



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2020 00029**

(22) Data de depozit: **23/01/2020**

(41) Data publicării cererii:
30/07/2021 BOPI nr. 7/2021

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

(72) Inventatori:
• SORESCU ANA ALEXANDRA,
STR.DR. OBEDENANU, NR.25, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO;

• NUȚĂ ALEXANDRINA, ALEEA PLEȘEȘTI
NR.3, BL.Z 12, SC.3, AP.32, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;
• ION RODICA MARIANA, STR. VOILA
NR. 3, BL. 59, SC.3, ET.1, AP. 36,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
• ION NELU, STR. VOILA NR. 3, BL.59,
SC.3, ET.1, AP.36, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO

(54) **MICROCAPSULE DE ALGINAT CU MAGNETITA
ÎNCORPORATĂ PENTRU DEGRADAREA FOTOCATALITICĂ
A MEDICAMENTELOR ANTITUMORALE**

(57) Rezumat:

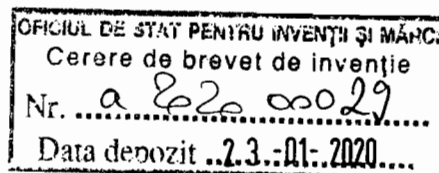
Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor microcapsule fotocatalitice de alginat cu magnetită biosintetizată încorporată cu aplicabilitate pentru degradarea fotocatalitică a medicamentelor antitumorale. Procedeu, conform invenției, constă în tratarea unui amestec de precursori de Fe^{3+} și Fe^{2+} , în raport molar de 1:2, cu extracte apoase din resurse vegetale conținând fitocomponente cu caracterreducător, urmată de amestecarea a 2...20 g alginat de sodiu pulbere cu 1...5 g

nanoparticule de magnetită având un conținut de 5% fitocomponente în 25...160 ml apă distilată și agitare puternică timp de 30...210 min, reacție de reticulare cu clorură de calciu 0,5 mol/l prin picurare, rezultând microcapsule de alginat cu magnetită încorporată care se păstrează într-o baie cu apă distilată până la utilizare.

Revendicări: 4

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, 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).





MICROCAPSULE DE ALGINAT CU MAGNETITĂ ÎNCORPORATĂ PENTRU DEGRADAREA FOTOCATALITICĂ A MEDICAMENTELOR ANTITUMORALE

Invenția se referă la microcapsule fotocatalitice de alginat cu magnetită biosintetizată încorporată cu aplicabilitate în industria farmaceutică, medicină, gospodărirea apelor uzate pentru protecția mediului, precum și pentru aplicații în industria farmaceutică, medicina.

Statisticile ultimilor 20 de ani evidențiază că, în paralel cu creșterea populației lumii, a avut loc o creștere simțitoare a utilizării produselor farmaceutice și de îngrijire personală. Aceasta tendință a avut ca urmare pătrunderea în mediul acvatic a diferiți micropoluante la nivele de concentrație situate între $\mu\text{g/L}$ și ng/L . Surse tipice de astfel de micropoluante sunt efluenții casnici, deșeurile din spitale, efluenții din industria farmaceutică și eliminarea improprie a medicamentelor utilizate acasă. Datorită eficacității lor, biodisponibilității și rezistenței la degradare, acestea devin compuși persistenți în fluxul apos. Tehnologiile actuale de purificare a apei sunt costisitoare și energofage, de aceea creșterea eficienței în tratarea apei, concomitent cu reducerea costurilor, reprezintă provocarea majoră a viitorului pentru a combate efectele epuizării resurselor de apă potabilă. Tehnologiile alternative, bazate pe lumină, care induc procese, cum ar fi: AOP's fotochimică care presupune O_3/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, foto-Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$) sau bazate pe procese catalitice precum cataliza electrochimică și fotocataliza, reprezintă o alternativă viabilă în procesul de distrugere a poluanților diverselor medicamente deversate în cursurile apelor (*Martínez-Huitle C.A., et al., Chem. Rev., 2015*).

Metodele și tehnicile clasice de separare (sedimentarea, filtrarea, centrifugarea, distilarea, extractia, absorbtia, adsorbția) și-au aratat limitele și, de aceea, au aparut o serie de noi metode de separare recuperative bazate pe utilizarea membranelor, cum sunt: micro-, ultra-, hiper- și nano-filtrarea, electro-dializa și electro-ultrafiltrarea, pervaporația și pertracția. În acest context, utilizarea nanoparticulelor magnetice (MNP), și în special a magnetitei (Fe_3O_4), reprezintă o alternativă tehnologică importantă și interesantă în domeniul separărilor. Pentru sinteza nanoparticulelor de magnetită au fost

raportate numeroase metode, cum ar fi co-precipitarea, descompunerea termică a precursorilor organici cu fier, metoda sol-gel, metoda cu polioli, precipitarea în prezența surfactanților sau a polimerilor, inclusiv miclele inverse, sinteza template asistată de copolimeri, sinteza solvotermală.

Metodele chimice pe cale umedă sunt mai simple, mai eficiente și permit un control apreciabil asupra compoziției, dimensiunii și formei nanoparticulelor. În principiu, la baza acestora este coprecipitarea cu un hidroxid din soluții apoase conținând amestecul de ioni Fe^{3+} și Fe^{2+} .

Există câteva rapoarte despre îndepărtarea antibioticelor din apă, folosind microcapsule magnetice de alginat. Aceste sisteme magnetice cu alginat pot servi ca o sondă simplă și rentabilă pentru adsorbția / separarea antibioticelor, cu avantaje suplimentare de a fi ușor de fabricat și de a avea o stabilitate termică ridicată și rezistență mecanică (Konwar, et al., *RSC Advances*, 2015).

Există o mulțime de studii în care magnetita poate fi sintetizată folosind diferite rute biologice, cu toate că extractul de plante este cel mai utilizat în sinteza verde, deoarece poate fi obținut cu ușurință, producție la scară largă, eficientă și eficientă în mediu (Iravani, S., *Green Chemistry*, 2011). În plus, extractele din plante pot acționa ca agenți reducători și stabilizatori în sinteza nanoparticulelor care s-ar putea datora prezenței fitochimice. Fitochimicele sunt compuși produși de planta în sine și acționează ca agenți reducători și de stabilizare a nanoparticulelor (alcaloizi, flavonoide, taninuri, terpenoide și carbohidrați). Diferite părți ale plantelor în sinteza Fe_3O_4 -NPs, cum ar fi frunzele, fructele, cojile de fructe, rădăcinile, semințele și etc. participă la sinteza nanoparticulelor.

Microcapsule magnetice de alginat sunt utilizate în special pentru aplicații biotehnologice pentru imobilizarea celulelor sau enzimelor. Microcapsulele pot avea dimensiuni între 25–60 μm și depinde de metoda folosită pentru prepararea lor (Safarikova, et al., *Journal of biotechnology*, 2003). Capacitatea algiților de a forma microcapsule a fost de asemenea verificată la încapsularea extractelor organice și a metalelor (Mimura, H., et al. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* (2001)). Alginatul este un polizaharid natural extras din diverse specii de alge brune. Este format din copolimeri liniari compus din b-D-Mannuronat (M) și a-L-Guluronat (G), legată de legături b-1,4- și a-1,4-glicozidice. Unitățile M și G sunt organizat în blocuri

homopolimerice M – M și G – G și blocuri M – G heteropolimerice. Blocurile GG sunt responsabile de procesul de gelificare (*N. Nestle, Biotechnol. Bioeng., 1996*).

Se cunosc mai multe procedee utilizate pentru degradarea poluantilor farmaceutici din apele reziduale.

Brevetul US 69692685 descrie un procedeu de obținere a nanoparticulelor de magnetită, care constă în amestecarea unei sări de fier precum oxalatul de fier (II) cu un alcool, acid carboxilic și o amină organică într-un solvent organic, urmată de refluxarea la 200-360 °C, răcirea și precipitarea acestuia, după care produsul este dispersat într-un solvent pentru a obține nanocristalele.

Brevetul RU 2656667 descrie un procedeu de obținere a magnetitei prin încălzirea la 70 °C a unui amestec format din octadecen, oleat de fier (III), acetilacetonat de fier (III), acid oleic și oleat de sodiu timp de 30 min, apoi reîncălzire și menținere la 320 °C în atmosferă inertă, răcire la temperatura camerei și separarea cristalelor de magnetită în izopropanol. Nanoparticulele de magnetită se obțin prin dispersarea cristalelor într-un solvent organic nepolar cu punct de fierbere ridicat, cum ar fi dibenzil-eter, octadecen și trioctilamina.

Brevetul RO 122439B1 descrie obținerea unui material nanocompozit pe bază de magnetita și zaharida destinat aplicațiilor biomedicale, conform căruia sinteza magnetitei se realizează prin coprecipitare, la 80-120 °C timp de 10-24 ore, din soluțiile precursorilor oxalat feros și azotat feric.

Brevetul US 10035714 descrie utilizarea nanoparticulelor de magnetită pentru obținerea de nanocompozite fluorescente și puncte cuantice de Cd(Se,S) cu aplicații în fotodegradarea colorantului albastru de metilen. Conform acestui procedeu magnetita se obține prin metoda coprecipitării la 100 °C, precursorii fiind clorura ferică și clorura feroasă, iar stabilizatorul de aglomerare a nanoparticulelor oleatul de sodiu. Nanoparticulele de magnetită rezultate se spală cu apa deionizată, etanol și acetona și se separa prin ultrasonicare în prezența de toluen.

Dezavantajele procedeelor descrise in brevetele enumerate constau in aceea ca: metoda de sinteza este laborioasa, are loc la temperaturi ridicate, utilizeaza materii prime corozive și solvenți organici toxici și se obțin nanoparticule cu dimensiuni neuniforme.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în degradarea medicamentelor folosite ca citostatice a căror reziduuri prezintă un pericol pentru mediu și om. Soluția problemei, care face obiectul prezentei invenții, o constituie realizarea unui material sub formă de microcapsule de alginat cu magnetită încorporată care sub influența radiației UV-Vis conduce la degradarea medicamentelor antitumorale.

Conform invenției, nanoparticulele de magnetita au fost sintetizate folosind o metoda coprecipitării modificată și apoi încorporate în matricea de alginat. Metoda coprecipitării constă în extracte apoase din plante cum ar fi fructe: cătină, agrișe, jujube, dovleac; legume: gulie verde, gulie roșie sau flori: albastrele, bujor alb, bujor roșu, salcâm, soc, siminoc, conținând fitocomponente cu caracter reducător, la temperatura de 60°C timp de 12 ore, după operația de spălare cu apă distilată pentru îndepărtarea prafului, uscare, mărunțire și uscare la 40 °C, urmată de măcinare pentru obținerea unei pudre care se transferă într-un vas ce conține apa distilată, pentru extragere la 4 °C timp de 12 ore, după care se filtrează. Filtratul cu fitocomponentele este stabil timp de 3 săptămâni la stocare la 4 °C.

Procedeeul de coprecipitare modificat, are loc în mediu apos, și constă în tratarea unui amestec de precursori de Fe^{3+} și Fe^{2+} , în raport molar $\text{Fe}^{3+} / \text{Fe}^{2+}$ de 1:2, astfel: se introduc într-un vas 10-50 ml apă distilată, $1-10 \times 10^{-3}$ moli cristale de sulfat feros și $1-5 \times 10^{-4}$ moli cristale de alaun feriamoniacal, se adaugă 10-50 ml extract apos, obținut prin metoda coprecipitării prezentate mai sus, cu un conținut de 3-10% fitocomponente cu caracter reducător, se încălzește la 60 °C timp de 15 minute și se ajustează pH-ul pentru a se obține pH 10 cu soluție de amoniac 25%, pentru definitivarea reacției se menține masa de reacție la o temperatură de 60 °C timp de 12h, precipitatul rezultat se filtrează la temperatura camerei, iar produsul obținut se spală pe filtru cu apă distilată și se usucă la vid timp de 6 ore rezultând o pulbere de culoare neagră de nanoparticule de magnetită. Nanoparticulele de magnetita rezultate se folosesc pentru realizarea microcapsulelor de alginat cu fotocatalizator magnetită încorporat astfel: se amestecă 4 -20 g de alginat de sodiu pulbere, 1 - 5 g de nanoparticule de magnetită pulbere în 25,0 - 160 ml în apă distilată și agitare puternică cu un agitator mecanic timp de 0,5 -3,5 ore. Suspensia rezultată se introduce într-o soluție de clorură de calciu, 200 -1200 ml, 0,5 mol L⁻¹ prin picurare, rezultând microcapsule de alginat cu magnetită încorporată. Microcapsulele

sunt lasate în soluția de clorură de calciu timp de 24 ore pentru definitivarea reacției. Reticularea instantanee a lanțurilor de alginat prin ionii de calciu împiedică nanoparticulele magnetice să iasă din microcapsule. Microcapsulele sunt spălate de 3 ori cu apă distilată și păstrate într-o baie cu apă distilată, pentru a evita distrugerea structurii lor interne.

Degradarea medicamentelor antitumorale se realizează astfel: într-un fotoreactor de 100 cm³ cu manta dublă pentru răcire, se amestecă 50 cm³ de soluție de epirubicină 1• 10⁻⁴ M cu 0,1 g capsulele de fotocatalizator magnetic se agită și aerază înainte și în timpul procesului fotocatalitic. Soluția se iradiază folosind o lampă de Xenon, care emite lumină UV-vis. Temperatura soluției în timpul iradierii a fost menținută la 20 °C. Se prelevează probe de 1,0 cm³ din suspensia apoasă la intervale de timp regulate în timpul iradierii și filtrate prin filtre de seringă (Ø = 0,2μm) pentru a îndepărta particulele de fotocatalizator sau izolate prin separare magnetică. Soluția astfel separată se analizează cu spectrofotometru UV-Vis pentru a urmări concentrația de medicament, în urma analizelor s-a constatat o degradare în proporție de 70% a epirubicinei.

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- a. Precursorul de Fe³⁺, sulfatul dublu de amoniu și fier, cristalizat cu 12 molecule de apă, nu este toxic, fiind utilizat pentru tratarea apelor uzate.
- b. Agentul reducător este furnizat de polifenolii din resurse vegetale, regenerabile, netoxice.
- c. Procedul în ansamblul său asigură economii de timp și energie, comparativ cu procedeele descrise în literatură, obținerea nanoparticulelor de magnetită realizându-se în condiții blânde.
- d. Utilizarea microcapsulelor de alginat cu magnetită încorporată oferă avantajele biocompatibilității, simplitate și cost redus.

Exemple

Obținerea extractului din fructe de cătină

5 grame fructe de cătină se spală cu apă și apoi cu apă distilată pentru îndepărtarea prafului, se usucă, se taie în bucăți mici, se usucă la 40 °C și se macină.

Din pudra astfel obținută se iau 2,5 g care se transferă într-un pahar Erlenmayer ce conține 10 ml apă distilată. Se lasă la extras la 4 °C timp de 12 ore, după care se filtrează. Filtratul obținut este stabil la stocare la 4 °C timp de 3 săptămâni.

În maniera similară se obțin extracte din fructe de agrișe, jujube sau dovleac

Obținerea extractului din radacina de gulie verde

6 grame rădăcină de gulie verde se spală cu apă și apoi cu apă distilată pentru îndepărtarea prafului, se usucă, se taie în bucăți mici, se usucă la 40 °C și se macină. Din pudra astfel obținută se iau 2,5 g care se transferă într-un pahar Erlenmayer ce conține 25 ml apă distilată. Se lasă la extras la 4 °C timp de 12 ore, după care se filtrează. Filtratul obținut este stabil la stocare la 4 °C timp de 3 săptămâni.

În maniera similară se obține extractul din gulie mov.

Obținerea extractului din flori de albastrele

5 grame flori de albastrele se spală cu apă și apoi cu apă distilată pentru îndepărtarea prafului, se usucă, se taie în bucăți mici, se usucă la 40 °C și se macină. Din pudra astfel obținută se iau 2,5 g care se transferă într-un pahar Erlenmayer ce conține 25 ml apă distilată. Se lasă la extras la 4 °C timp de 12 ore, după care se filtrează. Filtratul obținut este stabil la stocare la 4 °C timp de 3 săptămâni.

În maniera similară se obțin extracte din flori de salcâm, soc, plămânărică sau siminoc.

Exemplu sinteza nanoparticulelor de magnetită

Într-un pahar Erlenmayer se introduc 10 ml apă distilată și, sub agitare, 10^{-3} moli cristale de sulfat feros și 5×10^{-4} moli cristale de alaun feriamoniacal, se adaugă 10 ml extract apos de plante cu un conținut de 5% fitocomponente cu caracter reducător, se încălzește la 60 °C timp de 15 minute și se ajustează pH-ul la 10 cu soluție de amoniac 25%. Pentru definitivarea reacției se menține masa de reacție la 60 °C timp de 12 ore se obține o suspensie de culoare neagră, care se filtrează la temperatura camerei, iar produsul obținut se spală pe filtru cu apă distilată și se usucă la vid timp de 6 ore.

Într-un vas de 200 ml, se introduc 100 ml apă distilată, 8,0 g de pulbere de alginat de sodiu și 3 g nanoparticule de magnetită, cu agitare puternică cu un agitator mecanic timp de 1 oră. Suspensia rezultată a fost adăugată prin picurare într-o soluție de clorură de calciu (400 ml, 0,5 mol L⁻¹). Microcapsulele formate sunt lăsate în soluția de clorură de

calciu peste noapte, pentru definitivarea reacției. Reticularea instantanee a lanțurilor de alginat prin ioni de calciu împiedică nanoparticulele magnetice să iasă din microcapsule, care se păstrează într-o baie cu apă distilată, pentru a evita distrugerea structurii interne.

Degradarea fotocatalitică a medicamentelor antitumorale se realizează astfel: într-un fotoreactor de 100 cm³ cu manta dublă pentru răcire, se amestecă 50 cm³ de soluție de deșeu de medicament antitumoral de tip epirubicină $1 \cdot 10^{-4}$ M cu 0,1 g microcapsulele de fotocatalizator magnetic se agită și aerează înainte și în timpul procesului fotocatalitic. Soluția se iradiază folosind o lampă de Xenon, care emite lumină UV-vis. Temperatura soluției în timpul iradierii a fost menținută la 20 °C. Se prelevează probe de 1,0 cm³ din suspensia apoasă în perioade de timp regulate în timpul iradierii și filtrate prin filtre de seringă ($\varnothing = 0,2\mu\text{m}$) pentru a îndepărta particulele de fotocatalizator sau izolate prin separare magnetică. Soluția astfel separată se analizează cu spectrofotometru UV-vis pentru a urmări concentrația de medicament, în urma analizelor s-a constatat o degradarea în proporție de 70% a epirubicinei.

MICROCAPSULE DE ALGINAT CU MAGNETITA INCORPORATA PENTRU DEGRADAREA FOTOCATALITICA A MEDICAMENTELOR ANTITUMORALE

REVEDICARI

1. Microcapsule de alginat cu fotocatalizator magnetită incorporat pentru degradarea fotocatalitică a medicamentelor antitumorale caracterizate prin aceea ca au în compunere 4 -20 g de alginat de sodiu pulbere, 1 -5 g de nanoparticule de magnetită pulbere cu un conținut de 5% fitocomponente cu caracter reducător.
2. Procedeu de obținere a microcapsule de alginat cu fotocatalizator magnetită încorporat pentru degradarea fotocatalitică a medicamentelor antitumorale conform revendicării 1, caracterizat prin tratarea unui amestec de precursori de Fe^{3+} și Fe^{2+} , în raport molar Fe^{3+} / Fe^{2+} de 1:2, cu diferite extracte apoase obținute din materii prime de origine vegetală, cum ar fi fructe (ex. cătina, agrise, jujube, dovleac), legume (gulinie verde, gulinie roșie,) sau flori (albastrele, bujor alb, bujor roșu, salcâm, soc, siminoc), conținând fitocomponente cu caracter reductor, la temperatura de $60^{\circ}C$, timp de 12 ore, separarea nanoparticulele de magnetită prin filtrare, spălare și uscarea lor, urmată de amestecarea a 4 -20 g de alginat de sodiu pulbere cu 1 -5 g de nanoparticule de magnetită pulbere în 25,0 - 160 ml în apă distilată și agitare puternică cu un agitator mecanic timp de 0,5 - 3,5 ore, și introducerea într-o soluție de clorură de calciu, 200 -1200 ml, $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ prin picurare, rezultând microcapsule de alginat cu magnetită încorporată.
3. Procedeu de obținere a nanoparticulelor de magnetită conform revendicării 2, în care precursorul de Fe^{3+} este sulfatul dublu de amoniu și fier, cristalizat cu 12 molecule de apă.
4. Procedeu de obținere a nanoparticulelor de magnetită conform revendicării 1, în care agentul reducător este furnizat de polifenolii din resurse vegetale, regenerabile, netoxice obținut prin uscarea resurselor vegetale la $40^{\circ}C$, măcinare pentru obținerea unei pudre extragere în apă distilată la $4^{\circ}C$ timp de 12 ore și filtrare.