



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2010 01171**

(22) Data de depozit: **24.11.2010**

(41) Data publicării cererii:
30.08.2012 BOPI nr. **8/2012**

(71) Solicitant:
• UNIVERSITATEA "POLITEHNICA" DIN
BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI
NR.313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• FICAI ANTON, STR. GH. POLOIZU
NR.1-7, P.O. BOX 12-132, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;
• ANDRONEȘCU ECATERINA,
STR. GHEORGHE POLIZU NR.1-7,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;

• GHITULICA CRISTINA DANIELA,
STR. GH.POLIZU NR.1-7, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;
• FICAI DENISA, STR.GH.POLIZU NR.1-7,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
• VOICU GEORGETA, STR.GH.POLIZU
NR.1-7, P.O.BOX 12-134, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;
• ALBU MĂDĂLINA GEORGIANA,
STR. ION MINULESCU NR.93, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A UNOR MATERIALE
COMPOZITE, MULTIFUNCȚIONALE, CU POTENȚIALE
APLICAȚII ÎN TRATAREA CÂNCERULUI OSOS**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor materiale compozite, multifuncționale, cu aplicare în tratarea cancerului osos. Procedeu conform invenției constă din amestecarea gelului de collagen mineralizat cu hidroxiapatită, 3...10% nanoparticule de magnetită, eventual, 10...500 ppm nanoparticule de Au și/sau Ag, substanțe active constând din 0,1...10 mg/g material

compozit, citostatice și substanțe cu caracter analgezic/ antiinflamator, și maximum 1%, față de collagen, glutaraldehidă pentru reticulare.

Revendicări: 2

Figuri: 4



10

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI
Cerere de brevet de invenție
Nr. α 2010 01171
Data depozit 24-11-2010

Procedeu de obținere a unor materiale compozite multifuncționale cu potențiale aplicații în tratarea cancerului osos

Synthesis procedure of some multifunctional composite materials with potential applications in bone cancer treatment

Anton FICAI, Ecaterina ANDRONESCU, Cristina Daniela GHITULICA,
Denisa FICAI, Georgeta VOICU

Descriere

Prezenta cerere de brevet prezintă sinteza unor sisteme multifuncționale cu potențiale aplicații în tratarea cancerului osos. Sistemul multifuncțional se aplică în defectul osos produs în urma intervenției chirurgicale de îndepărtare a țesutului osos canceros. Efectul antitumoral al acestor sisteme se datorează atât acțiunii antitumorale ale componentelor individuale cât și sinergismului dintre acestea. Sistemul multifuncțional propus combină metode convenționale (chimioterapia) și neconvenționale (utilizarea magnetitei și a nanoparticulelor de Au și/sau Ag care induc apoptoza prin diverse metode).

Multifuncționalitatea acestor sisteme este dată de subsistemele existente. Astfel, aceste sisteme multifuncționale funcționează ca:

- sisteme regenerative datorită suportului compozit de tip colagen/hidroxiapatită;
- sisteme cu eliberare controlată de citostatic(e);
- sisteme cu eliberare controlată de analgezic/antiinflamator;
- sisteme antiseptice și antitumorale datorită prezenței nanoparticulelor coloidale de Ag sau Au;
- sisteme antitumorale datorate nanoparticulelor de magnetită care pot genera hipertermie „la comandă” atunci când se aplică câmpuri electromagnetice de frecvență 100 – 300kHz.

Materialele compozite de tip colagen/hidroxiapatită sunt utilizate ca biomateriale în reconstrucția osoasă și/sau implantologie [1] fiind materialul compozit cel mai asemănător cu osul natural din punct de vedere al compoziției chimice [2]. Deși



materialele compozite de tip colagen/hidroxiapatită și, în general, materialele compozite de tip colagen/fosfați de calciu au fost intens studiați, studii recente legate de inducerea unor morfologii avansate ale acestor materiale compozite au fost raportate abia la nivelul anilor 2007-1010 [3-5].

Citostaticele sunt larg utilizate în tratamentul diverselor forme de cancer dar administrarea pe cale intravenoasă conduce la o toxicitate sistemică avansată. Utilizarea diverselor sisteme de eliberare controlată a citostaticelor este cunoscută și cercetată, ea conducând la reducerea toxicității acestor medicamente neselective ca urmare a eliberării locale a acestora [6-10].

Magnetita este folosită în diverse aplicații medicale: imagistică medicală ca agent de contrast, sistem de eliberare controlată și transport de medicamente și hipertermie [11]. Utilizarea magnetitei are ca scop principal reducerea conținutului de citostatic, în primă instanță. Combinarea materialului compozit colagen/hidroxiapatită cu magnetită a fost raportată recentă atât din punct de vedere al sintezei, caracterizării cât și a testării *in vitro* prin capacitatea de a genera hipertermie [12]. Dacă efectul citostaticului este limitat ca timp, magnetita este stabilă timp îndelungat în condiții fiziologice iar activitatea sa antitumorală datorată hipertermiei poate fi activată oricând este nevoie, chiar și atunci când activitatea citostaticului a dispărut.

Nanoparticulele coloidale de Au și/sau Ag sunt cunoscute pentru activitatea lor antiseptică și de asemenea pentru activitatea antitumorală [13-16]. Este de remarcat faptul că, în comparație cu citostaticele, aceste nanoparticule nu prezintă efecte secundare (nu au fost raportate până la această dată) iar utilizarea lor este recomandată în special în scopul diminuării dozei de citostatic.

Mai mult, aceste sisteme multifuncționale pot fi considerate „materiale inteligente” deoarece eliberarea substanțelor active poate fi localizată la nivelul unei zone și de asemenea, poate fi intensificată din exterior prin aplicarea unui câmp electromagnetic de frecvență 100-300kHz, hipertermia produsă ducând la creșterea vitezei de eliberare a acestora (Figura 2). Mai mult, la atingerea dozei dorite, se poate întrerupe aplicarea câmpului electromagnetic ceea ce duce la scăderea vitezei de eliberare (Figura 3) ca urmare a scăderii temperaturii până la temperatura corpului (37 °C).

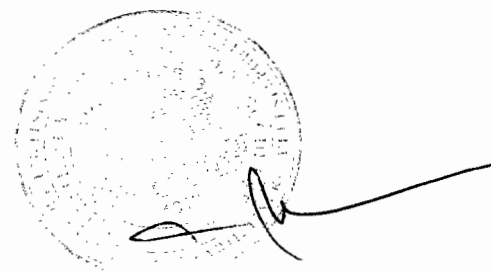


Sinteza sistemelor multifuncționale cu potențiale aplicații în tratarea cancerului osos poate fi realizată, în funcție de funcționalitățile dorite, diferențiat:

Exemplu 1. Sistemele multifuncționale se pot obține prin amestecarea directă a gelului de collagen mineralizat cu cantitatea corespunzătoare de nanoparticule magnetice și suspensia coloidală de Au și/sau Ag și reticularea acestui material cu glutaraldehidă (max 1% față de conținutul de collagen). Substanțele active (citostaticul și substanța cu caracter analgezic/ antiinflamator) putând fi adsorbite ulterior, din soluție sau pot fi înglobate înainte de reticulare (dacă adsorbția este anterioară reticulării viteza de eliberare este mai scăzută comparativ cu cazul în care adsorbția se face după reticulare).

Exemplu 2. Sistemele multifuncționale se pot obține prin amestecarea directă a gelului de collagen mineralizat cu citostaticul adsorbit pe nanoparticulele magnetice, cu substanța cu activitate analgezică/antiinflamatorie și cu suspensia coloidală de Au și/sau Ag. Adsorbția citostaticului direct pe magnetită are marele avantaj că se realizează o sinergie perfectă între efectul chimioterapeutic al citostaticului și hipertermia produsă de magnetită (Figura 1). Aceasta este explicabilă prin faptul că la aplicarea câmpului electromagnetic se produce hipertermia iar viteza de eliberare a citostaticului crește (și implicit activitatea antitumorală datorită chimioterapiei). Aplicarea locală a citostaticului, sub forma sistemului multifuncțional) a venit din necesitatea limitării la maxim a toxicității sistemice. Reducerea mai avansată a dispersiei nanoparticulelor magnetice și implicit a efectelor secundare asupra țesutului învecinat se poate realiza prin aplicarea unui câmp magnetic care să ducă la localizarea acestor nanoparticule la nivelul țesutului tumoral sau în imediata vecinătate a acestuia (Figura 1). Dacă însă, citostaticul nu este direct adsorbit pe magnetită atunci creșterea vitezei de eliberare prin aplicarea câmpului electromagnetic este, vizibil, mai puțin pronunțată.

Exemplu 3. Sistemele multifuncționale se pot obține pornind de la sistemul multifuncțional ce nu conține nanoparticule de Au și/sau Ag, acestea fiind ulterior depuse prin reducere chimică în prezență de glucoză sau prin depunere prin tehnica plasma sputtering. Dacă reducerea chimică duce la obținerea unor materiale omogene, prin tehnica plasma sputtering se obțin cu precădere materiale eterogene. Prin plasma



sputtering nanoparticulele coloidale se depun pe materialul dorit, în ultima etapă, după reticularea și uscarea acestora. Asimetria materialului poate fi benefică în special în cazul în care tumora este localizată și se dorește o concentrație crescută la interfața sistem multifuncțional-țesut tumoral (os).

Figura 1. Reprezentarea schematică a tratamentului cancerului osos utilizând sistemul multifuncțional

Figura 2. Profilul de eliberare a substanțelor active din sistemele multifuncționale în absența și respectiv în prezența câmpului electromagnetic

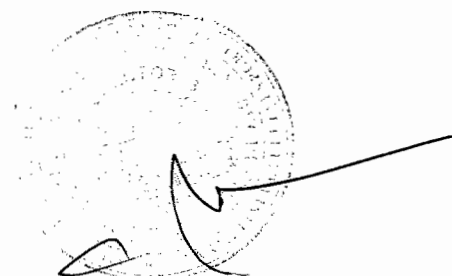
Figura 3. Profilul de eliberare a substanțelor active din sistemele multifuncționale la încetarea sau diminuarea intensității câmpului electromagnetic

Observații cu caracter general:

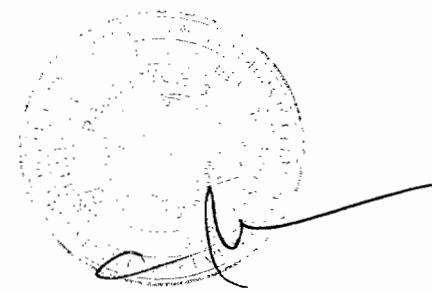
- indiferent de ruta de procesare aleasă, viteza de eliberare a componentelor active (citostatic, antiinflamator/analgezic) poate fi indusă de morfologia suportului. Astfel, materialele compozite poroase, datorită unui flux mai mare de lichid, vor permite o eliberare mai rapidă a substanțelor de interes decât materialele compozite mai dense, ambele având aceeași compoziție. Porozitatea materialelor compozite de tip collagen/hidroxiapatită poate fi modelată prin: centrifugare (densifică); ruta de uscare (prin liofilizare se obțin materiale poroase în timp ce prin uscare controlată se obțin materiale dense în timp ce combinarea celor două tipuri de uscare se pot obține materiale cu porozitate intermediară (Figura 4);
- mineralizarea gelului de collagen se poate realiza prin coprecipitare [12] sau prin orice altă metoda care nu duce la degradarea collagenului;
- magnetita poate fi utilizată ca atare sau poate fi obținută in situ, în etapa de mineralizare, prin precipitare pornindu-se de la precursori adecvați;

Figura 4. Influența metodei de uscare asupra morfologiei materialului compozit

Referințe bibliografice

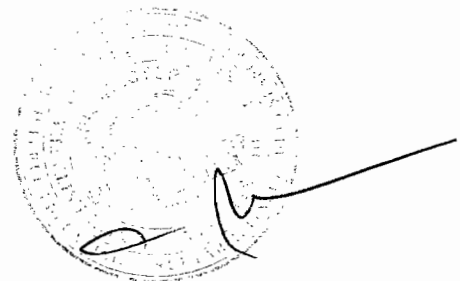


1. Wahl DA, Czernuszka JT. Collagen-hydroxyapatite composites for hard tissue repair. *European Cells & Materials* 2006;11:43-56.
2. Bandyopadhyay-Ghosh S. Bone as a Collagen-hydroxyapatite Composite and its Repair. *Trends Biomater Artif Organs* 2008;22(2):112-120.
3. Fikai A, Andronescu E, Trandafir V, Ghitulica C, Voicu G. Collagen/hydroxyapatite composite obtained by electric field orientation. *Materials Letters* 2010;64(4):541-544.
4. Fikai A, Andronescu E, Voicu G, Ghitulica C, Vasile BS, Fikai D, et al. Self assembled collagen/ hydroxyapatite composite materials. *Chemical Engineering Journal* 2010;160(2):794-800.
5. Wu CY, Sassa K, Iwai K, Asai S. Unidirectionally oriented hydroxyapatite/collagen composite fabricated by using a high magnetic field. *Materials Letters* 2007;61(7):1567-1571.
6. Yan XL, Gemeinhart RA. Cisplatin delivery from poly(acrylic acid-co-methyl methacrylate) microparticles. *Journal of Controlled Release* 2005;106(1-2):198-208.
7. Konishi M, Tabata Y, Kariya M, Hosseinkhani H, Suzuki A, Fukuhara K, et al. In vivo anti-tumor effect of dual release of cisplatin and adriamycin from biodegradable gelatin hydrogel. *Journal of Controlled Release* 2005;103(1):7-19.
8. Philip T, Iliescu C, Demaille M-C, Pacquement H, Gentet J-C, Krakowski I, et al. High-dose methotrexate and HELP [HoloXan (ifosfamide), Eldesine (vindesine), platinum] – doxorubicin in non-metastatic osteosarcoma of the extremity: A French multicentre pilot study. *Annals of Oncology* 2004;10(9):1065-1071.
9. Voute PA, Souhami RL, Nooij M, Somers R, Cortes-Funes H, Eijken JWvd, et al. A phase II study of cisplatin, ifosfamide and doxorubicin in operable primary, axial skeletal and metastatic osteosarcoma. *Annals of Oncology* 1999;10(10):1211-1218.
10. Meyer WH, Pratt CB, Poquette CA, Rao BN, Parham DM, Marina NM, et al. Carboplatin/Ifosfamide Window Therapy for Osteosarcoma: Results of the St Jude Children's Research Hospital OS-91 Trial. *Journal of Clinical Oncology* 2001;19:171-182.
11. Wang XM, Zhang RY, Wu CH, Dai YY, Song M, Gutmann S, et al. The application of Fe₃O₄ nanoparticles in cancer research: A new strategy to inhibit drug resistance. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 2007;80A(4):852-860.
12. Andronescu E, Fikai M, Voicu G, Fikai D, Maganu M, Fikai A. Synthesis and characterization of collagen/hydroxyapatite:magnetite composite material for bone cancer treatment. *Journal of Materials Science - Materials in Medicine* 2010;21(7):2237-2242.
13. Park HS, Jang S, Cha HR, Lee JE, Kim JO, Jang TW, et al. Silver nanoparticles induce antitumor activity in lung cancer: In vitro and in vivo studies. *Journal of Thoracic Oncology* 2010;5(6):S242-S242.
14. Deng FR, Olesen P, Foldbjerg R, Dang DA, Guo XB, Autrup H. Silver nanoparticles up-regulate Connexin43 expression and increase gap junctional intercellular communication in human lung adenocarcinoma cell line A549. *Nanotoxicology* 2010;4(2):186-195.
15. Xu R, Ma J, Sun XC, Chen ZP, Jiang XL, Guo ZR, et al. Ag nanoparticles sensitize IR-induced killing of cancer cells. *Cell Research* 2009;19(8):1031-1034.



5

16. Jain PK, El-Sayed IH, El-Sayed MA. Au nanoparticles target cancer. Nano Today 2007;2(1):18-29.



Procedeu de obținere a unor materiale compozite multifuncționale cu potențiale aplicații în tratarea cancerului osos

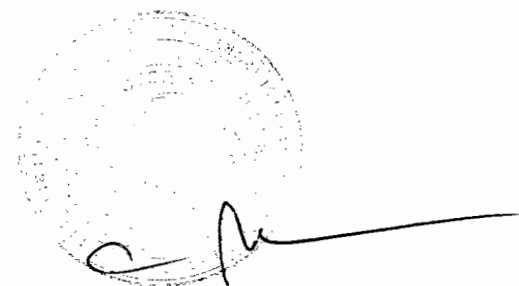
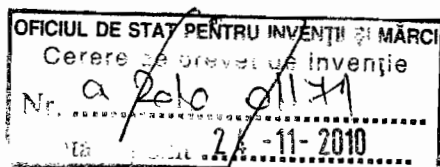
Synthesis procedure of some multifunctional composite materials with potential applications in bone cancer treatment

Anton FICAI, Ecaterina ANDRONESCU, Cristina Daniela GHITULICA,
Denisa FICAI, Georgeta VOICU, Madalina Georgiana ALBU

Revendicări

Prin prezentul brevet revendicăm:

- dreptul de proprietate intelectuală asupra tehnologiei de obținere și a materialelor multifuncționale compozite cu potențiale aplicații în tratarea cancerului osos **caracterizată prin aceea că** îmbină componentele caracteristice metodelor convenționale de tratament (chimioterapeutice-citostatice) cu componente caracteristice metodelor neconvenționale (hipertermia și activitatea antitumorală datorată nanoparticulelor coloidale de Au și/sau Ag) precum și cu componente suplimentare de tipul substanțelor cu rol analgezic și/sau antiinflamator;
- dreptul de proprietate asupra tehnologiei de obținere a materialelor multifuncționale simetrice și asimetrice **caracterizate prin aceea că** nanoparticulele coloidale pot fi depuse omogen în toată masa de material sau preferențial pe una dintre fețele materialului; datorită efectului antitumoral al acestor particule, zona mai bogată în nanoparticule va fi dispusă spre zona tumorală astfel încât să își exercite la maxim activitatea;
- dreptul de proprietate intelectuală asupra controlului eliberării anumitor **substanțe caracterizată prin aceea că** aceste substanțe sunt absorbite pe magnetită (indiferent dacă magnetita are sau nu alt rol decât acela de a controla viteza de eliberare) iar creșterea vitezei de eliberare se poate induce prin simpla aplicare a unor câmpuri electromagnetice de frecvență 100-300kHz; creșterea vitezei de eliberare fiind cel mai probabil datorată intensificării proceselor de difuziune.



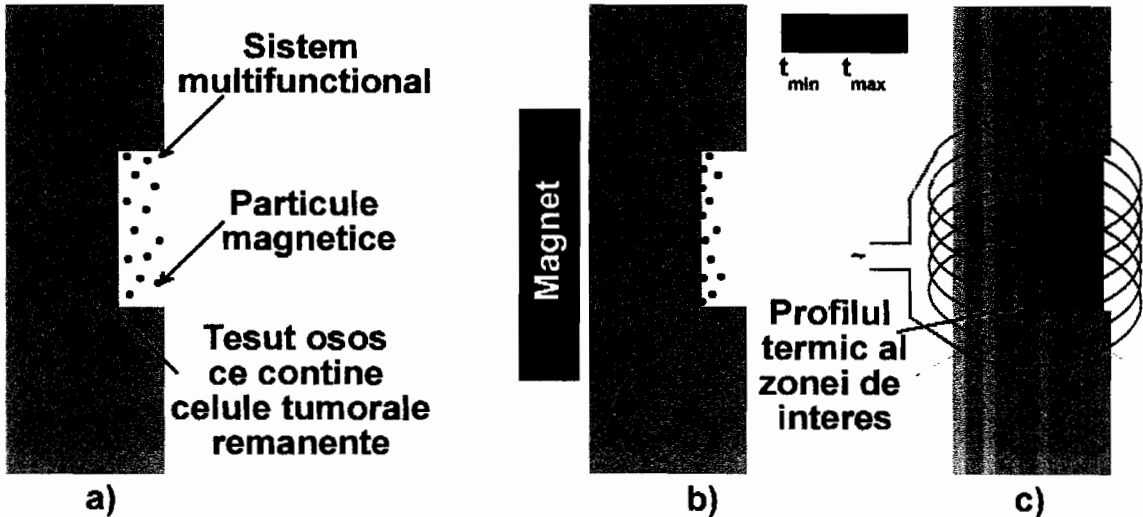


Figura 1. Reprezentarea schematică a tratamentului cancerului osos utilizând sistemul multifuncțional

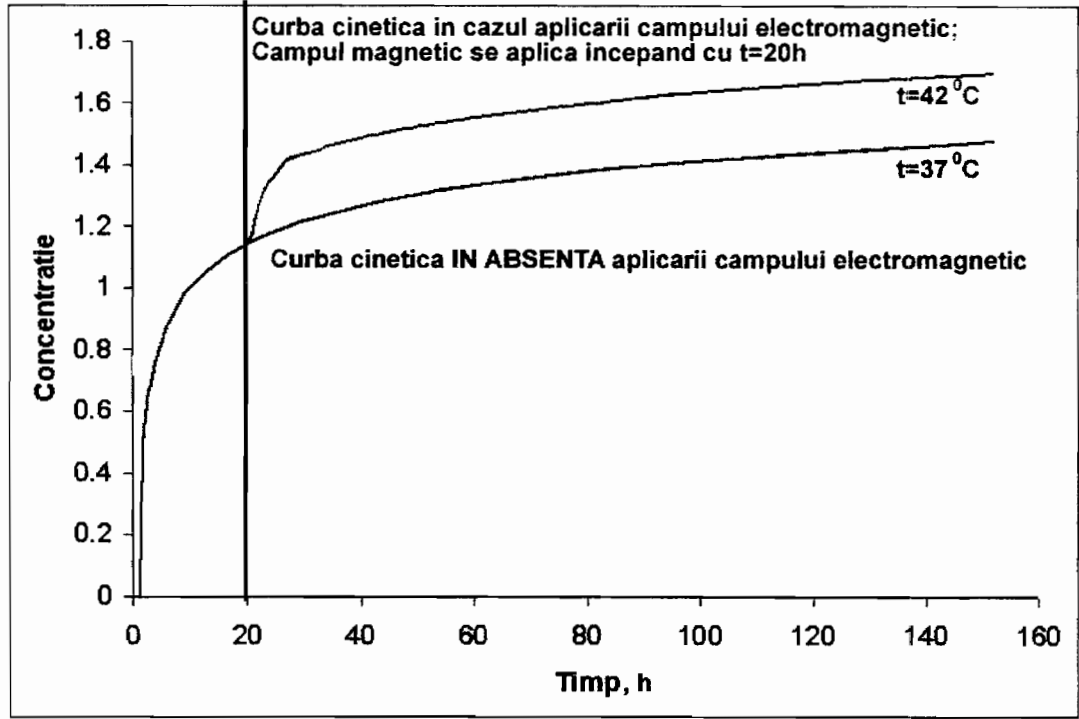
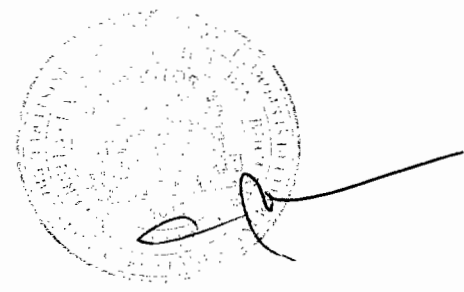


Figura 2. Profilul de eliberare a substanțelor active din sistemele multifuncționale în absența și respectiv în prezența câmpului electromagnetic



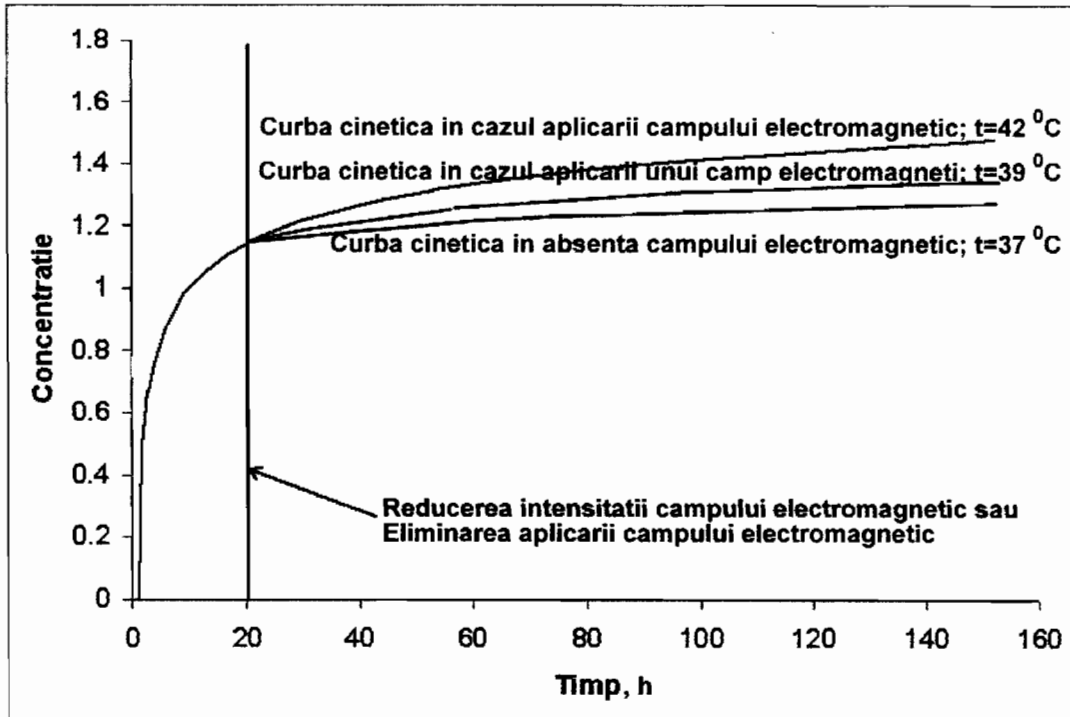


Figura 3. Profilul de eliberare a substanțelor active din sistemele multifuncționale la încetarea sau diminuarea intensității câmpului electromagnetic

material compozit obținut prin liofilizare material compozit obținut prin uscare mixta: uscare controlată (24h) urmată de liofilizare material compozit obținut prin uscare controlată la 37°C și 60% umiditate

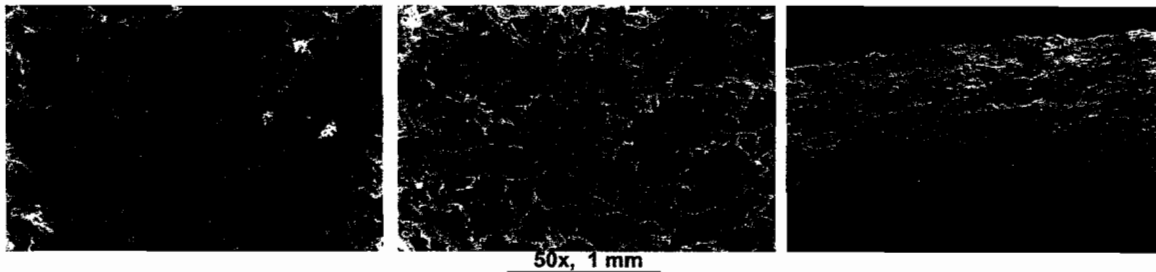


Figura 4. Influența metodei de uscare asupra morfologiei materialului compozit

