

(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2022 00490

(22) Data de depozit: 11/08/2022

(41) Data publicării cererii:  
28/04/2023 BOPI nr. 4/2023

(71) Solicitant:  
• INSTITUTUL DE CHIMIE "CORIOLAN  
DRĂGULESCU", BD.MIHAI VITEAZUL,  
NR.24, TIMIȘOARA, TM, RO;  
• UNIVERSITATEA "POLITEHNICA" DIN  
TIMIȘOARA, PIAȚA VICTORIEI NR.2,  
TIMIȘOARA, TM, RO

(72) Inventatori:  
• MOȚOC SORINA, STR.MUREȘ, NR.2,  
SC.G, AP.10, TIMIȘOARA, TM, RO;  
• MANEA FLORICĂ, STR.LUȚĂ IOVIȚĂ,  
NR.12, TIMIȘOARA, TM, RO;  
• SZERB ELISABETA-ILDYKO,  
STR.BABA DOCHIA, BL.D1, SC.A, AP.3,  
TIMIȘOARA, TM, RO;  
• CREȚU CARMEN,  
STR. ARHITECT VICTOR VLAD, NR.10,  
BL.14, SC.B, AP.6, TIMIȘOARA, TM, RO

(54) PROCEDEU DE DETECȚIE ELECTROCHIMICĂ RAPIDĂ  
ȘI CU SENSIBILITATE RIDICATĂ A CAPECITABINEI  
DIN SOLUȚII APOASE FOLOSIND ELECTROD PASTĂ  
DE NANOTUBURI DE CARBON, GRAFEN ȘI CRISTALE  
LICHIDE PE BAZĂ DE COMBINAȚII COMPLEXE ALE Cu(I)

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un electrod destinat detecției electrochimice a capecitabinei din soluții apoase și la un procedeu de detecție în soluție apoasă a acestui citostat din categoria poluanților emergenți din apă. Electrocul conform invenției este alcătuit dintr-un cilindru (9) activ, obținut prin turnarea unei paste omogene de metalomesogen pe bază de Cu(I), nano-tuburi de carbon și grafen în ulei de parafină în raport masic de 12,5/1/1/6 într-un cilindru-suport (8) fabricat dintr-un material plastic inert chimic la mediul de analiză, care are la partea închisă un fir (11) de cupru având un capăt prins în pastă și celălalt capăt, care iese în afara cilindrului-suport (8), va servi pentru conectarea la un potențostat (2) controlat de un computer (1), iar la partea deschisă a cilindrului-suport (8), pe partea frontală a cilindrului (9) activ, se formează un disc (10) care constituie partea electroactivă a electrodului care acționează cu soluția de analizat. Procedeu conform invenției folosește electrocul (4) conform invenției ca electrod de lucru într-un sistem clasic cu trei electrozi (4, 5 și 6) imersați într-o cuvă (3) conținând o soluție apoasă de analizat și conectați la un potențostat (2) controlat de un computer (1) pentru aplicarea unui potențial electric necesar fiecărei etape a procedurii în care, în prima etapă, are loc reducerea catodică a complexului ordonat de Cu(II)-capecitabină la specii ale Cu(I) cu eliberarea capecitabinei, iar în cea de-a doua

etapă se obține răspunsul electrochimic prin procesul de reducere catodică a capecitabinei în mediu alcalin, corespunzător concentrației de capecitabină din soluția de analizat, în timpul scanării din sens anodic în sens catodic prin voltametrie puls diferențială.

Revendicări: 2  
Figuri: 5

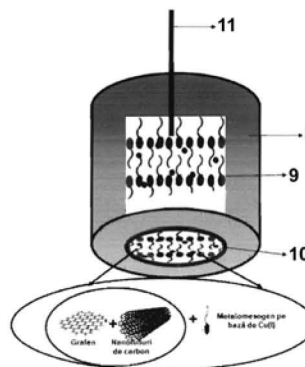


Fig. 2

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).



|  |               |
|--|---------------|
| OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI |               |
| Cerere de brevet de invenție             |               |
| Nr. ....                                 | a 2022 0490 1 |
| Data depozit .....                       | 11-08-2022    |

RO 137418 A0

42

**PROCEDEU DE DETECȚIE ELECTROCHIMICĂ RAPIDĂ ȘI CU  
SENSIBILITATE RIDICATĂ A CAPECITABINEI DIN SOLUȚII  
APOASE FOLOSIND ELECTROD PASTĂ DE NANOTUBURI DE  
CARBON, GRAFEN ȘI CRISTALE LICHIDE PE BAZĂ DE  
COMBINAȚII COMPLEXE ALE Cu(I)**

Invenția se referă la un electrod destinat detecției electrochimice selective și rapide a capecitabinei din soluții apoase și la un procedeu de detecție în soluție apoasă a acestui citostatic din categoria poluanților emergenți din apă pe baza metodei de scanare din domeniul anodic în cel catodic și a tehnicii de voltametrie puls diferențială.

Deși nu există o valoare limită impusă pentru poluanții emergenți și nici pentru capecitabină, prezența produselor farmaceutice în mediul acvatic este tot mai îngrijorătoare, ceea ce a impus elaborarea unor strategii care se bazează pe propunerea listelor de supraveghere a unor compuși care fac parte din categoria poluanților emergenți, a căror prezență în apă este monitorizată. În mediul acvatic, prezența capecitabinei, citostatic frecvent utilizat în terapia diferitelor forme de cancer, a fost raportată în diferite regiuni din Europa în concentrații diferite funcție de matricea apei. În apa de suprafață care este principala sursă de apă pentru potabilizare s-a raportat până în prezent prezența capecitabinei în concentrații de ordinul a  $20 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ . Determinarea cantitativă a diferitelor produse farmaceutice se extinde tot mai mult și capătă atenție sporită și în țara noastră, în special pentru apa potabilă, prin Directiva (UE) 2020/2184 a Parlamentului European și a Consiliului din 16 decembrie 2020 privind calitatea apei destinate consumului uman. Diferite metode de determinare cantitativă au fost dezvoltate pentru determinarea concentrației de capecitabină în special ca substanță activă

în preparatul farmaceutic și plasmă și mai puțin ca poluant emergent în apă. Cele mai multe metode permit detecția capecitabinei la concentrații mai mari, cuprinse între  $0,5 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ - $17,12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  și utilizează tehnicile cromatografice și electrochimice.

Este cunoscut procedeul de detecție electrochimică a capecitabinei în soluții apoase care folosește tehnicile de voltametrie puls diferențială și voltametrie cu undă patrată și electrozi de: pasta de carbon (Kiziloluk, D.; Gokce, G.; Akkus Cetinus, S. *Journal of Scientific Perspectives* 2020, 4, 1) carbon sticlos modificat cu nanofibre de grafen stivuite și nanoparticule de aur (Zhang, Q.; Shan, X.; Fu, Y.; Liu, P.; Li, X.; Liu, B.; Zhang, L.; Li, D. *International Journal of Electrochemical Science* 2017, 12, 10773); carbon sticlos moodificat cu nanotuburi de carbon și funcționalizat cu dendrimer poli-amidoamina pentru încapsularea nanoparticulelor de aur (Murugan, E.; Akshata, R.C.; Stephy, A. *Advanced Materials Proceedings* 2017, 2(3), 176); fibră de grafit modificat cu nanotuburi de carbon și poliuretan (Eshaghi, Z.; Moeinpour, F. *Engineering in Life Science* 2018, 19, 302); pastă de carbon modificată cu nanotuburi de carbon și nanoparticule de oxid de zinc (Madrakian, T.; Ghasemi, H.; Haghshenas, E.; Afkhami, A. *RSC Advances* 2016, 6, 33851); carbon sticlos decorat prin polimer imprimat molecular cu nanocompozit magnetic de oxizi de Fe (II, III) și oxizi de grafen (Afzali, M.; Mostafavi, A.; Shamspur, T. *Arabian Journal of Chemistry* 2020, 13, 6626); electrod de diamant diopat cu bor modificat cu perovskit de tip ferita de lantan (Dumitru, R.; Negrea, S.; Ianculescu, A.; Pacurariu, C.; Vasile, B.; Surdu, A.; Manea, F. *Materials* 2020, 13, 2061).

Dezavantajele acestor metode aplicate în condiții diferite de operare sunt limitele de detecție cuprinse între  $0,12 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ - $17,12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , astfel că metodele nu prezintă

utilitate în contextul monitorizării prezenței capecitabinei ca poluant emergent în apele de suprafață sau în apa potabilă.

Se cunoaște procedeul de determinare cantitativă a capecitabinei prin metoda care utilizează tehnica de cromatografie de lichid de ultra performanță în tandem cu spectrometrie de masă redată în invențiile CN105823845A, CN108828077A și CN112684057A, care raportează cele mai mici concentrații de capecitabină determinate în domeniul cuprins între  $2,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ - $0,5 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Soluția de mai sus prezintă mai multe dezavantaje legate de utilizarea unui echipament specializat, costisitor, necesitatea unor etape preliminare de pregătire a probei. Limitele de detecție raportate nu sunt suficient de joase pentru a permite aplicarea acestor metode în monitorizarea prezenței capecitabinei ca poluant emergent în apele de suprafață și potabile.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în elaborarea unui electrod cu caracteristici electroanalitice de detecție avansate și fiabil fabricat din nanotuburi de carbon și grafen ordonate prin amestecarea în ulei de parafină cu metalomesogen pe baza de Cu(I), și a unui procedeu de detecție rapidă selectivă a capecitabinei la nivel de urme din soluție apoasă care folosește un electrod adecvat analizei de efectuat și cu nivel de sensibilitate corespunzător sau electrodul conform invenției, ca electrod de lucru în condiții specifice de aplicare, asupra căruia se aplică un potențial de electrod raportat la potențialul unui electrod de referință (electrod saturat de calomel) prin tehnica de voltametrie puls diferențială și scanare din sens anodic în sens catodic, procedeul fiind aplicabil prin utilizarea aparaturii de analiză deja existente pe piață și disponibile în laborator.

Electrodul pentru detecția electrochimică a capecitabinei în soluții apoase conform invenției elimină dezavantajele de mai sus prin aceea că prezintă

40

activitate catalitică pentru reducerea a capecitabinei datorită metalomesogenului pe bază de Cu(I) care în plus, are capacitatea de a ordona nanotuburile de carbon și grafenul sub forma unor rețele mixte de nanoelectrozi de carbon nanostructurat și Cu(I), îmbunătățind sensibilitatea și limita de detecție a capecitabinei până la  $0,175 \text{ fg}\cdot\text{L}^{-1}$ , funcție de condițiile de operare.

Procedeul pentru detecție electrochimică a capecitabinei din soluții apoase conform invenției elimină dezavantajele de mai sus prin aceea că folosește un electrod adecvat analizei de efectuat și cu nivel de sensibilitate corespunzător sau electrodul conform invenției, ca electrod de lucru în condiții specifice de aplicare, într-o celula clasică cu 3 electrozi și tehnica de voltametrie puls diferențială care permite îmbunătățirea parametrilor electroanalitici de sensibilitate și a limitei de detecție, fără a necesita un aparat sau dispozitiv special conceput.

Electrodul pentru detecția capecitabinei din soluții apoase conform invenției prezintă următoarele avantaje:

- are caracteristici electroanalitice avansate (sensibilitate, reproductibilitate, acuratețe) care îl recomandă pentru analize până la o limită de detecție de  $0,175 \text{ fg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;
- materialele din care este constituit sunt relativ ieftine și etapele procedurii de fabricație nu implică tehnologii avansate sau costisitoare;
- prezintă versatilitate și poate fi utilizat pentru detecția selectivă sau simultană a capecitabinei cu alte citostatice și pentru aplicații biomedicale.

Procedeul pentru detecția electrochimică rapidă a capecitabinei din soluții apoase conform invenției prezintă următoarele avantaje:

- folosește tehnica de voltametrie puls diferențială pentru determinarea concentrației de capecitabină din soluție care îmbunătățește performanțele electroanalitice ale sistemului folosit;

- folosește un electrod adecvat analizei de efectuat și cu nivel de sensibilitate corespunzător sau electrodul conform invenției, ca electrod de lucru în condiții specifice de aplicare, într-o celula clasică cu 3 electrozi, care oferă posibilitatea detectării capecitabinei în soluții apoase până la o limită de detecție de  $0,175 \text{ fg} \cdot \text{L}^{-1}$ , care permite detectarea capecitabinei la nivel de urme în soluții apoase, aplicării monitorizării apelor de suprafață și potabile;
- nu necesită etape suplimentare de pregătire a probei pentru analiză și poate fi aplicat folosind aparatura de analiză deja existentă pe piață și disponibilă în laborator.

Se dă în continuare un exemplu de realizare a invenției, în legătură cu figurile care reprezintă:

- Figura 1. Schema simplificată a instalației de detecție ;
- Figura 2. Schema simplificată a compoziției electrodului de lucru ;
- Figura 3. Serie de răspunsuri electrochimice ca și voltamograme puls diferențiale în prezența diferitelor concentrații de capecitabină și electrolit suport de NaOH 0,1 M înregistrate la electrodul descris în Figura 2;
- Figura 4. Variația curenților cuantificați ca și răspunsuri electrochimice utile funcție de concentrația capecitabinei, determinate pe baza voltamogramelor puls diferențiale prezentate în Figura 3, înregistrate la electrodul de lucru descris în Figura 2;
- Figura 5. Serie de răspunsuri electrochimice ca și voltamograme puls diferențiale în prezența diferitelor concentrații de capecitabină înregistrate în apă de robinet la electrodul descris în Figura 2 utilizând instalația de detecție descrisă în Figura 1.

Electrodul pentru detecția electrochimică a capecitabinei din soluții apoase conform invenției este alcătuit dintr-un cilindru activ (9), constituit din pastă omogenă de metalomesogen pe baza de Cu(I), nanotuburi de carbon, grafen în ulei de parafină în raport masic de 12,5/1/1/6 care s-a aliniat termic în fază cristalin lichidă lamelo-columnară la 120°C, prin dizolvarea a 100 mg metalomesogen de Cu(I) în 5 mL diclorometan și amestecarea cu 8 mg CNT și 8 mg grafen și cu 48 mg uleiul de parafina. Amestecul s-a omogenizat prin sonicare 20 minute, iar solventul s-a evaporat la temperatura camerei. Materialul astfel obținut s-a încălzit în etuvă până la 170 grade pentru ca metalomesogenul să ajungă în fază izotropă, s-a răcit la 120°C unde s-a menținut timp de 30 minute, apoi s-a răcit la temperatura camerei, ciclul de încălzire-răcire repetându-se de două ori.

Formarea cilindrului activ (9) se face prin turnarea pastei omogene într-un cilindru suport (8), din material plastic inert chimic la mediul de analiză (de exemplu: polipropilenă, teflon, ș.a.), care are la partea închisă un fir de cupru (11) a cărui capăt din cilindru activ (9) va fi prins în pastă iar celălalt capăt va servi ca și conector pentru aplicarea potențialului în timpul analizei. La celălalt capăt al cilindrului (9), pe partea frontală, se va forma un disc (10) care va fi partea electroactivă a electrodului și care interacționează cu soluția de analizat. Ansamblul astfel constituit este folosit ca electrod de lucru (4) în instalația de detecție din Figura 1.

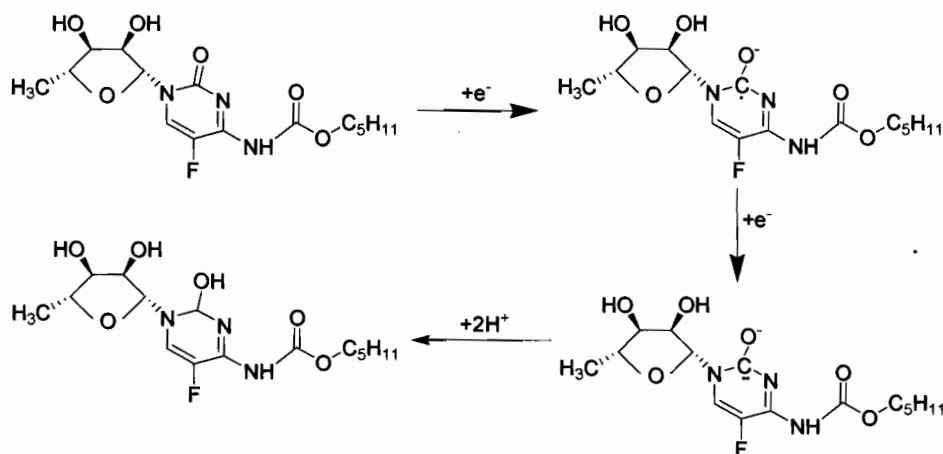
Procedeu de detecție selectivă rapidă a capecitabinei din soluții apoase conform invenției folosește ca electrod de lucru (4) electrodul descris anterior sau un alt electrod adecvat analizei de efectuat și cu nivel de sensibilitate corespunzător preciziei de determinare impuse într-un sistem clasic compus din trei electrozi:

electrod de referință (5), un contraelectrod de platină (6) și un electrod de lucru (4) conectați prin legături în ramificație la un potențostat (2) controlat de computer (1), într-un ansamblu de detecție în a cărui cuva (3) este introdus electrolit suport (7), soluție apoasă de NaOH 0,1 M, și apa poluată cu capecitabină.

Detecția și determinarea concentrației de capecitabină se face prin reducere catodică și scanare din domeniul anodic spre domeniul catodic utilizând tehnica de voltametrie puls diferențială prin intermediul potențostatului (2) și constă din două etape descrise de următoarele reacții și parametri de operare:

Prima etapă constă în reducerea catodică a complexului ordonat de Cu(II)-capecitabina, format prin aplicarea potențialului de 0,50 V/ESC, la specii ale Cu(I) cu eliberarea capecitabinei, care decurge în condițiile aplicării unui potențial de 0,03 V/SCE și permite determinarea efectivă a conținutului de capecitabină în soluție pe baza răspunsului electrochimic obținut prin procesul de reducere a Cu (II) la Cu(I) ordonat.

În etapa a 2-a are loc procesul de reducere a capecitabinei conform schemei (1):



Schema 1. Mecanismul reducerii electrochimice a capecitabinei



Răspunsul electrochimic s-a obținut prin procesul de reducere catodică, corespunzător concentrației de capecitabină din soluția de analizat, la potențial de -0,60 V/ESC, în timpul scanării în sens catodic prin voltametrie puls diferențială. In Figura 3 se prezintă o serie de voltamograme puls diferențiale înregistrate pentru diferite concentrații de capecitabină cuprinse în intervalul de concentrații 1-5 fg·L<sup>-1</sup> la electrodul de lucru (4) prin aplicarea unui potențial relativ față de electrodul saturat de calomel în domeniul de potențial cuprins între +0,50 V și -1,50 V. Dependentele liniare între concentrația capecitabinei și curentul înregistrat pentru fiecare concentrație de capecitabină permite obținerea curbelor de calibrare pentru procedeul de detecție propus, prezentate în Figura 4, folosită ca referință pentru determinari ulterioare și care pune în evidență sensibilitatea procedeului de detecție de 0,166 μA/fg·L<sup>-1</sup> și limita de detecție de 0,175 fg·L<sup>-1</sup> pentru potentialul aplicat de 0,03 V/ESC și 0,199 μA/fg·L<sup>-1</sup> și limita de detecție de 1,130 fg·L<sup>-1</sup> pentru potentialul aplicat de -0,60 V/ESC.

Procedeul descris anterior aplicat într-o schema de detecție din Figura 1, cu un electrod adecvat analizei de efectuat și cu nivel de sensibilitate corespunzător sau electrodul conform invenției, ca electrod de lucru, în condiții specifice de aplicare, într-o celula clasică cu 3 electrozi, a fost folosit în analizele efectuate pe probe de apă de robinet îmbogățite cu concentrații cunoscute de capecitabină, răspunsurile electrochimice obținute fiind prezentate în Figura 5.

De asemenea, electrodul de lucru și procedeul de detecție conform invenției pot fi utilizate pentru detecția selectivă a capecitabinei și pentru alte aplicații în domeniul farmaceutic și medical (analiza produșilor farmaceutici, analize clinice de laborator).

35

## REVENDICĂRI

1. Electrode pentru detecția electrochimică a capecitabinei din soluții apoase **caracterizat prin aceea că** este alcătuit dintr-un cilindru activ (9) obținut prin turnarea unei paste omogene de metalomesogen pe baza de Cu(I), nanotuburi de carbon, grafen în ulei de parafina în raport masic de 12,5/1/1/6, într-un cilindru suport (8), din material plastic inert chimic la mediul de analiză (de exemplu: polipropilenă, teflon, ș.a.), care are la partea închisă un fir de cupru (11) a cărui capăt din cilindrului suport (8) va fi prins în pastă iar celălalt capăt, ce iese în afara cilindrului suport (8), va servi pentru conectarea la potențistatul (2) controlat de computer (1) pentru aplicarea potențialului în timpul analizei, iar la capătul deschis al cilindrului suport (8), pe partea frontală a cilindrului activ (9), se formează un disc (10) care va fi partea electroactivă a electrodului, și care interacționează cu soluția de analizat.
2. Procedeu de detecție selectivă rapidă a capecitabinei din soluții apoase **caracterizat prin aceea că** folosește un electrod adecvat analizei de efectuat și cu nivel de sensibilitate corespunzător preciziei de determinare impuse sau electrodul conform invenției ca electrod de lucru într-un sistem clasic de trei electrozi compus din: electrod de referință (5), contraelectrod de platină (6) și electrod de lucru (4), imersați în soluția apoasă de analizat din cuva (3) compusă din electrolit suport (7), soluție de apoasă de NaOH 0,1 M, în amestec cu apa poluată cu capecitabină, și conectați prin legături în ramificație la un potențiosat (2) controlat de computer (1) pentru aplicarea potențialului necesar fiecărei etapă

a procedului, în prima etapa 1 având loc reducerea catodică a complexului ordonat de Cu(II)-capecitabina la specii ale Cu(I) cu eliberarea capecitabinei, care decurge în condițiile aplicării unui potențial de 0,03 V/ESC și conferă un răspuns electrochimic corespunzător concentrației de capecitabină și cea de-a doua etapă, de obținere a răspunsului electrochimic prin procesul de reducere catodică a capecitabinei în mediu alcalin, corespunzător concentrației de capecitabină din soluția de analizat, la potențial de -0,60 V/ESC, în timpul scanării din sens anodic în sens catodic prin voltametrie puls diferențială.

1

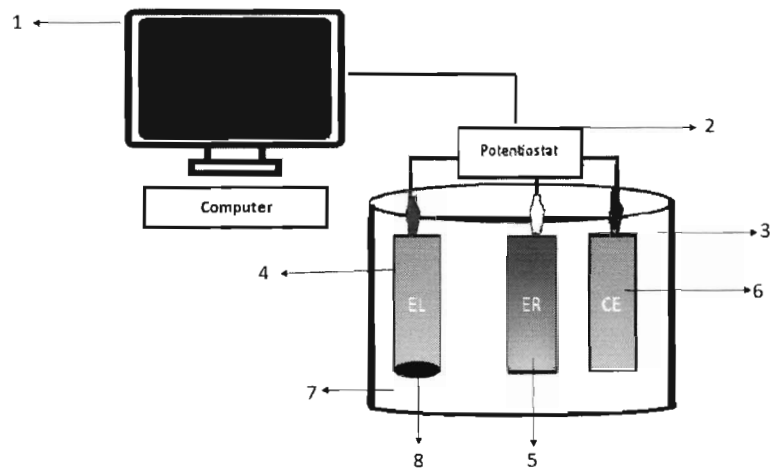


Figura 1

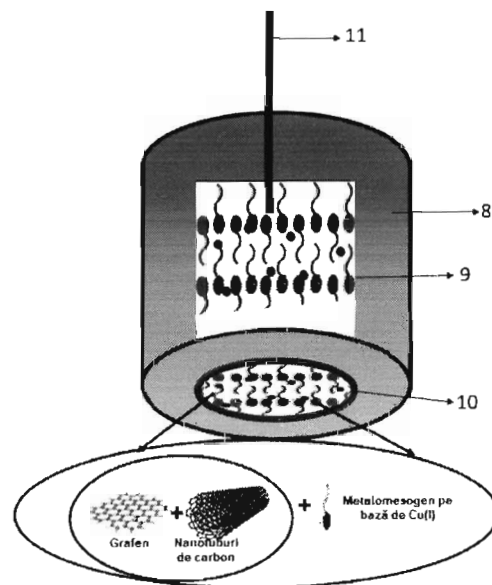


Figura 2

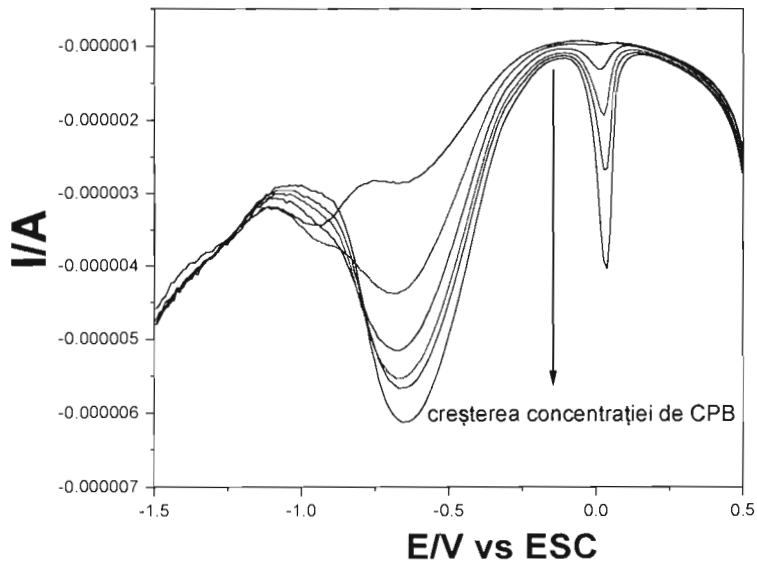


Figura 3

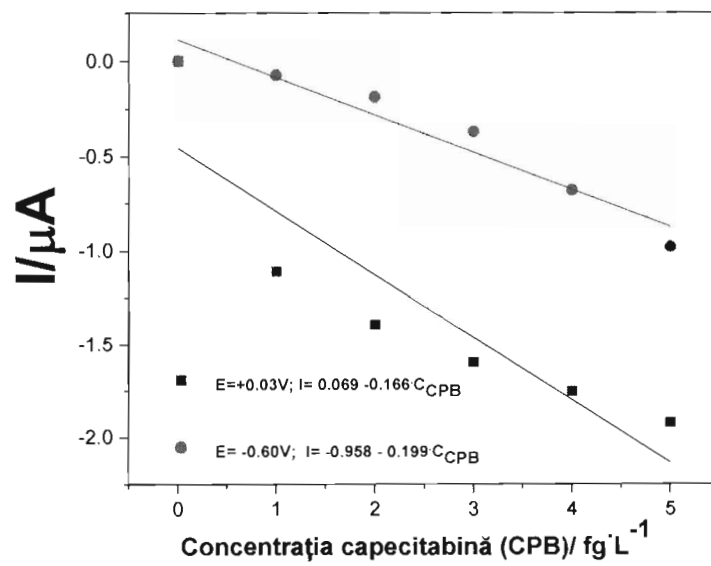


Figura 4

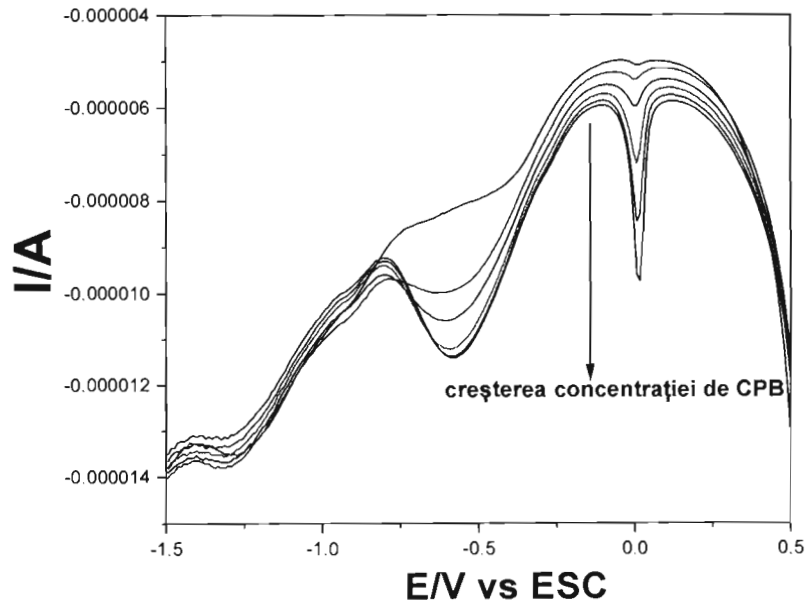


Figura 5