



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2019 00700**

(22) Data de depozit: **31/10/2019**

(41) Data publicării cererii:
29/04/2021 BOPI nr. **4/2021**

(71) Solicitant:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
OPTOELECTRONICĂ - INOE 2000,
STR.ATOMIȘTILOR NR.409, MĂGURELE,
IF, RO**

(72) Inventatori:
• **VLADESCU ALINA, STR. MOHORULUI,
NR. 6, BL.17, SC.5, AP.67, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **KISS ADRIAN EMIL, STR.FIZICIENILOR
NR.12, BL.N1, AP.5, MĂGURELE, IF, RO;**
• **BRAIC MARIANA, STR.TELIȚA NR.4,
BL.66 B, AP.43, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B,
RO**

(54) **MATERIALE BIOACTIVE DE HIDROXIAPATITĂ CU ABILITĂȚI ANTIBACTERIENE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la materiale bioactive și antibacteriene pe bază de hidroxiapatită dopată cu zinc, utilizate pentru acoperirea implanturilor realizate din aliaj de Ti_6Al_4V și aliaj de Mg. Materialele conform invenției sunt formate din hidroxiapatită dopată cu Zn, având o grosime cuprinsă între 200 nm și 1 μm , cu o cantitate de Zn, exprimată în procente masice, cuprinsă între 3...12%, cu raportul Ca/P cuprins între 1,61...1,83 și dimensiunea cristalelor de maxim 16 nm, materialele prezentând o bună aderență la substrat având forțele normale critice la testul de aderență prin zgâriere cuprinse între 8...18 mN, sunt hidrofile, unghiul de contact fiind $< 40^\circ$, au o rezistență superioară la coroziune

în soluție biologică simulată SBF cu un $pH = 7,4$ la o temperatură de $37^\circ C$, au o porozitate $< 0,1\%$ și o eficiență de protecție la atacul coroziv $Pe > 86\%$, prezintă abilități superioare de biomineralizare după 21 zile de imersare în SBF, PBS sau DMEM, înregistrând o creștere în greutate de maxim 2,1 mg, rata de biodegradare evaluată prin pierderea în greutate fiind de maxim 0,1 mg după imersarea în SBF timp de 21 zile și o rezistență bună la atacul bacteriilor *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* și *Salmonella Typhimurium*.

Revendicări: 2



MATERIALE BIOACTIVE DE HIDROXIAPATITĂ CU ABILITĂȚI ANTIBACTERIENE

DESCRIERE

Invenția se referă la obținerea de suprafețe bioactive pe bază de hidroxiapatită dopată cu zinc, utilizând tehnici de depunere din fază fizică de vapori, utilizate pentru acoperirea implanturilor fabricate din aliaje din Ti sau Mg.

Înlocuirea funcției sau a țesuturilor deteriorate/pierdute cu biomateriale bine adaptate rămâne o zonă de cercetare și dezvoltare activă. În ultimii ani s-a înregistrat un interes sporit în domeniile legate de regenerarea țesuturilor și a funcțiilor umane. O gamă largă de polimeri, ceramici și metale sunt destinate să permită și să susțină regenerarea adecvată a celulelor, țesuturilor și organelor și, de asemenea, să restabilească funcțiile acestora. Aceste materiale au o durată de viață predefinită in vivo și un proces de degradare bine controlat, care le permite să asigure suportul necesar pentru dezvoltarea matricei celulare și apoi să se dezintegreze în siguranță, asigurând zona adiacentă pentru țesutul ce urmează a crește. Aceste biomateriale pot fi impregnate cu diferite molecule chimice și biologice care induc, promovează și susțin regenerarea țesuturilor, suprimă răspunsul pro-inflamator sau colonizarea bacteriană.

O provocare majoră cu care se confruntă utilizarea biomaterialelor în aplicațiile ortopedice constă în găsirea unor materiale care își mențin proprietățile (stabilitatea mecanică, rezistența la coroziune și biocompatibilitatea) după implantarea în corpul uman. În aplicațiile ortopedice, materialele metalice reprezintă alegerea cea mai frecventă pentru repararea sau înlocuirea țesutului osos deteriorat. Eficacitatea implanturilor artificiale este determinată în principal de caracteristicile lor de suprafață, cum ar fi: morfologia suprafeței, microstructura, compoziția, răspunsul anticoroziv și biologic după implantarea în organismul uman, deoarece acestea joacă un rol important în adsorbția proteinelor, care mediază aderența celulară. Este posibilă eliberarea de ioni metalici toxici și/sau particule prin procese de coroziune sau uzură ce conduc la procese inflamatorii care diminuează în continuare biocompatibilitatea și cauzează pierderea țesutului. Prin urmare, comportamentul in vivo și performanța materialelor metalice biocompatibile depind puternic de proprietățile lor de suprafață, care pot fi modificate prin utilizarea unor acoperiri care să conducă la obținerea unor implanturi cu calități deosebite și cu real succes pe termen lung [1,2]. Acoperirea cu straturi subțiri a demonstrat a fi o bună modalitate de a schimba interacțiunile celulă- material în mod selectiv, depinzând de aplicația urmărită. În principal, este de dorit ca acoperirile să fie în măsură să susțină atât funcțiile biologice ale celulelor și integrarea ulterioară a implantului, cât și să

evite posibilele infecții bacteriene. Interacțiunile celulă-material și adeziunea bacteriană pot fi modificate, întrucât sunt afectate de diversi factori fizici și chimici ai suprafeței unui material [1,2].

Materialele pe bază de ceramici bioactive sunt în prezent cele mai promițătoare soluții în vederea creșterii capacității de osteointegrare, datorită abilității crescute de biomineralizare precum și a caracterului activ pe care îl prezintă [3-7]. Dintre diferitele tipuri de materiale bioactive existente, Hidroxiapatita (HAP) are o compoziție și o structură moleculară similară cu cea a osului natural, astfel a fost utilizată pe scară largă pentru acoperirea implanturilor metalice în vederea promovării activităților celulare și pentru a stimula formarea unui os nou. S-a sugerat că, cu cât structura HAP este mai asemănătoare cu cea a mineralelor osoase în compoziție, cristalinitate, structura cristalină, mărimea cristalelor și morfologia, osteoconductivitatea este mai bună [4].

Materialele bioactive pe bază de HAP disponibile comercial sunt predominant obținute prin tehnica pulverizării în plasmă și au o grosime a stratului de până la 150 μm . Cu toate acestea astfel de acoperiri prezintă dezavantaje precum o aderență slabă, neuniformitate a acoperirii pe suprafață și slab control asupra structurii cristaline a HAP obținute [4-7].

Problema pe care o rezolvă această invenție este obținerea unor suprafețe bioactive și antibacteriene pe bază de hidroxiapatită utilizând metodă de tip depunere din fază fizică de vapori (pulverizare magnetron în regim de radio frecvență), pe substrat metalic din aliaj Ti6Al4V și aliaj MgCa1. Aceste suprafețe noi determină îmbunătățirea abilităților de osteointegrare a suprafeței implanturilor din aliaj Ti6Al4V sau MgCa1, și creșterea rezistenței la atacul bacterilor, comparativ cu cele neacoperite, conducând totodată și la o refacere rapidă a structurii osoase în zona afectată. În cazul aliajului de tip MgCa1, se va diminua și rata de distrugere a aliajului de Mg, cunoscut ca având o rată mare de degradare în contact cu mediul din organismul uman.

Proprietățile superioare ale suprafețelor acoperite cu HAP dopată cu Zn, care fac obiectul invenției, sunt generate de transformarea suprafeței implanturilor într-o suprafață atât cu caracter bioactiv cât și cu abilități antibacteriene, datorită adăugării Zn. Suprafețele acoperite cu HAP dopată cu Zn, conform invenției, prezintă următoarele avantaje:

- structură cu morfologie columnară cu dimensiuni nanometrice ($\sim 30 \text{ nm}$);
- aderență bună la substraturi metalice,
- rugozității de ordinul nanometrilor,
- suprafețe hidrofile,



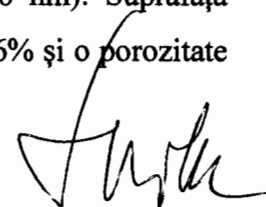
- protecție eficientă la acțiunea agenților corozivi care se găsesc în organismul uman (DMEM, PBS și SBF la 37°C),
- abilități de bioactivitate îmbunătățite prin rata de degradare scăzută și capacitate mare de biomineralizare în medii ca DMEM, PBS și SBF la 37°C.

Materialele pe bază de HAP dopată cu Zn, conform invenției, sunt obținute printr-o metodă de tip depunere din fază fizică de vapori (pulverizare magnetron în regim de radio frecvență), într-o plasmă ce conține atomi și ioni rezultați prin pulverizarea a doua ținte realizate din hidroxiapatită și a uneia din ZnO, precum și argon - utilizat ca gaz reactiv. Puterea aplicată pe catodi este cuprinsă între 0,6 și 50 W, fiind dependentă de natura catodului utilizat pentru depunere. Debitul de argon a fost variat între 5 și 8 cm³/min. Realizarea straturilor a fost efectuată la temperaturi cuprinse între 300° și 800°, astfel încât să fie obținute materiale cristaline pe bază de hidroxiapatită și substraturile acoperite să nu sufere modificări structurale sau mecanice. Timpul de depunere a fost de maxim 360 min.

Invenția este prezentată în continuare în mod detaliat.

Materialele, conform invenției, sunt realizate din HAP dopată cu Zn, unde Zn este considerat element de aliere și este cuprins între 3 și 12%, având grosimi totale cuprinse între 200 nm și 1 μm. Valoarea raportului Ca/P pentru acoperirile dezvoltate variază între 1,61 și 1,83. Materialele pe bază de HAP+Zn prezintă o bună aderență la substrat, forțele normale critice la testul de aderență prin zgâriere ("nanoscratch test") fiind cuprinse între 8 – 18 mN. Suprafețele obținute sunt hidrofile, unghiul de contact fiind < 40° și au rugozități medii < 50 nm. Suprafețele prezintă o rezistență superioară la coroziune în soluție biologică simulată (SBF, pH= 7,4) la 37 °C. Porozitatea (P) acoperirilor este sub 0,10 %, iar eficiența protecției la atacul coroziv (Pe) este mai mare de 86%. De asemenea, suprafețele prezintă abilități superioare de biomineralizare după 21 zile de imersare în SBF, PBS sau DMEM, înregistrând o creștere în greutate de maxim 2,1 mg, raportată la unitatea de suprafață a probelor. Rata de biodegradare a fost evaluată prin pierderea în greutate, fiind de maxim 0,1 mg. Suprafețele au demonstrat și rezistență bună la testele efectuate cu bacterii de tip *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* și *Salmonella Typhimurium*.

Un exemplu de realizare a unei suprafețe bioactive și antibacteriene pe bază de HAP dopată cu Zn este cel constituit din stratul de HAP+Zn depus la 300°C pe substrat din aliajul MgCa1, ce conține 6% Zn, cu un raport Ca/P egal cu 1,69 și o grosime de 220 nm . Suprafața substratului (MgCa1) este complet și uniform acoperită. Acoperirile prezintă o morfologie a suprafeței sub formă de coloane, evidențiind o structură rugoasă (Ra=36 nm). Suprafața prezintă o valoare ridicată a eficienței protecției la atacul coroziv de ~ 93,6% și o porozitate



scăzută de 0,08 %, indicând o creștere a rezistenței la coroziune a substratului MgCa1, indicând totodată și o degradare lentă a aliajului. După testele de bioactivitate realizate la diferite perioade de imersie, acoperirile realizate prezintă un raport Ca/P după cum urmează: după 1 zi = 1,66; 3 zile = 1,67; 7 zile = 1,71; 14 zile = 1,76; 21 zile = 1,76. Masele câștigate raportate la unitatea de suprafață sunt după cum urmează: după 1 zi = 0,06 mg; 3 zile = 0,13 mg; 7 zile = 0,58 mg; 14 zile = 1,73 mg; 21 zile = 4,72 mg. Imersarea în DMEM timp de 21 de zile indică formarea unei mase de apatită considerabilă, fapt ce evidențiază o bună bioactivitate și capacitate de biomineralizare. Suprafețele au demonstrat o rezistență bună la testele efectuate cu bacterile de tip *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* și *Salmonella Typhimurium*.



**MATERIALE BIOACTIVE DE HIDROXIAPATITĂ CU ABILITĂȚI
ANTIBACTERIENE**

FIȘĂ BIBLIOGRAFICĂ

1. J.R. Davis, Hand Book of Materials for Medical Devices, 1st ed., ASM International, 2003.
2. S. A. Ansari, Husain, Potential applications of enzymes immobilized on/in nano materials: A review, Biotechnology Advances (2012), pag. 512 – 523,
3. P.Ducheyne, K.Healy, D.W. Hutmacher, D.W. Grainger, C. J.Kirkpatrick, Comprehensive Biomaterials (1st Edition) Elsevier Science (2011).
4. B. León, J.A. Jansen, Thin Calcium Phosphate Coatings for Medical Implants, Springer, New York (2009).
5. Method for hydroxiapatite obtaining, Belyaeva Snezhana Aleksandrovna, Nikolskij Viktor Mikhajlovich, RU2641919 (C1) — 2018-01-23.
6. Orthopedic implant, Vallittu Pekka, WO2016EP65545 20160701.
7. Producing Calcium Phosphate Compositions, De Oliveira Lupércio Tarcísio, US201715722599 20171002.
8. Method for preparing zinc-doped hydroxyapatite in collagen matrix for bio-medical applications, Predoi Daniela, Ciobanu Steluța Carmen, Popa Cristina-Liana, Iconaru Simona-Liliana, RO20160000483 20160704.



MATERIALE BIOACTIVE DE HIDROXIAPATITĂ CU ABILITĂȚI ANTIBACTERIENE

REVENDICĂRI

1. Materiale bioactive și antibacteriene, **caracterizate prin aceea că** sunt formate din hidroxiapatită dopată cu Zn, având grosimi totale cuprinse între 200 nm și 1 μ m, cu Zn cuprins între 3 și 12%, au raportul Ca/P cuprins între 1,61 și 1,83 și dimensiunea cristalelor de maxim 16 nm.
2. Materiale bioactive și antibacteriene, conform revendicării 1, **caracterizate prin aceea că** prezintă o bună aderență la substrat, forțele normale critice la testul de aderență prin zgâriere ("nanoscratch test") fiind cuprinse între 8 – 18 mN, sunt hidrofile, unghiul de contact fiind $< 40^\circ$, prezintă o rezistență superioară la coroziune în soluție biologică simulată (SBF, pH= 7,4) la 37 °C, au o porozitate mai mică de 0,1% și o eficiență de protecție la atacul coroziv (Pe) mai mare de 86%, prezintă abilități superioare de biomineralizare după 21 zile de imersare în SBF, PBS sau DMEM, înregistrând o creștere în greutate de maxim 2,1 mg, rata de biodegradare evaluată prin pierderea în greutate, fiind de maxim 0,1 mg, după imersarea în SBF timp de 21 de zile, rezistență bună la atacul bacterilor *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* și *Salmonella Typhimurium*,

