI ȘI NANOGELEURI, PENTRU ELIBERAREA CONTROLATĂ DE MEDICAMENTE ȘI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTORA**

### Revendicări:

1. Hibrice anorganic- organice pentru eliberarea controlată de medicamente caracterizate prin aceea că nanozeoliții din zeolit natural de tip clinoptilonit, având în componența lor medicament.: 5- fluorouracil sau diclofenac sodic sunt încapsulați în nanohidrogeluri de diacrilat de polietilenglicol (PEGDA), PEGDA fiind produs dintr-un singur sort de PEG având masa moleculară în domeniul de 500- 4000 Da., raportul masic între medicament și zeoliti fiind în domeniul 1:1-1:3
2. Hibrice anorganic- organice pentru eliberarea controlată de medicamente conform revendicării 1, caracterizate prin aceea că se utilizează amestecuri de PEGDA , produse din PEG cu diferite mase moleculare, situate în domeniul 500- 4000 Da.
3. Procedeu de obținere a hibricelelor anorganic-organice pentru eliberarea controlată de medicamente, conform revedincărilor 1 și 2, caracterizat prin aceea că zeolitul este îmbibat, timp de 8-24 ore, cu o soluție în dimetilsulfoxid (DMSO) cu concentrația de 10-30% 5- fluorouracil sau diclofenac sodic sau în alcool etilic p.a. (EtOH) cu concentrația de 2,5- 3,5 % diclofenac sodic, astfel încât raportul masic între medicament și zeolit să fie de 1:1- 1:3, simultan se prepară o soluție apoasă de PEGDA (având masa moleculară a PEG de 500- 4000 Da) cu concentrația de 10-25 % și conținând 0,7-2,0 % reducător tetrametilendiamină (TMEDA) (față de macromonomer), se adaugă soluția apoasă de PEGDA cu reducător peste nanozeolitul îmbibat, astfel încât raportul între PEGDA și nanozeolit să fie de 33: 1- 100: 1 și se amestecă bine, obținându-se o fază apoasă (1), se prepară apoi o altă fază apoasă (2) reprezentată de o soluție cu concentrația de 10-15 % oxidant persulfat de amoniu (APS) și se mai prepară și o fază organică (3) formată dintr-o soluție de ciclohexan conținând 8-12 % Span 80 și 1-5 % Tween 60, se introduce soluția de ciclohexan în vasul de reacție și se purjează cu azot toate cele 3 faze și vasul de reacție, timp de câte 10-15 minute, se pornește o agitare foarte energetică a fazei organice (3) și se picură în ea faza apoasă (1), la un raport volumetric fază apoasă: soluție organică de 1:4- 1:10, după care se picură o cantitate din faza apoasă (2) în mediul de reacție, astfel încât să se realizeze un raport masic între APS și TMEDA de 0,7- 1,5, se continuă agitarea la temperatura de 22- 30 °C timp de 18- 48 ore, sub azot, după care masa de reacție se centrifughează timp de 15-20 minute cu o centrifugă având turația de 7.000- 9.000 rot/ minut, supernatantul este îndepărtat, iar partea solidă este resuspendată în ciclohexan (spălare) la un raport de flotă lichid: solid de 10:1- 30:1 și se recentrifughează timp de 15-20 minute cu o aceeași centrifugă și la aceeași turație, iar solidul spălat este uscat prin liofilizare.