



A61K 6/033 (2006.01),

A61K 33/06 (2006.01),

A61K 33/30 (2006.01),

A61L 27/00 (2006.01),

A61L 27/12 (2006.01)

(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2010 00523**

(22) Data de depozit: **14.06.2010**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **28.06.2013** BOPI nr. **6/2013**

(41) Data publicării cererii:
30.11.2010 BOPI nr. **11/2010**

(73) Titular:
• **UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "IULIU HAȚIEGANU" DIN CLUJ-NAPOCA, STR.EMIL ISAC NR.13, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(72) Inventatori:
• **TOMOAIA GHEORGHE, STR.SCORȚĂRIILOR NR.1, AP.5, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **TOMOAIA-COTISEL MARIA, STR.TIMIȘULUI NR.75, BL.T 2, AP.5, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **POP LĂCRIMIOARA-BIANCA, STR.EROILOR NR.270, AP.2, FLOREȘTI, CJ, RO;**

• **MOCANU AURORA, STR.LOUIS PASTEUR NR.40, SC.2, AP.19, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **POP ALEXANDRU, STR.IZLAZULUI NR.4, SC.2, ET.1, AP.38, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(74) Mandatar:
CABINET DE PROPRIETATE INDUSTRIALĂ CIUPAN CORNEL, STR. MESTECENILOR NR. 6, BL. 9E, AP. 2, CLUJ NAPOCA, JUDEȚUL CLUJ

(56) Documente din stadiul tehnicii:
US 5405436; US 4849193;
US 2009/0068285 A1; CN 101376035 A;
CN 101623514 A

(54) **NANOPULBERI DE HIDROXIAPATITĂ ȘI DERIVAȚII EI SUBSTITUIȚI, UTILIZATE ÎN SCOPURI MEDICALE ȘI PROCEDEU DE FABRICARE A ACESTORA**



1 Inventția se referă la nanopulberi bioactive pe bază de derivați substituiți de hidroxi-
apatită, utilizate în aplicații biomedicale în ortopedie, chirurgie maxilofacială și reconstrucție
3 sau regenerare osoasă, și la procedeul de fabricare a acestora, după metoda precipitării în
emulsie.

5 Hidroxiapatita (HAP), cu formula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, este un constituent mineral al osu-
lui, utilizat frecvent ca biomaterial, întrucât prezintă bune proprietăți biologice și o bună bio-
7 compatibilitate, se arată de L. L. Hench în *J. Am. Ceram. Soc.*, 74 (7), 1487-1510, 1991. Cu
toate că hidroxiapatita prezintă o biocompatibilitate ridicată, aceasta poate fi substanțial
9 îmbunătățită, prin modificarea compoziției chimice și a structurii morfologice. Aceste modi-
ficări sunt favorizate de capacitatea hidroxiapatitei de a accepta cu ușurință, în structura ei,
11 numeroși ioni substituenți atât pentru Ca^{2+} , cât și pentru PO_4^{3-} , odată cu compoziția chimică,
modificându-se și structura morfologică, se arată în numeroase publicații de specialitate, K.
13 A. Hing, *Int. J. Appl. Ceram. Technol.*, 2 (3), 184-199, 2005, Y. Doi, T. Shibutani, Y.
Moriwaki, T. Kajimoto, Y. Iwayama, *J. Biomed. Mater. Res.*, Part A, 39 (4), 603-610, 1998,
15 M. Palard, J. Combes, E. Champion, S. Foucaud, A. Rattner, D. Bernache-Assollant, *Acta*
Biomaterialia, 5, 1223-1232, 2009, N. Hijon, M. V. Cabanas, J. Pena, M. Vallet-Regi, *Acta*
17 *Biomaterialia*, 2, 567-574, 2006, T. Tian, D. Jiang, J. Zhang, Q. Lin, *Mater. Sci. Eng.*, C, 28,
57-63, 2008, N. Rashid, I. S. Harding, T. Buckland, K. A. Hing, *Int. J. Nano and Biomater.*,
19 1 (3), 299-319, 2008, S. Zou, D. Ireland, R. A. Brooks, N. Rushton, S. Best, *J. Biomed.*
Mater. Res., Part B: *Appl. Biomater.*, 90B (1), 123-130, 2008, J. Vandiver, D. Dean, N. Patel,
21 C. Botelho, S. Best, J. D. Santos, M. A. Lopes, W. Bonfield, C. Ortiz, *J. Biomed. Mater. Res.*,
Part A, 78A (2), 352-363, 2006, A. E. Porter, N. Patel, J. N. Skepper, S. M. Best, W. Bonfield,
23 *Biomaterials*, 24 (25), 4609-4620, 2003, W. L. Suchanek, K. Byrappa, P. Shuk, R. E. Riman,
V. F. Janas, K. S. TenHuisen, *J. Solid State Chem.*, 177, 793-799, 2004, S. B. Cho, F.
25 Miyaji, T. Kokubo, K. Nakanishi, N. Soga, T. Nakamura, *J. Biomed. Mater. Res.*, 32, 375-381,
1996, M. Palard, E. Champion, S. Foucaud, *J. Solid State Chem.*, 181, 1950-1960, 2008, D.
27 A. Wahl, J. T. Czernuszka, *Eur. Cells and Materials*, 11, 43-56, 2006, M. Okazaki, *J. Oral*
Tissue Engin., 1(1), 31-40, 2004, M. Okada, T. Furuzono, *J. Nanoparticle Res.*, 9 (5),
29 807-815, 2006, odată cu compoziția chimică, modificându-se și structura morfologică.

Analizele chimice și structurale ale osului au arătat însă că partea anorganică a
31 acestuia nu corespunde formulei stoichiometrice a hidroxiapatitei. Practic, partea anorganică,
aflată în țesuturile osoase, reprezintă un amestec de compuși anorganici pe bază de
33 hidroxiapatită, în care ionii de Ca^{2+} și PO_4^{3-} sunt parțial substituiți cu diferiți alți ioni (cationi
și anioni). Ionii substituenți trebuie să fie, la rândul lor, biocompatibili cu organismul, astfel
35 încât resorbția lor să nu provoace reacții nedorite și fenomene de respingere. Mai mult,
prezența unor ioni străini în structura hidroxiapatitei conferă acestuia o abilitate sporită la
37 stimularea și creșterea țesutului osos. Pe lângă condițiile amintite, pe care trebuie să le
îndeplinească ionii substituenți din structura hidroxiapatitei, aceștia trebuie să prezinte în
39 plus și o bună biocompatibilitate cu o serie de polimeri naturali (chitosan, colagen) sau
sintetici (acid poli-acrilic, polimetacrilat de etil etc.).

41 Deși prezența ionilor substituenți în structura hidroxiapatitei este în proporție scăzută,
ei conferă acestuia proprietăți biologice și fizice specifice, astfel încât rolul acestora este
43 important și determinant în chimia osului. Din cele prezentate, rezultă că prezența ionilor
substituenți în structura hidroxiapatitei este obligatorie, pentru ca biomaterialele, în com-
45 poziția cărora aceștia intră, să conducă la biostructura și biochimia osului natural. Totodată,
prin intermediul lor, se asigură atât o viteză mai mare de regenerare a țesutului osos, cât și
47 parametrii fizico-chimici mai apropiați, comparativ cu osul natural. Cei mai importanți ioni

substituenți ai hidroxiapatitei, din materialele cu aplicații biomedicale, sunt cei de magneziu Mg^{2+} și de Zn^{2+} , pentru ionii de Ca^{2+} , precum și cei de CO_3^{2-} și SiO_4^{4-} , pentru ionii de PO_4^{3-} . În ceea ce privește ionii de magneziu (Mg^{2+}), aceștia joacă un rol important prin natura transformărilor pe care le produc în matricea osoasă. Lipsa ionilor de Mg^{2+} afectează în mod negativ procesele fiziologice din metabolismul osos, ducând la fragilitate.

Hidroxiapatita sintetică, substituită cu Mg^{2+} , fiind mai solubilă decât hidroxiapatita pură, face ca resorbția acesteia în organism să fie mai rapidă, accelerându-se astfel procesul de regenerare a osului natural. Există însă o limită a raportului în care magneziul poate fi încorporat, întrucât un raport molar Mg^{2+}/Ca^{2+} mai mare decât 0,3 determină formarea fosfatului tricalcic $Ca_3(PO_4)_2$ și a celui de magneziu $Mg_3(PO_4)_2$, în defavoarea magneziu-hidroxiapatitei (MgHAP).

Alături de magneziu, un alt element esențial, cu efect stimulator asupra formării țesutului osos, este zincul (Zn^{2+}), care se regăsește în os în proporție de 0,012...0,022% (masă). Prezența zincului contribuie, pe de altă parte, și la creșterea conținutului de proteină osoasă (colagenul), precizează I. R. Gibson, I. Rehman, S. M. Best, W. Bonfield în *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 12, 799-804, 2000; intensifică activitatea fosfatazei alcaline și inhibă procesul de resorbție a părții amorphe din hidroxiapatită, evitându-se astfel inflamațiile și necrozările locale de la nivelul oaselor. Mai mult, A. Bigi, E. Foresti, M. Gandolfi, M. Gazzano, N. Roveri în *J. Inorg. Biochem.*, 66 (4), 259-265, 1997, susțin că prezența ionilor de Zn^{2+} în soluții, în timpul precipitării, inhibă procesul de creștere al particulelor de hidroxiapatită, ceea ce facilitează obținerea de biomateriale (ZnHAP) la scară nano.

Siliciul, prezent în hidroxiapatită sub forma ionilor de silicat (SiO_4^{4-}), joacă un rol esențial în procesele biologice, determinând structura osului. Substituirea ionilor PO_4^{3-} din hidroxiapatită cu ionii de SiO_4^{4-} crește activitatea celulelor osteoblaste în raport cu hidroxiapatită pură. Această creștere a activității osteoblastelor conduce la o remodelare mai rapidă a țesutului osos, reducându-se astfel timpul de regenerare a țesutului osos natural. Prezența siliciului în hidroxiapatită (SiHAP) intensifică și alte fenomene biologice, cum sunt adeziunea celulară și dezvoltarea mai rapidă a matricei organice (a colagenului) din țesutul osos.

Cu toate că există mai multe procedee de sinteză a hidroxiapatitei, încă nu s-a reușit fabricarea unui produs care să îndeplinească, la un nivel satisfăcător, toate condițiile de calitate care se impun biomaterialelor utilizate în implanturi și reconstrucții osoase: scară nano a particulelor, cristalinitate mărită, grad de puritate ridicat și o bună biocompatibilitate cu țesutul osos natural. Procedeele existente de fabricare nu elimină apariția fazelor secundare, formate din α și β fosfat tricalcic ($Ca_3(PO_4)_2$) și a silicocarnotitului ($Ca_{10}(PO_4)_4(SiO_4)_2$), faze care afectează negativ proprietățile biologice.

Gradul de cristalinitate la care trebuie să ajungă structura hidroxiapatitei se realizează practic prin calcinare la temperaturi în intervalul 600...1300°C, condiții în care are loc sintezarea materialului, fenomen nedorit, deoarece conduce la creșterea dimensiunii particulelor; chiar dacă acestea au fost obținute în prima etapă de fabricație la scară nano, în final, datorită sinterizării, trec în domeniul micro. Este cunoscut însă faptul că particulele de dimensiuni la scară nano și cristalinitatea ridicată a acestora influențează în mod pozitiv mimetismul celulelor osoase de tip osteoblast prin intermediul cărora se reface țesutul osos natural.

Principalele căi de sinteză ale hidroxiapatitei sunt: sol-gel, aerogel, reacția în fază solidă și precipitarea, A. Mersmann (Editor), *Crystallization technology handbook*, CRC Press (on line), Boca Raton, Second Edition, 2001. Dintre acestea, metoda precipitării pare a fi de cea mai mare perspectivă, întrucât utilizează reactivi ieftini, ușor accesibili: o sare solubilă de calciu (azotat: $Ca(NO_3)_2 \cdot xH_2O$ sau acetat: $Ca(CH_3COO)_2 \cdot yH_2O$); un fosfat solubil,

RO 125817 B1

1 de sodiu sau potasiu, de preferință, amoniu $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ și soluție de amoniac pentru
corectarea pH-ului în limitele dorite. În plus, metoda precipitării necesită instalații simple, flux
3 tehnologic ușor de controlat, ceea ce permite obținerea de produse cu proprietăți superioare,
ușor reproductibile. De exemplu, brevetul **US 5405436** se referă la un procedeu de obținere
5 a hidroxiapatitei prin precipitare, care constă în reacția unei suspensii de fosfat acid de calciu
cu un raport molar Ca:P de aproximativ 0,2:1 până la 1:1 și a unei suspensii de calciu sub
7 agitare intensă la 60...100°C și la un pH de la aproximativ 4 până la 8, și separarea hidroxi-
apatitei din suspensie. Un alt procedeu de preparare a hidroxiapatitei este cunoscut din
9 **US 4849193** și constă din reacția unei soluții de fosfat monobazic de calciu cu hidroxid de
calciu sub agitare, la o valoare a pH-ului menținută sub 11, pentru a se forma precipitatul de
11 hidroxiapatită, urmată de recuperarea hidroxiapatitei.

Cu toate avantajele pe care le prezintă metoda precipitării, datorită particularităților
13 pe care le prezintă procesul de precipitare, mai ales în sistemul Ca^{2+} și PO_4^{3-} , caracterizat
prin solubilitate foarte redusă a produșilor rezultați, formarea germenilor de hidroxiapatită se
15 face în condițiile unei suprasaturații foarte ridicate, când viteza de nucleație depășește cu
mult viteza de creștere a germenilor. Viteza mare de nucleație conduce la formarea unui
17 număr mare de germeni, între care, datorită dimensiunilor mici ale acestora, se manifestă
forțe de atracție puternice de tip Van der Waals, care determină apariția fenomenului de
19 aglomerare a particulelor, fenomen greu de controlat.

Rezultatul final, al fenomenelor care au loc, cuprinde aglomerarea, sudarea și creștea
21 rea dimensiunii particulelor. Procesul de sudare-lipire a particulelor continuă pe tot parcursul
procesului tehnologic: al tratamentului hidrotermal, al filtrării, dar mai ales al uscării preci-
23 pitatului. Fenomenul de creștere a particulelor se manifestă și mai pregnant în timpul trata-
mentului termic la care este supus materialul, calcinarea la 600...1300°C, în vederea creșterii
25 gradului de cristalinitate.

Din stadiul tehnicii actuale, se desprinde și o a doua cale de îmbunătățire a proprie-
27 tăților pe care trebuie să le îndeplinească biomaterialele pe bază de hidroxiapatită, care con-
stă în introducerea în structura acestora a unor ioni străini, conform brevetelor **US 7575628**,
29 **US 5858318**, **US 5405436**, **US 4849193**, **US 4503157**. De asemenea, materiale pe bază de
derivați ai hidroxiapatitei sunt cunoscute și din brevetul **US 2009/0068285**, care descrie un
31 biomaterial care cuprinde o matrice bifazică care cuprinde carbonat de hidroxiapatită și β -
fosfat tricalcic, substituit cu zinc sau magneziu. Rezumatul brevetului **CN 101376035** descrie
33 un material granular, poros, din fosfat de calciu bioactiv, sub formă de granule microsferice,
cu două sau mai multe elemente selectate dintre stronțiu, zinc, magneziu și siliciu, procedeul
35 constând în adăugarea unor săruri anorganice fosfat sau silicat în soluția apoasă de
poliaspartat de sodiu sau poli-acrilat de sodiu cu ajustarea valorii pH-ului și temperaturii; la
37 această soluție, se adaugă, în picături, soluții ale unor ioni de calciu, stronțiu sau magneziu.
Un alt brevet, **CN 101623514**, se referă la un procedeu de preparare a particulelor nanome-
39 trice de hidroxiapatită, dopată cu ioni metalici, care cuprinde următoarele etape: prepararea
unei soluții de azotat de calciu și fosfat monoacid de amoniu, adăugarea azotatului metalului
41 respectiv și a ureei și refluxarea soluției obținute, timp de 3 până la 5 h, la o temperatură de
100°C.

43 Materialele existente nu elimină în totalitate neajunsurile hidroxiapatitei pure, prin
faptul că dimensiunea particulelor este la scară micro, conțin faze străine nedorite, au o
45 compoziție neuniformă și o slabă reproductibilitate a proprietăților fizice și biologice.

RO 125817 B1

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în obținerea unor noi sorturi de hidroxiapatită parțial substituită cu ioni de magneziu, zinc sau siliciu, care conferă proprietăți biologice și fizice specifice, eliminând totodată fenomenele negative care au loc pe parcursul procedurii de preparare, precum aglomerarea și creșterea particulelor în timpul precipitării, tratamentului hidrotermal, uscării, precum și obținerea unor particule sterile, fără urme de substanțe organice.

Nanopulbarea de hidroxiapatită, parțial substituită cu ioni de magneziu, zinc și/sau siliciu, conform invenției, înlătură dezavantajele menționate, prin aceea că ionii substituenți se regăsesc în material în proporție de 0,75...2% Mg^{2+} , 0,01...0,5% Zn^{2+} și/sau 0,01...0,5% SiO_2 , particulele rezultate având dimensiuni mai mici de 50 nm și o structură omogenă și cristalină

Procedul de obținere a unei nanopulberi de hidroxiapatită parțial substituită cu ioni de magneziu, zinc și/sau siliciu, conform invenției, constă în precipitarea în emulsie a unei suspensii de hidroxiapatită parțial substituită, prin adăugarea rapidă, sub agitare intensă a unei emulsii pe bază de ioni de calciu sau de ioni de calciu și magneziu și/sau zinc peste o emulsie conținând ioni de fosfat sau ioni de fosfat și silicat la $pH = 9,5...11,5$ și temperatură de $40...80^{\circ}C$, un raport masic al reactanților acetat de calciu: fosfat acid de amoniu:amoniac de 1:0,6:1, și un raport între faza anorganică și faza organică 1:2...4, rezultând un precipitat alb cu structură semicristalină care, după spălare și filtrare, este redispersat în apă deionizată și tratat cu un agent de antisinterizare, iar suspensia rezultată este filtrată, precipitatul este uscat, iar pulbarea rezultată este calcinată și tratată cu acetat de amoniu, spălată, uscată și, în final, sterilizată.

Conform unei variante preferate, în procedul de obținere, conform invenției, emulsiile conținând ioni fosfat și ioni metalici sunt obținute în fracție petrolieră cu interval de fierbere $90...110^{\circ}C$, în care se adaugă un agent de emulsionare selectat dintre dodecifenoletoxilatul și nonilfenol etoxilat. De asemenea, emulsiile conținând ioni fosfat și ioni metalici conțin, au ca agent de dispersie, zer din lapte de vacă într-un raport masic hidroxiapatită : zer de 1:1,5...2. Zerul din lapte de vacă are rol de agent de dispersie, evitându-se fenomenul de creștere a particulelor.

Precipitatul rezultat, după separare și spălare, este redispersat în apă distilată, în raport masic hidroxiapatită: apă de 1: 100...150, la temperatura de $60...80^{\circ}C$, după care, sub agitare intensă, se adaugă ca agent de antisinterizare, acidul poliactic neutralizat în prealabil cu amoniac la $pH = 8...9$, în proporție de 0,5...1% în greutate față de hidroxiapatită.

În continuare, în suspensie, se adaugă, sub agitare intensă, o soluție de $Ca(OH)_2$ cu o concentrație de 1,5...2 g/L, până la completa precipitare a acidului poliactic, ca sare de calciu, pe suprafața nanoparticulelor, rezultând o suspensie din care se separă precipitatul, care se spală cu apă distilată.

În etapa de uscare, turta de precipitat este uscată la $t = -80^{\circ}C$ și presiune $5...10 \times 10^{-3}$ torr.

Într-un alt aspect al invenției, procedul de obținere, conform invenției, constă în aceea că pulbarea rezultată se supune tratamentului termic, pentru creșterea gradului de cristalinitate, în atmosferă oxidantă, la temperatura $600...1300^{\circ}C$, obținându-se un material pulverulent, în care nanoparticulele sunt acoperite cu un strat subțire de oxid de calciu. În etapa următoare, oxidul de calciu este eliminat cu soluție de acetat de amoniu 5%, în exces, la temperatura de $80...90^{\circ}C$, astfel încât, după filtrare și spălare cu apă deionizată, se obține un precipitat alb. Precipitatul este uscat la $t = -80^{\circ}C$ și presiune $5...10 \times 10^{-3}$ torr.

RO 125817 B1

1 Ultima etapă a procedurii conform invenției constă în aceea că sterilizarea și
îndepărtarea urmelor de compuși organici se realizează prin calcinare la temperatura de
3 500...550°C, în atmosferă oxidantă, care conține 0,5...2% în vol. vapori de apă.

5 Nanopulberile de hidroxiapatită parțial substituită cu ioni de magneziu, zinc și/sau
siliciu, conform invenției, sunt adecvate pentru utilizare în aplicații biomedicale în ortopedie,
chirurgie maxilofacială și în reconstrucție sau regenerare osoasă.

7 Nanopulberile de hidroxiapatită parțial substituită cu ioni de magneziu, zinc și/sau
siliciu, conform invenției, pot fi utilizate, în amestec cu biomateriale, cum ar fi chitosan sau
9 colagen, pentru obținerea scaffoldurilor pentru culturi celulare formatoare de os.

11 De asemenea, nanopulberile de hidroxiapatită parțial substituită cu ioni de magneziu,
zinc și/sau siliciu, conform invenției, pot fi utilizate încorporate în chitosan și/sau colagen
și/sau polimeri sintetici, cum ar fi acid poliacrilic sau polimetacrilat de etil, pentru acoperirea
13 implanturilor metalice.

Prin aplicarea invenției, se obțin următoarele avantaje:

15 - este eliminat fenomenul de creștere a particulelor în etapa de precipitare, prin intro-
ducerea unor agenți cu rol dispersant;

17 - elimină fenomenul de creștere a particulelor în etapa de calcinare, prin introducerea
unui agent de antisinterizare, și anume, acid poliacrilic (PA);

19 - uscarea în condiții supercritice a turtelor de precipitat, pentru a se evita sudarea și
lipirea nanoparticulelor în timpul uscării;

21 - îndepărtarea urmelor de compuși organici și sterilizarea, efectuate într-o singură
etapă, prin calcinare în atmosferă oxidantă, în prezența vaporilor de apă 0,5...2% vol, per-
23 mite obținerea unor nanopulberi de hidroxiapatită pură sau parțial substituită, cu compoziție
chimică, structură și cristalinitate apropiate celor din țesuturile osoase, naturale, cu o bună
25 activitate biologică, utilizate în scopuri biomedicale, pentru implanturi și reconstrucții osoase;

27 - necesită materii prime ieftine, ușor accesibile, care nu impun condiții severe de
puritate;

29 - realizarea practică în instalații simple, ușor accesibile, care au în componență utilaje
cu grad scăzut de complexitate, confecționate din materiale ieftine și ușor accesibile; permite
un control sistematic al procesului tehnologic, ceea ce are ca rezultat final obținerea de
31 materiale cu proprietăți reproductibile

Prin urmare, procedeul conform invenției constă în prepararea, prin precipitare în
33 emulsie, a unei suspensii de hidroxiapatită, prin adăugarea rapidă, sub agitare foarte intensă,
a unei emulsii care conține cationi (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+}), peste o emulsie de fosfat monoacid de
35 amoniu, căreia i-a fost adăugat, în prealabil, zer (Z) provenit din laptele de vacă, în calitate
de agent cu rol dispersant, raportul molar al reactanților fiind $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 : (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 :$
37 $\text{NH}_3 = 10 : 6 : 10$, în timp ce raportul de masă dintre HAP și Z a fost menținut în anumite
limite specificate, $\text{HAP} : \text{Z} = 1 : 1,5...2$.

39 Precipitarea se face la o temperatură cuprinsă între 40 și 80°C. Suspensia obținută
este supusă operației de eliminare a electrolitului, acetat/azotat de amoniu, prin filtrare sau
41 centrifugare și spălare, după care precipitatul se redispersează în apă deionizată și i se
adaugă, sub agitare intensă, agentul de antisinterizare, la temperatura de 60...80°C, un
43 polimer cu grupări carboxilice, solubil în apă - acid poliacrilic (PA) în 0,5...1% de masă față
de cantitatea de hidroxiapatită rezultată. Are loc adsorbția poliacrilatului de amoniu pe supra-
45 fața nanoparticulelor, după care masei de reacție i se adaugă, sub agitare intensă, la tempe-
ratura de 60...80°C, o soluție de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ cu concentrația de 1,5...2 g/L, pentru precipitarea
47 sării de calciu a acidului poliacrilic la suprafața nanoparticulelor de hidroxiapatită. Se obține
o suspensie care se filtrează, se spală cu apă distilată și apoi se usucă în condiții super-

RO 125817 B1

critice, la temperatura de $-80\text{...}-100^{\circ}\text{C}$ și presiunea $p = 5\text{...}10 \times 10^{-3}$ torr, rezultând o pulbere, care, după calcinare, timp de $1\text{...}5$ h, la $t = 600\text{...}1300^{\circ}\text{C}$, este supusă operației de eliminare a excesului de var (CaO), prin tratare cu o soluție de acetat de amoniu, la temperatura de $80\text{...}90^{\circ}\text{C}$. Se obține o suspensie, care, după filtrare și spălare cu apă distilată, este supusă din nou uscării în condiții supercritice ($-80\text{...}-100^{\circ}\text{C}$) și presiunea $p = 5\text{...}10 \times 10^{-3}$ torr.

Se obține un material pulverulent, care este supus sterilizării și eliminării urmelor de compuși organici, prin calcinare în atmosferă oxidantă, în prezența vaporilor de apă, la temperatura de $500\text{...}550^{\circ}\text{C}$, condiții în care hidroxiapatita este stabilă.

În continuare, se prezintă 6 exemple nelimitative, de realizare a invenției.

Exemplul 1. Într-un vas de reacție de $2,5$ L, prevăzut cu agitator mecanic și refrigerent, se introduc: 250 mL soluție $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ $0,036$ M, 6 mL zer provenit din lapte de vacă, 45 mL soluție NH_3 25% , $0,25$ mL dodecilfenol și 500 mL fracție petrolieră (care reprezintă faza organică: FO) cu interval de fierbere $90\text{...}110^{\circ}\text{C}$, care, după încălzire la temperatura de 80°C , este puternic agitat, formându-se emulsia A. Paralel, într-un balon de 1 L, prevăzut cu agitator mecanic, se introduc: 250 mL soluție de acetat de calciu $0,24$ M, $0,25$ mL nonilfenol, 500 mL fracție petrolieră (faza organică: FO) cu interval de fierbere $90\text{...}110^{\circ}\text{C}$ și 2 mL zer care, după încălzire la temperatura de 80°C , este puternic agitat, pentru a se forma emulsia B. Emulsia B este adăugată rapid, sub agitare intensă (800 rot/min), peste emulsia A. Se formează o suspensie care este agitată în continuare la 150 rot/min, timp de 20 h, la o temperatură cuprinsă între 60 și 80°C și $\text{pH} = 9,5\text{...}11,5$, după care, precipitatul este separat prin filtrare sau centrifugare. Precipitatul se spală cu 250 mL apă distilată, după care este introdus într-un vas cu agitare, se adaugă 750 mL apă distilată și se agită puternic la 800 rot/min, timp de o oră, la temperatura de 80°C ; tot sub agitare intensă, se adaugă $0,5$ g acid poli-acrilic (PA), diluat în 200 mL apă distilată și neutralizat, în prealabil, cu amoniac, la $\text{pH} 8\text{...}9$. Se continuă agitarea la $t = 80^{\circ}\text{C}$, timp de două ore, apoi se adaugă o soluție de var - $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - cu concentrația $c = 1,5\text{...}2$ g/L, până la completa precipitare a acidului poli-acrilic. Poli-acrilatul de calciu format acoperă într-un strat subțire suprafața nanoparticulelor de HAP. Suspensia este ținută sub agitare la 200 rot/min, la $t = 80^{\circ}\text{C}$, timp de două ore, după care, se filtrează și se spală cu apă distilată. Precipitatul rezultat este uscat la $t = -80^{\circ}\text{C}$ și presiunea $p = 5\text{...}10 \times 10^{-3}$ torr. Se obține o pulbere care se calcinează în atmosferă oxidantă, timp de două ore, la $t = 820^{\circ}\text{C}$, formându-se, pe suprafața particulelor, un film de oxid de calciu (CaO) care nu reacționează cu hidroxiapatita, eliminându-se astfel fenomenul de sinterizare și lipire-sudare a particulelor. După calcinare, materialul este tratat cu o soluție de acetat de amoniu 5% în exces, la temperatura de 80°C , timp de 4 h, sub agitare intensă, când excesul de calciu, sub formă de var, este trecut în acetat de calciu solubil. Suspensia rezultată este filtrată, spălată și uscată în condiții supercritice, $t = -80^{\circ}\text{C}$, $p = 5\text{...}10 \times 10^{-3}$ torr, după care, materialul obținut este supus operației de sterilizare și îndepărtare a urmelor de substanțe organice. Sterilizarea se realizează prin calcinare la temperatura, $t = 500\text{...}550^{\circ}\text{C}$, în atmosferă oxidantă, în care concentrația vaporilor de apă a fost de $0,5\%$ în vol. Se obține astfel un material de culoare albă, sub formă de nanopulbere cu dimensiunea particulelor mai mică de 40 nm.

Exemplul 2. Identic cu exemplul 1, cu deosebirea că, la soluția de acetat de calciu, s-au adăugat suplimentar $0,025$ moli de $\text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ dizolvat în apă, iar la soluția de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, s-au adăugat suplimentar $0,2$ g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. S-a obținut o nanopulbere cu un conținut de 36% Ca^{2+} și $1,5\%$ Mg^{2+} , cu un diametru mediu al particulelor de MgHAP mai mic de 35 nm.

RO 125817 B1

1 **Exemplul 3.** Identic cu exemplul 1, cu deosebirea că, în soluția de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, s-a
adăugat 0,05 g $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ diluat cu 5 mL CH_3OH . S-a obținut o nanopulbere de hidroxiapa-
3 tită (SiHAP), care conține 0,2% siliciu, cu un diametru mediu al particulelor mai mic de
35 nm.

5 **Exemplul 4.** Identic cu exemplul 3, cu deosebirea că, în loc de tetraetoxisilan
 $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$, s-a introdus silicat de sodiu, $\text{Na}_2\text{O} : \text{SiO}_2 = 1 : 3,2$, sub formă de soluție 2%.
7 Materialul obținut este identic cu cel dat (SiHAP) la exemplul 3.

9 **Exemplul 5.** Identic cu exemplele 1...4, cu deosebirea că ambele soluții conțin ionii
substituenți: în soluția de acetat de calciu, s-au introdus ionii de Mg^{2+} , iar în soluția de fosfat,
s-au introdus ionii de SiO_4^{4-} . Se obține o nanopulbere de hidroxiapatită modificată, MgSiHAP,
11 cu diametrul mediu al particulelor mai mic de 50 nm și un conținut de 1,5% Mg^{2+} și 0,2%
 SiO_2 .

13 **Exemplul 6.** Identic cu exemplele 1...5, cu deosebirea că, la soluția ce conține
cationii de Ca^{2+} și Mg^{2+} , s-au adăugat ionii de Zn^{2+} sub forma unei sări solubile (cum ar fi
15 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ sau $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{-COO})_2$), astfel încât concentrația de Zn^{2+} în produsul final
(ZnMgSiHAP) să fie 0,5% (procente de masă).

RO 125817 B1

Revendicări

1. Nanopulbere de hidroxiapatită parțial substituită cu ioni de magneziu, zinc și/sau siliciu, **caracterizată prin aceea că** ionii substituenți se regăsesc, în material, în proporție de 0,75...2% Mg^{2+} , 0,01...0,5% Zn^{2+} și/sau 0,01...0,5% SiO_2 , particulele rezultate având dimensiuni mai mici de 50 nm și o structură omogenă și cristalină. 3
2. Procedeu de obținere a unei nanopulberi de hidroxiapatită parțial substituită cu ioni de magneziu, zinc și/sau siliciu, definită în revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că** acesta constă în precipitarea, în emulsie, a unei suspensii de hidroxiapatită parțial substituită, prin adăugarea rapidă, sub agitare intensă, a unei emulsii pe bază de ioni de calciu sau de ioni de calciu și magneziu și/sau zinc peste o emulsie conținând ioni de fosfat sau ioni de fosfat și silicat, la $pH = 9,5...11,5$ și temperatură de 40...80°C, un raport masic al reactanților acetat de calciu : fosfat acid de amoniu : amoniac de 1:0,6:1 și un raport între faza anorganică și faza organică 1:2...4, rezultând un precipitat alb, cu structură semicristalină, care, după spălare și filtrare, este redispersat în apă deionizată și tratat cu un agent de anti-sinterizare, iar suspensia rezultată este filtrată, precipitatul este uscat, iar pulberea rezultată este calcinată și tratată cu acetat de amoniu, spălată, uscată și, în final, sterilizată. 7
3. Procedeu de obținere a unei nanopulberi de hidroxiapatită parțial substituită cu ioni de magneziu, zinc și/sau siliciu, conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că** emulsiile, conținând ioni fosfat și ioni metalici, sunt obținute în fracție petrolieră cu interval de fierbere 90...110°C, în care se adaugă un agent de emulsionare, selectat dintre dodecilfenoletoxilat și nonilfenol etoxilat. 9
4. Procedeu de obținere a unei nanopulberi de hidroxiapatită parțial substituită cu ioni de magneziu, zinc și/sau siliciu, conform revendicărilor 2...3, **caracterizat prin aceea că** emulsiile, conținând ioni fosfat și ioni metalici, conțin, ca agent de dispersie, zer din lapte de vacă, într-un raport masic hidroxiapatită : zer de 1:1,5...2. 11
5. Procedeu de obținere a unei nanopulberi de hidroxiapatită parțial substituită cu ioni de magneziu, zinc și/sau siliciu, conform revendicărilor 2...4, **caracterizat prin aceea că** precipitatul rezultat, după separare și spălare, este redispersat în apă distilată, în raport masic hidroxiapatită: apă de 1: 100...150, la temperatura de 60...80°C, după care, sub agitare intensă, se adaugă ca agent de antisinterizare, acidul poli-acrilic neutralizat, în prealabil, cu amoniac, la $pH = 8...9$, în proporție de 0,5...1% în greutate față de hidroxiapatită. 13
6. Procedeu de obținere a unei nanopulberi de hidroxiapatită parțial substituită cu ioni de magneziu, zinc și/sau siliciu, conform revendicării 5, **caracterizat prin aceea că**, în suspensie, se adaugă, sub agitare intensă, o soluție de $Ca(OH)_2$ cu o concentrație de 1,5...2 g/L, până la completa precipitare a acidului poli-acrilic, ca sare de calciu, pe suprafața nanoparticulelor, rezultând o suspensie din care se separă precipitatul, care se spală cu apă distilată. 15
7. Procedeu de obținere a unei nanopulberi de hidroxiapatită parțial substituită cu ioni de magneziu, zinc și/sau siliciu, conform revendicărilor 2...6, **caracterizat prin aceea că** turta de precipitat este uscată la $t = -80^\circ C$ și presiune $5...10 \times 10^{-3}$ torr. 17
8. Procedeu de obținere a unei nanopulberi de hidroxiapatită parțial substituită cu ioni de magneziu, zinc și/sau siliciu, conform revendicărilor 2...7, **caracterizat prin aceea că** pulberea rezultată se supune tratamentului termic, pentru creșterea gradului de cristalinitate, în atmosferă oxidantă, la temperatura 600...1300°C, obținându-se un material pulverulent, în care nanoparticulele sunt acoperite cu un strat subțire de oxid de calciu. 19

RO 125817 B1

1 9. Procedeu de obținere a unor nanopulberi de hidroxiapatită parțial substituită cu ioni
de magneziu, zinc și/sau siliciu, conform revendicărilor 2-8, **caracterizat prin aceea că**,
3 oxidul de calciu este eliminat cu soluție de acetat de amoniu 5%, în exces, la temperatura
de 80...90°C, astfel încât după filtrare și spălare cu apă deionizată se obține un precipitat alb.

5 10. Procedeu de obținere a unor nanopulberi de hidroxiapatită parțial substituită cu
ioni de magneziu, zinc și/sau siliciu, conform revendicărilor 2...9, **caracterizat prin aceea**
7 **că** precipitatul este uscat la $t = - 80^{\circ}\text{C}$ și presiune $5...10 \times 10^{-3}$ torr.

9 11. Procedeu de obținere a unor nanopulberi de hidroxiapatită parțial substituită cu
ioni de magneziu, zinc și/sau siliciu, conform revendicărilor 2...10, **caracterizat prin aceea**
11 **că** sterilizarea și îndepărtarea urmelor de compuși organici se realizează prin calcinare la
temperatura de 500...550°C, în atmosferă oxidantă care conține 0,5...2% în volum vapori de
apă.

13 12. Nanopulbere de hidroxiapatită parțial substituită cu ioni de magneziu, zinc și/sau
siliciu, definită în revendicarea 1, pentru utilizare în aplicații biomedicale în ortopedie,
15 chirurgie maxilofacială și în reconstrucție sau regenerare osoasă.

17 13. Utilizare a nanopulberilor de hidroxiapatită parțial substituită cu ioni de magneziu,
zinc și/sau siliciu, conform revendicării 12, opțional, în amestec cu biomateriale, cum ar fi
19 chitosan sau colagen, pentru obținerea scaffoldurilor pentru culturi celulare, formatoare de
os.

21 14. Utilizare a nanopulberilor de hidroxiapatită parțial substituită cu ioni de magneziu,
zinc și/sau siliciu, conform revendicării 12, opțional încorporată în chitosan și/sau colagen
și/sau polimeri sintetici, cum ar fi acid poliacrilic sau polimetacrilat de etil, pentru acoperirea
23 implanturilor metalice.



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 542/2013