



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2011 00683

(22) Data de depozit: 18.07.2011

(41) Data publicării cererii:
30.11.2011 BOPI nr. 11/2011

(71) Solicitant:
• SANIMED INTERNAȚIONAL IMPEX
S.R.L., ȘOS. BUCUREȘTI- MAGURELE
NR.70F, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• IORDĂCHEL CĂTĂLIN,
STR. JEAN LOUIS CALDERON NR.6,
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
• IORDĂCHEL RADU,
STR. JEAN LOUIS CALDERON NR. 6,
ET. 3, AP. 14, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B,
RO;

• CALOIANU MARIA,
STR. JEAN-LOUIS CALDERON NR. 6,
ET. 3, AP. 14, BUCUREȘTI, B, RO;
• EFIMOV NICOLAE, CAL. MOȘILOR
NR.256, BL.2, SC.A, ET.3, AP.7, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, RO;
• MIHALACHE RALUCA ANDREEA,
ȘOS. MIHAI BRAVU NR.294, BL.6, SC.B,
AP.63, BUCUREȘTI, B, RO

(74) Mandatar:
ROMPROSPER SERVIMPEX SRL-
ȘOS. MIHAI BRAVU NR. 294, BL. 6, SC. B,
AP. 63, SECTOR 3, BUCUREȘTI

(54) **BIOMATERIAL MATRICIAL COMPOZIT BIOABSORBABIL
"PROBIOS- IMPLANT" SUPTOR BIOCAMPATIBIL ȘI
PROCEDEE DE IMPLANT PENTRU REFACEREA
CARTILAGIULUI**

(57) Rezumat:

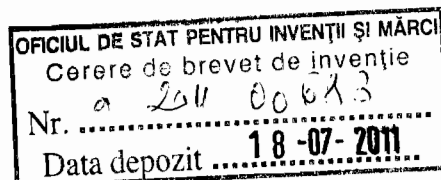
Prezenta invenție se referă la un biomaterial compozit, bioabsorbabil, cu rol de suport biocompatibil pentru celule cultivate *in vitro*, cu rol de implant pentru regenerarea cartilagiului articular. Produsul conform invenției este un compozit constituit din colagen, glicozaminoglicani, factor de creștere, cu aspect poros și configurație tridimensională în stare liofilizată uscată sau hidrogel. Procedul conform invenției presupune amestecarea, într-un amestecător planetar capsulat, a colagenului de tip I și a unei soluții de compozit constituită dintr-un litru soluție de condroitin-6-sulfat cu concen-

trație 2,5%, timp de 60 min, la temperatura de 10°C și presiune 1 torr, apoi se adaugă factorul de creștere solubilizat în același tampon și se continuă agitarea aproximativ 2 h, la temperatura de 15°C, iar hidrogelul rezultat se liofilizează, apoi se decupează la dimensiunile dorite, se condiționează și se sterilizează la radiații UV sau radiații gamma, păstrându-se la loc uscat și ferit de lumină.

Revendicări: 12

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).





**“BIOMATERIAL MATRICIAL COMPOZIT BIOABSORBABIL
“PROBIOS-IMPLANT” SUPORT BIOCOMPATIBIL SI PROCEDEE DE
IMPLANT PENTRU REFACEREA CARTILAGIULUI”**

Inventia de fata se refera la un biomaterial poros bioabsorbabil cu rol de suport biocompatibil pentru celule cultivate „in vitro”, in special condrocite autologe si cu calitati de implant bioresorbabil cu efect retard in zona defectelor cartilaginose.

Eforturile de gasire a unor metode de evitare a protezarii in maladiile provocate de degradarea cartilajului articular, au condus la numeroase date incluse in lucrari de specialitate si brevete. Se poate aprecia ca in toate variantele prioritar ca material implantabil este colagenul pur sau complexat cu alte componente matriciale ca fibronectina, glicosaminoglicani, acid hialuronic, polizaharide vegetale si numerosi polimeri sintetici.

Problema pe care o rezolva inventia de fata este obtinerea si folosirea implantului cu calitati biologice de sustinere a dezvoltarii celulare „in vitro” recoltate de la pacienti si respectiv cu calitati fizice si chimice adecvate integrarii in raporturile de interfata cu tesutul inconjurator.

In acest sens sunt cunoscute mai multe solutii, de exemplu:

U.S. Pat.No.4970298 (Frederick H. Silver et al) se refera la o matrice colagenica continand colagen liofilizat, acid hialuronic si fibronectina.

EP-A-0274898 (Ethicon Inc) se refera la un implant spumos pe baza de poliesteri ca poly-p-dioxanone, polylactide, polyglicolide.

7P-H-03023864 (Gunze K.K.) se refera la implanturi pentru rani constituit din colagen si poly-L-lactic acid.

RO-115694 (Caloianu et al) se refera la material bioartificial pentru implant pe baza unui compozit polimeric continand colagen cuplat cu un copolimer de acid acrilic si metacrilat de metil, condroitin sulfat si calciu.

In general implanturile spongioase bioabsorbabile, care asigura migrarea si dezvoltarea celulelor, s-au conditionat prin liofilizare.

Scopul inventiei "BIOMATERIAL MATRICIAL COMPOZIT BIOABSORBABIL "PROBIOS-IMPLANT" SUPORT BIOCAMPATIBIL SI PROCEDEE DE IMPLANT PENTRU REFACEREA

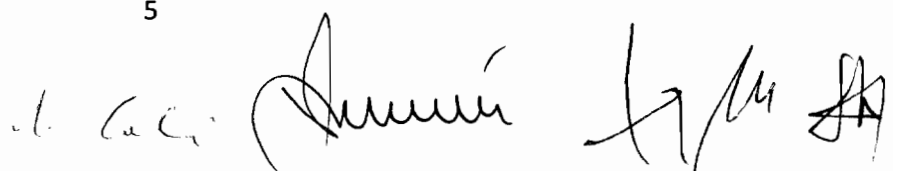
CARTILAGIULUI" este obtinerea unui biomaterial poros bioabsorbabil care prin realizarea unei retele de pori interconectati si pastrarea caracteristicilor fizico-chimice ale compozitului buretos, asigura un suport biocompatibil pentru migrarea si dezvoltarea celulelor cultivate „in vitro” precum si realizarea unor procedee pentru reducerea ratei de biodegradabilitate si resorbtie a implantului „in situ”, obtinandu-se un efect retard al procesului de biodegradabilitate si resorbtie al acestuia „in situ”. In prezenta inventie s-a procedat la cuplarea colagenului cu Glicoziaminoglicani (condroitin-6-sulfat) si factori de crestere.

Conform prezentei inventii compozitul poros bioabsorbabil este constituit din colagen nativ tip I fibrilar, atelocolagen solubil si colagen tip II la alegere, cu masa moleculara medie 350 – 450 kDa in solutie cu concentratie de 0,6 – 2 %; Glicoziaminoglicani (condroitin-6-sulfat) 5 – 10 %, factor de crestere (TGFB) cu diametrul mediu al porilor de 50 – 83 µm.

In continuare se prezinta procedee de realizare a inventiei: "BIOMATERIAL MATRICIAL COMPOZIT BIOABSORBABIL "PROBIOS-IMPLANT" SUPORT BIOCAMPATIBIL SI PROCEDEE DE IMPLANT PENTRU REFACEREA CARTILAGIULUI"

Procedeu A

Intr-un vas cu amestecator planetar capsulat, de laborator, se introduce colagen tip I si II, o solutie de compozit constituita din 1 litru solutie de condroitin – 6 – sulfat cu concentratie de 2,5 % si se amesteca 60 minute la temperatura de 10° C si diferenta de presiune de 0,1 torr, se adauga factorul de crestere solubilizat in acelasi tampon si se continua agitarea timp de cca 2 ore la temperatura de 15° C, solutia vascoasa (hidrogelul) obtinuta se liofilizeaza apoi se decupeaza la dimensiunile dorite, se conditioneaza si se sterilizeaza la radiatii UV sau γ, pastrandu-se la loc uscat si ferit de lumina, realizandu-se procedeul



1 8 -07- 2011

de obtinere a unui biomaterial compozit bioabsorbabil pe baza de proteine colagenice tip I si tip II, polizaharide (condroitin – 6 – sulfat), si factor (TGFB) de crestere.

“BIOMATERIAL MATRICIAL COMPOZIT BIOABSORBABIL “PROBIOS-IMPLANT” SUPORT BIOCOMPATIBIL SI PROCEDEE DE IMPLANT PENTRU REFACEREA CARTILAGIULUI” se supune contactului cu celulele (condrocitele) autologe pentru invazia si dezvoltarea acestora in suport si prin procesul operator se introduce in zona afectata, putand fi folosit atat in stare de hidrogel cat si in stare liofilizata .

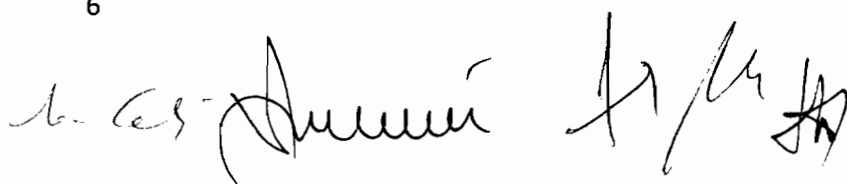
Procedeu B

Acelasi procedeu ca la exemplul 1 cu deosebirea ca se foloseste colagen tip II.

Obiectivele inventiei realizate **“BIOMATERIAL MATRICIAL COMPOZIT BIOABSORBABIL “PROBIOS-IMPLANT” SUPORT BIOCOMPATIBIL SI PROCEDEE DE IMPLANT PENTRU REFACEREA CARTILAGIULUI”** se constituie in avantaje certe prin faptul ca:

1. s-a realizat procedeu de obtinere a unui biomaterial compozit bioabsorbabil pe baza de proteine colagenice tip I si tip II, polizaharide (condroitin – 6 – sulfat), si factor (TGFB) de crestere .
2. Biomaterialul compozit bioabsorbabil prezinta o microstructura poroasa cu diametrul porilor de 50 – 83 μm care faciliteaza patrunderea celulelor in matrice si sustine dezvoltarea celulara „in vitro” ca suport biocompatibil (fibroblaste, condrocite, stem).
3. Implantul realizat conform punctului 1 manifesta un efect retard al procesului de biodegradabilitate si resorbție a acestuia „in situ”.

Avantajele inventiei, **“BIOMATERIAL MATRICIAL COMPOZIT BIOABSORBABIL “PROBIOS-IMPLANT” SUPORT BIOCOMPATIBIL SI PROCEDEE DE IMPLANT PENTRU REFACEREA CARTILAGIULUI”** constau in aceea ca prepararea pe plan intern a



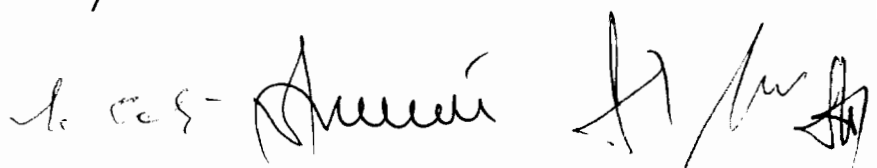
unor sisteme noi de abordare si tratare a unor maladii cu incidenta sporita si efecte conditionate de actul chirurgical de protezare, conduce la un spor de cresterea a starii de sanatate, dezvoltarea unor baze moderne de tratament, cu reducerea duratei de spitalizare si de revenire rapida a bolnavilor in viata sociala largind aria de aplicare in medicina reconstructiva prin practicarea benefica a implanturilor, ca produsi ai ingineriei tisulare.

Rezolvarea actuala a leziunilor artrozice se realizeaza prin:

- osteotomii de refacere a axelor mecanice ale membrilor pentru stabilizarea articulatiilor si reducerea importanta a factorilor de stress este posibila doar in stadiile initiale ale artrozilor sau in preartroze.
- artroplastii cu endoproteze, care, indiferent de solutia constructiva, dau probleme serioase de biocompatibilitate, au o viata scurta, iar distructiile tisulare pe care le produc sunt uneori monstruoase, necesitand operatii in serie, de mare dificultate si necesitand proteze tot mai sofisticate si costisitoare.

Rasunetul biologic al tehnicilor de artroplastie cu endoproteze este mare, atat datorita distructiilor tisulare intraoperatorii cit si prin reactia organismului la implante si cimentul cu care sunt fixate. Acest efect chimic, cat si imunocitologic se adauga la stresul mecanic cu care actioneaza proteza asupra structurilor osoase adiacente. Boala de paricule se pare ca este mai distructiva decit stressul mecanic avind efecte osteolitice intense. De asemenea rezectiile osoase practicate cit si agresiunea pe tesutul spongios si medular au efecte negative la rindul lor. Revizia unei proteze totale ramane o operatie dificila, socogena, cu pierderi sangvine masive, care daca nu sunt compensate la timp pot da tulburari hemodinamice grave, cu amenintare imediata a vietii bolnavului. La aceasta se adauga traumatismul operator al partilor moi adiacente (muschi, tendoane, vase, nervi);

- Exista deja tehnici de "resurfacing" a leziunilor cartilajinoase si osului subcondral, in care dupa ridicarea chirurgicala a zonelor tisulare compromise, defectul rezultat se ponteaza cu periost, sub care se injecteaza culturi de condrocite obtinute "in vitro", ce sunt capabile sa determine refacerea unui tesut cu caracteristici asemanatoare cartilajului hialin uman. Momentan "aplicarea"



acestor produse se face "au ciel ouvert", existand insa cautari in directia rezolvarii in conditii de artrotomie minima (artroscopie)

Pentru reparatia tesutului cartilagos lezat sunt 2 cerinte :

1. refacerea suprafetei articulare cu cartilaj hialin sau hialin like.
2. repunerea in conditii normale de functionare a articulatiei (reaxare, stabilizare, refacerea congruentei).

Biomaterialul aduce la nivelul leziunii cartilaginoase atat condrocite alogenice cit si colagen tip II care este deja suportul celulelor si PG asigurand toate elementele necesare formarii unui tesut cartilagos nou cu caracter hialin.

Implantarea biomaterialului pentru refacerea suprafetelor articulare se face mult mai usor fara distructii tisulare importante, cu tehnici microinvazive artroscopice.

Nu necesita resectii osoase ci doar curatarea situsului de detritusuri cartilaginoase, pentru a oferi un suport viu si sanatos biomaterialului implantat.

Intr-un prim timp operator, se realizeaza artroscopic curatarea cartilajului degradat, si recoltarea din zone neportante ale articulatiei de tesut cartilagos macroscopic normal.

Celulele cartilaginoase recoltate sunt multiplicata in laborator si insamantate pe suportul poros ce va fi implantat. Intr-un al doilea timp operator, tot artroscopic, se implanteaza biomaterialul la nivelul defectului cartilagos.

Biomaterialul a fost testat pe un lot de voluntari cu defecte de cartilaj de peste 1 cm².

Aceste defecte au fost in principal procesate artroscopic, tesutul cartilagos degradat, fiind indepartat pana la osul subcondral prin "shaving". Intr-un alt timp chirurgical, un biomaterialul a fost implantat in situ.

Dupa 6 saptamani, a fost investigat artroscopic pentru a se urmări evoluția implantului: se observa o continuitate perfectă la limita dintre zona de cartilaj și implant. Palpat cu exploratorul, implantul se dovedește a fi suficient de rezistent la rupere și nu se desprinde din zona unde se afla defectul.

Handwritten signatures and initials at the bottom of the page.

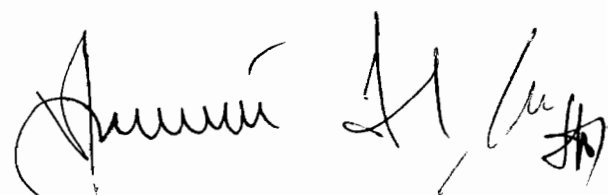
REVEDICARI:

“BIOMATERIAL MATRICIAL COMPOZIT BIOABSORBABIL “PROBIOS-IMPLANT” SUPORT BIOCOMPATIBIL SI PROCEDEE DE IMPLANT PENTRU REFACEREA CARTILAGIULUI”

1. Biomaterialul **“BIOMATERIAL MATRICIAL COMPOZIT BIOABSORBABIL “PROBIOS-IMPLANT” SUPORT BIOCOMPATIBIL SI PROCEDEE DE IMPLANT PENTRU REFACEREA CARTILAGIULUI”** reprezinta un compozit constituit din collagen nativ tip I, fibrilar sau atelocolagen sau collagen tip II, cu masa moleculara medie 350 – 450 kDa, si concentratie de 0,6 – 2%; Glicoziaminoglicani (condroitin-6-sulfat) 5 – 10%; factor (TGFB) de crestere 0,00003 parti . cu aspect poros si configuratie tridimensionala in stare liofilizata uscata sau hidrogel.
2. Obtinerea **“BIOMATERIAL MATRICIAL COMPOZIT BIOABSORBABIL “PROBIOS-IMPLANT” SUPORT BIOCOMPATIBIL SI PROCEDEE DE IMPLANT PENTRU REFACEREA CARTILAGIULUI”** se produce astfel:

Procedeul A:

Intr-un vas cu amestecator planetar capsulat, de laborator, se introduce collagen tip I, o solutie de compozit constituita din 1 litru solutie de condroitin – 6 – sulfat cu concentratie de 2,5 % si se amesteca 60 minute la temperatura de 10° C si diferenta de presiune de 0,1 torr, se adauga factorul de crestere solubilizat in acelasi tampon si se continua agitarea timp de cca 2 ore la temperatura de 15° C, solutia vascoasa (hidrogelul) obtinuta se liofilizeaza apoi se decupeaza la dimensiunile dorite, se conditioneaza si se sterilizeaza la radiatii UV sau γ , pastrandu-se la loc uscat si ferit de lumina.



Procedeul B:

Acelasi procedeu ca la exemplul 1 cu deosebirea ca se foloseste colagen tip II.

3. Biomaterialul "**BIOMATERIAL MATRICIAL COMPOZIT BIOABSORBABIL "PROBIOS-IMPLANT" SUPORT BIOCOMPATIBIL SI PROCEDEE DE IMPLANT PENTRU REFACEREA CARTILAGIULUI**" se prezinta in stare liofilizata uscata sau hidrogel.
4. "**BIOMATERIAL MATRICIAL COMPOZIT BIOABSORBABIL "PROBIOS-IMPLANT" SUPORT BIOCOMPATIBIL SI PROCEDEE DE IMPLANT PENTRU REFACEREA CARTILAGIULUI**" este un compozit bioabsorbabil poros suport si implant pentru refacerea cartilajului lezat caracterizat prin aceea ca este un compozit biopolimeric cu configuratie tridimensionala si microstructura poroasa cu diametrul porilor 50-83µm, constituit din colagen tip I (fibrilar, atellocolagen solubil) si/sau colagen tip II, ambele cu masa moleculara de 350-450kDa, din Glicoziaminoglicani (condroitin-6-sulfat) si din factor (TGFB) de crestere 0,00003 parti
5. Procedeul conform revendicarii 1 in care polisaharidul utilizat este condroitin sulfatul.
6. Procedeul conform revendicarii 1 prin care s-a obtinut o microstructura poroasa cu diametrul porilor de 50-83µm, care faciliteaza migrarea si dezvoltarea celulara.
7. Procedeul conform revendicarilor 1-4, in care obtinerea microstructurii poroase a implantului s-a realizat cu aplicarea tehnologiei de liofilizare.
8. prelevarea condrocitelor specifice cartilajului articular , care se cultiva ulterior "in vitro", de la pacienti (autologe), se realizeaza fie artroscopic, daca afectarea cartilajului nu este extinsa la suprafete mari, din acelasi gen, sau, de regula prelevarea facandu-se prin microincizie.
9. Biomaterialul "**BIOMATERIAL MATRICIAL COMPOZIT BIOABSORBABIL "PROBIOS-IMPLANT" SUPORT**

BIOCOMPATIBIL SI PROCEDEE DE IMPLANT PENTRU REFACEREA CARTILAGIULUI” se supune contactului cu celulele (condrocitele) autologe pentru invazia si dezvoltarea acestora in suport si prin procesul operator se introduce in zona afectata implantarea realizezandu-se fie artroscopic, cu lipire cu solutie de fibrina speciala, sau deschis cu sutura biomaterialului in defectul de cartilaj ori cu protejarea cu cost de periost.

10. Implantarea pentru **“BIOMATERIAL MATRICIAL COMPOZIT BIOABSORBABIL “PROBIOS-IMPLANT” SUPORT BIOCOMPATIBIL SI PROCEDEE DE IMPLANT PENTRU REFACEREA CARTILAGIULUI**” se realizeaza prin:

A. tehnica artroscopica, si anume, se prepara locusul receptor prin chiuretare pana la osul subcondral si se aplica biomaterialul compozit cu celulele incluse, care sa acopere in intregime suprafata, apoi se lipesc marginile cu solutie de fibrina ce polimerizeaza instant si formeaza legaturile intre grefa si gazda.

B. tehnica “au ciel ouvert” cu incizie si apoi prepararea locusului ca mai sus, aplicarea mai exacta a biomaterialului compozit si fixare cu solutie de fibrina sau alta membrana artificiala (din collagen) sau naturala – periost tibial recoltat pe aceeasi incizie de pe fata anteromediala a epifizei tibiale ce se sutureaza cu fire resorbabile la marginile defectului.

11. **“BIOMATERIAL MATRICIAL COMPOZIT BIOABSORBABIL “PROBIOS-IMPLANT” SUPORT BIOCOMPATIBIL SI PROCEDEE DE IMPLANT PENTRU REFACEREA CARTILAGIULUI**” este un compozit cu rol de suport biocompatibil pentru celule cultivate in “vitro”, ofera avantajul existentei unor conditii de migrare, atasare si dezvoltare celulara, a condrocitelor care la momentul unei cresteri numerice suficiente se transfera din suspensie pe suportul solid unde se fixeaza in 24 ore.

12. **“BIOMATERIAL MATRICIAL COMPOZIT BIOABSORBABIL “PROBIOS-IMPLANT” SUPORT BIOCOMPATIBIL SI PROCEDEE DE IMPLANT PENTRU REFACEREA CARTILAGIULUI”** are rol de suport biocompatibil pentru migrarea si dezvoltarea celulelor cultivate „in vitro” prin realizarea unei retele de pori interconectati si pastrarea caracteristicilor fizico-chimice ale compozitului buretos precum si realizarea unor procedee pentru reducerea ratei de biodegradabilitate si resorbție a implantului „in situ”, implantul realizat manifestand un efect retard al procesului de biodegradabilitate si resorbție a acestuia „in situ”.