



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2022 00649

(22) Data de depozit: 19/10/2022

(41) Data publicării cererii:
30/04/2024 BOPI nr. 4/2024

(71) Solicitant:
• UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN
BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI
NR.313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
CHIMIE ȘI PETROCHIMIE - ICECHIM,
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.202,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• INSTITUTUL DE VIRUSOLOGIE "ȘTEFAN
S.NICOLAU", ȘOS.MIHAI BRAVU NR.285,
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• PETRISOR GABRIELA, ALEEA RÂMNICU
SĂRAT, NR.7, BL.7C, SC.2, ET.2, AP.22,
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;
• MOTELICA LUDMILA, STR.VIRGIL
MADGEARU, NR. 22, AP.2-3, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;
• BAROI ANDA- MARIA, ALEEA LILIACUL,
NR.8, JUPITER, MANGALIA, CT, RO;

• DRAGU LAURA- DENISA,
SPLAIUL UNIRII, NR.49, BL.M19, SC.1,
AP.33, BUCUREȘTI, B, RO;
• MATEI LILIA, STR.CIOCĂNEȘTI, NR.20,
SC.C, ET.3, AP.28C, BUCUREȘTI, B, RO;
• PITICA IOANA- MĂDĂLINA,
BD.CONSTANTIN BRÂNCOVEANU, NR.14,
BL.B5, SC.1, ET.2, AP.10, BUCUREȘTI, B,
RO;
• FICAI DENISA, STR. RAHOVEI NR. 30-32,
SC. 2, ET. 1, AP. 11, BRAGADIRU, IF, RO;
• FIERASCU IRINA, STR.ION MANOLESCU,
NR.2, BL.129, AP.49, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;
• FIERASCU RADU CLAUDIU,
STR.DUNĂRII, BL.D4, AP.18, ROȘIORI DE
VEDE, TR, RO;
• OPREA OVIDIU CRISTIAN,
STR. VIRGIL MADGEARU NR. 22, AP. 2-3,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
• FICAI ANTON, STR. RAHOVEI NR. 30-32,
SC. 2, ET. 1, AP. 11, BRAGADIRU, IF, RO;
• BLEOTU CORALIA, ALEEA LUNCA
BRADULUI NR. 2, BL. H5, SC. 6, AP. 2,
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO

(54) SISTEME CU ELIBERARE CONTROLATĂ
PENTRU MENȚINEREA ECHILIBRULUI MICROBIOTEI
GASTROINTESTINALE ȘI ÎMBUNĂTĂȚIREA SĂNĂTĂȚII
ȘI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTORA

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor sisteme cu eliberare controlată pentru menținerea echilibrului microbiotei intestinale utilizate ca suplimente alimentare. Procedeu, conform invenției, constă în etapele: sinteza unor materiale mezoporoase (MCM) de silice prin metoda sol-gel, având o suprafață specifică de 1000...1500 mp/g, 70...80% volume de pori mari, dimensiuni uniforme ale particulelor de la 50 până la 300 nm, funcționalizare prin încărcare în porii materialelor mezoporoase, sub vid a unor componente

active, de tip polifenoli (quercetină), respectiv, antibiotic (amoxicilină) și polifenoli în raport MCM:polifenoli, respectiv, MCM:antibiotic de 1 : 1, rezultând sisteme de tip material mezoporos/ polifenoli, respectiv, MCM/ antibiotic/polifenol, care funcționează ca vectori de transport și livrare a prebioticelelor și antibioticelor la nivelul microbiotei localizată majoritar la nivelul colonului.

Revendicări: 3

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, 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 de 649
Data depozit 19-10-2022

SISTEME CU ELIBERARE CONTROLATĂ PENTRU MENȚINEREA ECHILIBRULUI MICROBIOTEI GASTROINTESTINALE ȘI ÎMBUNĂȚĂȚIREA SĂNĂȚĂȚII ȘI PROCEDEU DE OBȚINERE A ACESTORA

Domeniul tehnic în care poate fi folosită invenția

S-a demonstrat că microbiota intestinală acționează ca un regulator cheie în sănătate iar dezechilibrul său (disbioza) conduce la apariția unor boli asociate. Este general acceptat că microbiota este un factor important în boli autoimune, în cancer, în boli cardiovasculare, reglarea greutății corporale, etc. Microbiota intervine în procese catabolice de degradare a fibrelor nedigerabile pentru a produce acizi grași cu lanț scurt (SCFA) care hrănesc enterocitele și modulează funcțiile imune și menținerea joncțiunilor epiteliale [1,2]. Cu toate acestea, modificările dietei, abuzul de antibiotice, stresul, etc pot genera disbioze și se recomandă restabilirea compoziției normale a microbiotei, acest lucru putând fi favorizat de administrarea de probiotice (microorganisme vii) și prebiotice (inclusiv polifenoli sau alte substanțe biologic active) [3]. Astfel, aceste sisteme propuse pot fi administrate ca suplimente alimentare (în cazul încărcării de polifenoli) sau medicamente (dacă se încarcă și cu antibiotice specifice împotriva bacteriilor nedorite)[4].

Descrierea stadiului actual al tehnicii

La nivel global, dezvoltarea de noi sisteme poroase de administrare a compușilor biologic activi pentru administrare orală a fost și este o preocupare continuă, de real interes. Aceste sisteme micro și mezoporoase utilizate în tratamentul bolilor legate de microbiotă au reprezentat un real interes datorită agenților biologici ce pot fi încărcăți (polifenoli și vitamine), care au capacitatea de a reechilibra raportul între tulpinile bacteriene din microbiotă și implicit de a reda funcționalitatea normală a florei intestinale.

Microbiota intestinală tipică are rol în metabolismul medicamentelor, xenobioticelor, nutrienților, imunomodulării, fermentației carbohidraților, conservarea integrității structurale a barierei mucoasei intestinale, scăderea permeabilității intestinale, apărarea împotriva agenților patogeni, etc. Modificarea compoziției comunităților microbiene, numită și disbioză, poate duce la interacțiuni perturbante între gazdă și microbi. Acest tip de tulburări în compoziția bacteriilor intestinale pot duce la vulnerabilitatea sănătății și dezvoltarea de boli.

Utilizarea constantă a substanțelor de sinteză poate conduce la dereglări ale microbiotei ce pot afecta sănătatea umană. Un astfel de exemplu îl constituie antibioticele. Ele pot fi prezente deasemenea și în alimente precum carnea, peștele, ouăle, laptele, mierea, etc datorită

administrării lor în scopul reducerii mortalității și menținerii unei producții ridicate, sau pentru a elimina eventualele bacterii patogene contaminante sau pentru a prelungi timpul de depozitare. Cercetările moderne au arătat că utilizarea excesivă a antibioticelor are o serie de efecte adverse asupra microbiotei intestinale, afectând astfel răspunsul imunitar și sănătatea, astfel crescând riscul de apariție a unor boli, unele din ele fiind alarmante la nivel global: diabetul, obezitatea sau bolile cardiovasculare.

Substanțele exogene, cum ar fi aditivii alimentari sau substanțele toxice pentru mediu, care pot pătrunde în tactul gastrointestinal pot afecta direct microbiota intestinală ducând la alterarea sănătății organismului. Prin urmare, este de mare importanță să se exploreze ce se întâmplă atunci când substanțele exogene intră în contact cu microbiota intestinală, ceea ce poate promova înțelegerea mecanismelor toxicității substanțelor exogene și poate dezvălui noile mecanisme de tratare a bolilor și, prin urmare, de îmbunătățire a sănătății umane în general.

Nanomaterialele de tipul nanoparticulelor de titan, zinc sau argint pot afecta microbiota și implicit sănătatea umană. Expunerea pe termen lung la nanoparticulele de TiO_2 poate induce leziuni ale stratului de mucus colonic și disbioza microbiotei intestinale, care este legată de exacerbarea obezității induse de dieta bogată în grăsimi. Nanoparticulele Ag pot modifica compoziția microbiotei intestinale și pot induce simptome asemănătoare colitei.

De asemenea, cercetările au prezentat ca utilizarea unor compuși naturali, administrați cu ajutorul anumitor vectori de transport poate regla compoziția și activitățile metabolice ale microbiotei intestinale, promovând astfel răspunsul imun și sănătatea. În acest context, vectorii de transport pot juca un rol esențial pentru astfel de tratamente fiind responsabili de livrarea adecvată, țintită a compușilor de interes (spre exemplu la nivelul colonului fiind astfel protejați de activitatea unor enzime gastrice, condițiile acide specifice din stomac, etc).

Factorii externi ce pot asigura livrarea inteligentă a compușilor bioactivi cu care sunt încărcăți acești vectori de transport, la locul dorit și cu viteza dorită, se bazează pe stimuli de pH, temperatură, prezența enzimelor, câmp magnetic, lumină etc. În ultimii ani, nanotehnologia a devenit o abordare promițătoare în dezvoltarea materialelor nanostructurate ca noi sisteme de livrare a medicamentelor/genelor. Astfel, materialele mezoporoase au fost utilizate în diferite domenii medicale, inclusiv terapia cancerului, ingineria țesuturilor, regenerarea osoasă, infecții sau osteoporoză. În ultimul deceniu, silicea mezoporoasă și silicații microporoși au fost utilizați în domeniul sistemelor de administrare a medicamentelor. Nanomaterialele micro și mezoporoase (MMM), de exemplu, nanoparticulele de silice, posedă caracteristici structurale excelente, cum ar fi structura poroasă ordonată (ceea ce poate fi benefic deoarece asigura un control riguros asupra cineticii de încărcare și eliberare a medicamentului), suprafață mare și volum al porilor ($700 \text{ m}^2/\text{g}$

și peste 1 cm³/g), dimensiuni variabile ale particulelor (de la 50 la 300 nm) potrivite pentru endocitoză ușoară de către celulele vii sau micrometrice (care funcționează doar ca sisteme cu eliberare controlată, fără a fi internalizate), suprafață specifică mare (care poate fi funcționalizată adecvat), biocompatibilitate bună și stabilități chimice și termice ridicate, făcând MMM-urile bune vehicule de livrare pentru medicamente și permițând utilizarea lor în aplicații biomedicale provocatoare, atât în terapie, cât și în imagistică.

Chiar dacă aceste platforme de livrare (sau vectori de transport) a medicamentelor sunt exploatate pe scară largă pentru mai multe tipuri de aplicații (fiind încărcate cu agenți anticancer, antiinfecțioși sau analgezici), sistemele cu eliberare controlată destinate microbiotei sunt doar marginal studiate.

Compușii naturali, precum polifenolii, sunt recunoscuți pentru efectele lor terapeutice, dar au o biodisponibilitate scăzută și nu sunt stabili pe termen lung. Prin urmare, stabilizarea acestor substanțe trebuie îmbunătățită, de exemplu printr-o tehnică de încapsulare, în diferiți transportori, pentru a le proteja împotriva degradării și eliberării în stomac. În mod specific, grupările hidroxi ale polifenolilor (ca și componentă hidrofilă) acționează ca donatori sau acceptori ai legăturilor de hidrogen care contribuie la interacțiunile dintre polifenoli și o varietate de substanțe bioactive sau materiale purtătoare. În schimb, unitatea de benzen aromatic a polifenolilor (ca și parte hidrofobă) permite interacția cu alte materiale/substanțe cu grupări hidrofobe, iar acest lucru promovează și mai mult generarea de sisteme de livrare a medicamentelor.

Brevetul CA2960337A1 revendica *Lactobacillus reuteri* pentru utilizarea în prevenirea sau tratamentul disbiozei microbiotei, în special, pentru niveluri scăzute de Actinobacteria și niveluri crescute de Proteobacterii, la mamifere tinere și în prevenirea sau tratamentul tulburărilor asociate cu acestea.

Brevetul US9649289B1 revendica tratamentul disbiozei și stărilor de boală asociate cauzate sau agravate de disbioză, folosind un tratament oral al nanoparticulelor de salsalat.

Brevetul WO2011005756A1 revendica metode pentru livrarea agenților terapeutici, profilactici și de diagnostic la o gazdă animală, în care livrarea agentului este ținută către o nișă bacteriană prezentă în gazdă.

Brevetul WO2011104275A1 revendica o formulare pentru vector de transport cu eliberare lentă și controlată a unui adsorbant în intestinul inferior al mamiferelor.

Brevetul US6706287B2 revendica compoziții microîncapsulate și/sau acoperite care conțin un amestec de prebiotice, prebiotice și bacterii amoniafile cu activitate ureazică ridicată cu sau fără adsorbanti cu afinități specifice de adsorbție pentru toxine uremice precum creatinina, acidul uric, fenolii, indolii, moleculele cu greutate moleculară medie și fosfatul anorganic.

Problema tehnică

Dezechilibrul microbiotei reprezintă un factor important în organism fiind direct implicat în numeroase procese care pot genera diverse probleme de sănătate / boli. În acest context, prezenta cerere își propune livrarea de prebiotice (în special polifenoli) destinate pentru reechilibrarea microbiotei sau de antibiotice pentru combaterea unor microorganisme oportunistice de la nivelul colonului: candida Albicans, Clostridium difficile, stafilococcus aureus, etc. sau a unora patogene de tipul: salmonela, shigella, vibrio cholerae, etc [5]. Problema tehnica care necesita a fi rezolvată presupune încărcarea substanțelor biologic active de interes în interiorul structurii poroase în vederea protejării acestora și a eliberării lor, nealterate, la nivelul microbiotei, majoritar localizate la nivelul colonului.

Suplimentar, înțelegerea mecanismelor de rezistență multiplă la drog (MDR) ale bacteriilor din microbiota intestinală este una dintre problemele majore cu care omenirea se confrunta în prezent. Rezistența unor bacterii la antibiotice (care duce la infecții cunoscute sub denumirea de infecții nosocomiale / infecții intraspitalicești), a devenit o problemă majoră de sănătate publică, deoarece este responsabilă pentru zeci de mii de decese anuale, în Europa. Numai în Franța, rezistența bacteriilor la antibiotice este responsabilă pentru cel puțin 5.500 de decese pe an. Fenomenul de rezistență este legat în special de utilizarea abuzivă a antibioticelor. În 2015, Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a avertizat cu privire la necesitatea de a optimiza utilizarea medicamentelor antimicrobiene, precum și de a consolida cercetarea și dezvoltarea de compuși noi și eficienți. Olivier Berteau și echipa sa de chimie și biologie sintetică (ChemSyBio) de la Institutul Micalis și-au dedicat munca acestui domeniu prin studiul bacteriilor din microbiota intestinală.

Soluția tehnică

Soluția tehnică care stă la baza acestei cereri de brevet de invenție este bazată de utilizarea MCM încărcate cu substanțe naturale precum polifenoli (cunoscuți pentru activitățile lor antioxidante, antimicrobiene, antifungice și anticancerigene) și antibiotice pentru a fi utilizate ca sisteme de livrarea țintită a substanțelor biologic active. Produsele propuse trebuie să poată îndeplini caracteristici specifice, cum ar fi structura poroasă ordonată specifică fiecărui compus activ (pentru a asigura un control avansat al capacității de încărcare și un profil de eliberare adecvat), dimensiunea uniformă a particulelor, volumul porilor trebuie să fie mare pentru a

îmbunătăți capacitate de încărcare, suprafață specifică să fie funcționalizată adecvată astfel încât livrarea substanțelor active să fie țintită la nivelul colonului și după un profil adecvat pentru a îmbunătăți calitatea microbiotei intestinale și răspunsul inflamator și în final asigurarea unui impact pozitiv asupra sănătății umane.

Avantajele invenției în raport cu stadiul tehnicii

Avantajele soluției propuse sunt:

Sistemele poroase, în special cele mezoporoase au suprafețe specifice (de până la 1000 – 1500m²/g) și volume de pori mari (până la 70-80%vol) ceea ce permite încărcare considerabilă și o interacție puternică cu substanțele biologice active adsorbite în pori (mai ales dacă suprafața MCM este funcționalizată adecvat). Utilizarea materialelor mezoporoase de tipul silicei mezoporoase sau a zeoliților este benefică deoarece în funcție de destinația acestora pot fi eliminate integral (în cazul administrării orale) sau pot fi transformate în wolastonit și apoi apatită (dacă sunt introduse în țesutul osos). Sistemele mezo și microporoase pot fi ușor funcționalizate și implicit viteza de eliberare poate fi adaptată astfel încât să se asigure doza terapeutică necesară. Mai mult, sistemul poros permite încărcarea substanțelor de interes în pori și implicit protejarea acestora până la eliberarea în zona de interes.

Descrierea detaliată a invenției

Sistemele de administrare a medicamentelor au câștigat interes în medicină, fiind potrivite pentru tratamentul cancerului, infecțiilor, tratarea bolilor neurodegenerative sau inflamatorii etc., deoarece pot viza și optimiza concentrația eliberată a agentului activ biologic dorit și pot reduce, sau chiar evita, toxicitatea sistemică. Factorii declanșatori se bazează pe pH, temperatură, prezența enzimelor, câmp magnetic, lumină etc. și pot asigura livrarea inteligentă la locul dorit și în dozele dorite [6]. În ultimul deceniu, o atenție sporită a fost acordată utilizării silicei mezoporoase și silicaților microporoși în domeniul sistemelor de administrare a medicamentelor [7].

Materialele mezoporoase (MMM) de silice, posedă caracteristici structurale excelente, cum ar fi structura poroasă ordonată (cu controlul cineticii de încărcare și eliberare a medicamentului), suprafață mare și volum al porilor (700 m²/g și peste 1 cm³/g), dimensiuni variabile ale particulelor (de la 50 la 300 nm) potrivite pentru endocitoza ușoară de către celulele vii, suprafață externă și cilindrică (care poate fi funcționalizată selectiv), biocompatibilitate bună și stabilități chimice și termice ridicate. Astfel, MMM-urile sunt bune vehicule de livrare pentru medicamente și putând fi utilizate în terapie dar și în alte aplicații biomedicale provocatoare ca de

ex. imagistica [8-10]. Tehnicile convenționale utilizate pentru fabricarea MMM-urilor sunt, printre altele, metoda sol-gel, sinteza hidrotermală, sinteza cu microunde și metoda de sinteză a șablonului. În prezent, sinteza MMM-urilor a suferit diverse modificări și se bazează în principal pe ajustarea riguroasă a naturii și concentrației surfactantului (șablon) sau a parametrilor soluției (pH, temperatură, prezența co-surfactantului etc.), rezultând particule cu morfologii și dimensiuni diferite. Pentru ca MMM-urile să fie purtători ideali pentru livrarea medicamentelor, dimensiunea particulelor trebuie să fie uniformă, iar volumul porilor trebuie să fie mare, pentru a spori capacitatea de încărcare [7, 11, 12]. Suprafața materialelor mezoporoase de tip MCM sunt bogate în grupări silanol și pot fi modificate cu succes cu o gamă largă de grupări funcționale adecvate pentru interacții puternice sau slabe cu diversele substanțe biologic active, inclusiv antibiotice, agenți antitumorali, antioxidanți, vitamine, naturale sau sintetice. Unele dintre aceste substanțe au aplicații limitate din cauza solubilității slabe în apă, ceea ce duce la o absorbție slabă în tractul gastrointestinal după administrarea orală. Diametrul exterior al nanoparticulelor are un rol important în livrarea medicamentelor. Particulele sub 1 nm pot trece prin bariera hematoencefalică, în timp ce particulele cu aproximativ 6 nm pot trece prin capilare continue, cum ar fi cele găsite în mușchi, piele și plămâni. Particulele de până la 50-60 nm sunt capabile să iasă din capilarele fenestrate ale rinichiului, intestinului și unele glande endocrine/exocrine. Cele mai mari particule, de până la 600 nm, se vor acumula cel mai probabil în ficat, splină și măduva osoasă [13]. Deși nanopurtătorii organici, cum ar fi lipozomii, miceliile polimerice, nanocapsulele etc. pot încapsula cu ușurință agenți activi, aceștia au câteva dezavantaje, cum ar fi instabilitatea fizico-chimică și scurgerea medicamentului. Astfel, purtătorii anorganici de silicat, cum ar fi zeoliții și silicea mezoporoasă (MSN) sunt purtători eficienți pentru agenții activi biologici datorită stabilității lor excelente.

Adsorbția fizică și evaporarea solventului sunt două metode de încărcare a medicamentului, în care majoritatea medicamentelor pătrund adânc în canalele porilor purtătorului. Medicamentul adsorbit fizic pe suprafața MSN poate difuza imediat, în timp ce pentru metodele care presupun încărcarea în pori permit eliberări pe intervale mai lungi de timp [9]. Polifenolii sunt componente bioactive conținute în dietele umane care posedă o gamă largă de proprietăți, inclusiv acțiuni antioxidante, antiinflamatorii și hipolipidemice. Ei sunt distribuiți pe scară largă în alimente vegetale și în unele medicamente/suplimente alimentare pe bază de plante [14]. S-a raportat că aportul zilnic de quercetină a variat între 20 și 100 mg la diferite populații [1].

S-a demonstrat că quercetina este protectoare împotriva bolilor cardiovasculare, diabetului zaharat, ficatului gras nealcoolice și a unor tipuri de cancer. Cu toate acestea,

mecanismele implicate sunt puțin înțelese. Recent, a fost recunoscut că quercetina joacă un rol în interacțiunea cu comunitatea microbiană intestinală [15]. Porras și colab. a raportat că suplimentarea cu quercetină a îmbunătățit semnificativ disbioza intestinală la șoarecii hrăniți cu o dietă bogată în grăsimi [16] prin activarea căii TLR-4 dependentă de lipoperoxidare atenuată. Etxeberria și colab. au demonstrat că quercetina a fost eficientă în reducerea dezechilibrului microbian intestinal indus de o dietă bogată în zaharoză [17]. Astfel, utilizarea polifenolilor sub forma de preparate medicamentoase sau suplimente alimentare pot fi eficiente în rebioza însă este important să se protejeze substanțele active pentru a se evita degradarea acestora.

Exemplu 1 - Sisteme MCM/Polifenoli

Obținerea sistemelor mezoporoase de tip **MCM/Polifenoli** urmează următoarele etape, și anume:

- Sinteza materialelor mezoporoase de tip **MCM41sau 48** prin metoda sol-gel, utilizând agenți de template de tip bromură de cetiltrimetil amoniu (CTAB). Astfel 5g CTAB au fost dizolvați în 960 ml apă distilată pe baia de ultrasunete până când soluția a devenit limpede. Peste soluția obținută au fost adăugați 340 ml alcool etilic și 100 soluție amoniacală și se continuă agitarea până când soluția devine omogenă. După omogenizare se adaugă 20 ml TEOS și se continuă agitarea 3 ore la aceeași viteză de rotație, timp în care se obține un precipitat translucid. Precipitatul astfel obținut este filtrat, spălat cu apă distilată și etanol și uscat timp de 12 ore la 100°C. După uscare produsul final este calcinat conform profilului de calcinare: încălzire de la temperatura camerei la 300°C cu o viteză de încălzire de 8 grade/min, încălzire de la 300 la 550 cu o viteză de încălzire de 2 grade/min și calcinare la 550°C timp de 9h.
- **Încărcarea polifenolilor (quercetin, acid galic, acid cafeic...)** în porii materialelor mezoporoase. Adsorbția polifenolilor (acid galic (GA), acid cafeic (AC), quercetina(Q), etc.), a fost efectuată prin contactarea materialelor mezoporoase de tip MCM cu soluție de polifenoli de concentrații diferite în acetonă în raport masic MCM/polifenol=1:1. În scopul de a asigura o încărcare bună de acid galic în interiorul sistemului poros, încărcarea a fost realizată sub vid, la temperatura camerei. Înainte de adăugarea soluției de acid galic, materialul mezoporos a fost expus 30min la un vid de minim 100mbar. Pe parcursul acestei etape este realizată eliminarea parțială a aerului din sistemul de pori, permițând o adsorbție superioară a polifenolilor. Probele obținute s-au uscat la 100°C. Astfel în final au fost obținute o serie de sisteme de tip material mezoporos/polifenoli

Exemplu 2 - Sisteme MCM/antibiotic/polifenoli

- **Sinteza materialelor mezoporoase** de tip **MCM41** sau **48** s-a realizat similar ca în cazul exemplului 1.
- **Adsorbția antibioticului** a fost efectuată prin **contactarea** materialelor mezoporoase de tip **MCM** cu soluție de antibiotic (amoxicilina) de concentrație prestabilită în acetonă sau alt solvent potrivit. În scopul de a asigura o încărcare bună atât a antibioticului cât și a quercetinei în interiorul sistemului poros, încărcarea a fost realizată sub vid, la temperatura camerei. Înainte de adăugarea soluției de acid galic, materialul mezoporos a fost expus 30min la un vid de minim 100mbar. Pe parcursul acestei etape este realizată eliminarea parțială a aerului din sistemul de pori, permițând o adsorbție superioară a acidului galic, în soluție, în interiorul porilor. Probele obținute s-au uscat la 100°C.
- **Încărcarea polifenolilor (quercetin, acid galic, acid cafeic...)** în porii materialelor mezoporoase s-a realizat similar ca în exemplul 1 însă utilizând sistemul care avea deja încărcat amoxicilina.
- Astfel, în final, au fost obținute o serie de sisteme de tip material mezoporos/amoxicilina (raport masic MCM/amoxicilina =1:1), material mezoporos/quercetina și material mezoporos/ antibiotic/quercetina (raport masic MCM/antibiotic/polifenol=1:1:0.1).

Exemplu 3 - Sisteme $Fe_3O_4/SiO_2/MCM/polifenoli$

- **Obținerea nanoparticulelor de magnetită (Fe_3O_4)** s-a realizat prin metoda co-precipitării în mediu bazic. În scopul obținerii particulelor de magnetită de dimensiuni nanomerică s-a utilizat sistemul $FeCl_2 - FeCl_3$ în raport molar 1:2 utilizând ca agent de precipitare soluția de NaOH 0.5-5 M.
- **Obținerea nanoparticulelor de magnetită Fe_3O_4/SiO_2** s-a realizat prin procedeul sol-gel în soluție alcoolică.
- **Sinteza materialelor mezoporoase** de tip **MCM41** sau **48** s-a realizat similar ca în cazul exemplului 1 cu mențiunea că în etapa de dizolvare a CTAB-ului au fost adăugate și nanoparticulele de Fe_3O_4/SiO_2
- **Încărcarea polifenolilor (quercetin, acid galic, acid cafeic...)** s-a realizat ca în exemplul 1 pornind de la sistemul $Fe_3O_4/SiO_2/MCM$. Astfel, în final, au fost obținute o serie de sisteme de tip material **$Fe_3O_4/SiO_2/MCM/polifenoli$** , material mezoporos/quercetina și material mezoporos/ antibiotic/quercetina (raport masic MCM/antibiotic/polifenol=1:1:1).

REFERINTE BIBLIOGRAFICE

1. F. Sommer and F. Backhed, The gut microbiota—masters of host development and physiology, *Nat. Rev. Microbiol.*, 2013, 11, 227–238.
2. C. J. Kelly, L. Zheng, E. L. Campbell, B. Saeedi, C. C. Scholz, A. J. Bayless, K. E. Wilson, L. E. Glover, D. J. Kominsky, A. Magnuson, T. L. Weir, S. F. Ehrentraut, C. Pickel, K. A. Kuhn, J. M. Lanis, V. Nguyen, C. T. Taylor and S. P. Colgan, Crosstalk between Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids and Intestinal Epithelial HIF Augments Tissue Barrier Function, *Cell Host Microbe*, 2015, 17, 662–671.
3. W. H. Tang, T. Kitai and S. L. Hazen, Gut Microbiota in Cardiovascular Health and Disease, *Circ. Res.*, 2017, 120, 1183–1196.
4. T Shi, X Bian, Z Yao, Y Wang, W Gao, C Guo,; Quercetin improves gut dysbiosis in antibiotic-treated mice, 2020, DOI: 10.1039/d0fo01439g
5. <https://ecosh.com/dysbiosis-microbial-imbalance-symptoms-causes-and-natural-treatment/>
6. T. Ozdal, D.A. Sela, J.B. Xiao, D. Boyacioglu, F. Chen, E. Capanoglu, The Reciprocal Interactions between Polyphenols and Gut Microbiota and Effects on Bioaccessibility, *Nutrients* 8(2) (2016).
7. Y.X. Zhou, G.L. Quan, Q.L. Wu, X.X. Zhang, B.Y. Niu, B.Y. Wu, Y. Huang, X. Pan, C.B. Wu, Mesoporous silica nanoparticles for drug and gene delivery, *Acta Pharm Sin B* 8(2) (2018) 165-177.
8. E. Ahmadi, N. Dehghannejad, S. Hashemikia, M. Ghasemnejad, H. Tabebordbar, Synthesis and surface modification of mesoporous silica nanoparticles and its application as carriers for sustained drug delivery, *Drug Deliv* 21(3) (2014) 164-172.
9. L.M. Cui, Y.G. Wang, L. Gao, L.H. Hu, Q. Wei, B. Du, Removal of Hg(II) from aqueous solution by resin loaded magnetic beta-cyclodextrin bead and graphene oxide sheet: Synthesis, adsorption mechanism and separation properties, *J Colloid Interf Sci* 456 (2015) 42-49.
10. X.Y. Huang, N.P. Young, H.E. Townley, Characterization and Comparison of Mesoporous Silica Particles for Optimized Drug Delivery, *Nanomater Nanotechno* 4 (2014).
11. L. Chen, X.J. Zhou, C.L. He, Mesoporous silica nanoparticles for tissue-engineering applications, *Wires Nanomed Nanobi* (2019).
12. R. Narayan, U.Y. Nayak, A.M. Raichur, S. Garg, Mesoporous Silica Nanoparticles: A Comprehensive Review on Synthesis and Recent Advances, *Pharmaceutics* 10(3) (2018).
13. X.Y. Huang, N.P. Young, H.E. Townley, Characterization and Comparison of Mesoporous Silica Particles for Optimized Drug Delivery, *Nanomater Nanotechno* 4 (2014).
14. G. D'Andrea, Quercetin: A flavonol with multifaceted therapeutic applications?, *Fitoterapia*, 2015, 106, 256–271.

15. S. Yoshino, A. Hara, H. Sakakibara, K. Kawabata, A. Tokumura, A. Ishisaka, Y. Kawai and J. Terao, Effect of quercetin and glucuronide metabolites on the monoamine oxidase-A reaction in mouse brain mitochondria, *Nutrition*, 2011, 27, 847–852.
16. D. Porras, E. Nistal, S. Martinez-Florez, S. PisoneroVaquero, J. L. Olcoz, R. Jover, J. Gonzalez-Gallego, M. V. Garcia-Mediavilla and S. Sanchez-Campos, Protective effect of quercetin on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice is mediated by modulating intestinal microbiota imbalance and related gut-liver axis activation, *Free Radicals Biol. Med.*, 2017, 102, 188–202. 20
17. U. Etxeberria, N. Arias, N. Boque, A. Romo-Hualde, M. T. Macarulla, M. P. Portillo, F. I. Milagro and J. A. Martinez, Metabolic faecal fingerprinting of transresveratrol and quercetin following a high-fat sucrose dietary model using liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry, *Food Funct.*, 2015, 6, 2758–2767.

Revendicări

1. Prin prezentul brevet revendicăm dreptul de proprietate intelectuală asupra sistemelor micro și mezoporoase încărcate cu polifenoli și respectiv antibiotic și polifenoli **caracterizat prin aceea că** funcționează drept suplimente alimentare destinate pentru rebioza microbiotei gastro-intestinale;

2. Procedeul de obținere a suplimentelor alimentare destinate pentru rebioza microbiotei gastro-intestinale **caracterizat prin aceea că** presupune încărcarea substanțelor de interes (polifenoli și/sau antibiotice) în pori pentru a se asigura stabilizarea acestor componenți în sucul gastric și transportul nealterat al acestora în colon (unde există cea mai mare concentrare a microbiotei gastro-intestinale);

3. Procedeul de obținere a suplimentelor alimentare **caracterizat prin aceea că** substanțele active (polifenoli și/sau antibiotice) sunt încărcate sub vid sau prin adsorbție din soluție într-un raport astfel ales încât acestea să se încarce preponderent în pori (de regulă volumul de pori fiind de până la 70 – 80% raportat la volumul materialelor mezo și microporoase);