



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENTIE

(21) Nr. cerere: **a 2013 00239**

(22) Data de depozit: **20.03.2013**

(41) Data publicării cererii:  
**30.10.2014** BOPI nr. **10/2014**

(71) Solicitant:

• UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN  
BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI  
NR. 313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

• FICAI ANTON, STR.RAHOVEI, NR.30-32,  
SC.2, ET.1, AP.11, BRAGADIRU, IF, RO;  
• ANDRONESCU ECATERINA,  
CALEA PLEVNEI NR.141B, BL.4, ET.1,  
AP.1, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;

• FICAI DENISA, STR.RAHOVEI, NR.30-32,  
SC.2, ET.1, AP.11, BRAGADIRU, IF, RO;  
• SONMEZ MARIA, STR. MIHAI VITEAZU  
NR. 15, SEINI, MM, RO;  
• NEDELCU IOAN AVRAM, SAT BORCEA,  
COMUNA BORCEA, CL, RO;  
• ALBU MĂDĂLINA GEORGIANA,  
BD. TINERETULUI NR. 21, BL. Z6, SC. 1,  
ET. 7, AP. 48, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,  
RO

(54) **GREFE OSOASE PE BAZĂ DE COLAGEN, FOSFAT DE CALCIU ȘI ZINC, ȘI PROCEDEU DE OBȚINERE A ACESTORA**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o grefă osoasă, cu aplicații în stomatologie. Grefa osoasă, conform invenției, este

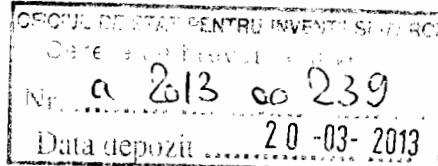
constituită din fosfat de calciu și colagen într-un raport 1...4:1 și 1...10% Zn<sup>2+</sup>.

Revendicări: 1

Figuri: 1

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 inventie a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de inventie este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).





## **GREFE OSOASE PE BAZĂ DE COLAGEN, FOSFAT DE CALCIU ȘI ZINC SI PROCEDEU DE OBȚINERE A ACESTORA**

### **Domeniul tehnic în care poate fi folosită invenția**

Invenția se referă la grefa osoasă pe baza de colagen și hidroxiapatită precum și hidroxiapatită substituită sau oxid de zinc cu potențiale aplicații în stomatologie și ortopedie, în ingineria tisulară osoasă și la un procedeu de obținere a acestora.

### **Descrierea stadiului actual**

Substituenții de os sunt materiale deosebit de cerute pe piața materialelor medicale, cantitatea de grefe osoase solicitată fiind devansată doar de necesarul de sânge ceea ce reprezintă un segment de piață deosebit de important. Preocupările recente în domeniul grefelor osoase este legat de obținerea unor materiale compozite complexe de tip polimer/ceramică cu proprietăți îmbunătățite atât din punct de vedere al bioactivității, biointegrabilității, a proprietăților specifice etc. Aceste proprietăți sunt induse de natura materialului sau de prezența unor terțe componente care induc proprietățile vizate.

În prezent, majoritatea grefelor osoase au la bază diverși săruri de calciu, biosticle sau materiale compozite ce conțin aceste componente.

Un număr important de materiale utilizate în reconstrucția osoasă au la bază săruri de calciu deoarece osul, prin excelență este un material compozit cu un conținut ridicat de Ca (~28% din masa osoasă o reprezintă calciul sub forma de fosfați de calciu). Datorită bioactivității scăzute a hidroxiapatitei și respectiv a fosfaților de calciu, un număr important de grefe osoase sunt obținute pornind de la săruri mai reactive dintre care, probabil cele mai utilizate sunt sulfatii [1] sau carbonații, incluzând aici și derivații rezultați din prelucrarea coralilor [2]. Sulfatii de calciu sunt deosebit de utilizați deoarece au solubilitatea de aproximativ 5000 de ori mai mare decât carbonatul de calciu și  $10^{20}$  mai mare decât a TCP. Solubilitatea mult mai mare permite o mai rapidă osteointegrare și difuzie a ionilor de calciu în țesutul osos învecinat.

Brevetul de invenție US7621963 prezintă prepararea unor noi materiale compozite compuse din 50-90% particule porogene resorbabile și 10-50% sare de calciu. Componenții principali sunt sulfatul și carbonatul de calciu, în raport de combinare diferit

între 1:10 și până la 10:1. În toate cazurile prezentate în brevet suma sulfatului și carbonatului de calciu exprimat ca  $\text{CaSO}_4$  și  $\text{CaCO}_3$  este de minim 50% sau mai mult și poate ajunge până 100%. De asemenea materialele utilizate pentru obținerea grefelor osoase au fost îmbunătățite prin adăugarea unor săruri precum  $\text{CaSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCO}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{Ca}(\text{SO}_4)_2$ ,  $\text{K}_2\text{Ca}_2(\text{SO}_4)_4$ , TCP sau chiar HA sau hidroxiapatită substituită etc. În principiu, compoziția complexă a componentei ceramice va permite o bioactivitate controlată în funcție de aplicația vizată. Formarea unor materiale poroase care să favorizeze osteointegrarea implantului este indusă de prezența unor polimeri biodegradabili din clase variate precum: poliesteri, polilactone, polianhidride, policarbonați sau copolimeri ai acestora. Este de menționat faptul că, polimerii prezentați au viteze de degradare diferite variind între 45 și  $770\mu\text{m}/\text{săptămână}$ . În funcție de procesare și compoziția propusă proprietățile materialelor variază în limite suficient de largi pentru a acoperi o gama variată de aplicații. În esență, materialele astfel obținute sunt materiale poroase, bioactive și biocompatibile destinate pentru aplicații în ortopedie.

Grefe osoase bioactive au fost de asemenea raportate și de Clineff și colab. [3]. Aceste materiale au la bază colagen și biosticle cu pori interconectați în domeniul micro-, mezo- și macroporilor. Grefele astfel obținute prezintă umectabilitate ridicată - absorbția de apă fiind de 150–250 % (determinate după imersarea în PBS timp de 30sec), bioactivitate ridicată; aplicabilitate clinică foarte facilă; particule cu diametru de 30– $250\mu\text{m}$  și pori de predefiniți în domeniul 1– $500\mu\text{m}$ .

De asemenea au fost obținute și grefe osoase compozite pornind de la componente caracteristice osului precum și a unor componente nespecifice osului precum alumina sau alți compuși pe bază de aluminiu [4]. În special următoarele faze sunt caracteristice materialelor compozite utilizate pentru obținerea grefelor osoase:  $\text{CaAl}_2\text{O}_4$ ,  $\text{Ca}_3\text{Al}_2(\text{OH})_{12}$ ,  $\text{CaAl}_4\text{O}_7$ ,  $\text{CaAl}_2((\text{OH})_8(\text{H}_2\text{O})_2)\text{H}_2\text{O}_{1.84}$ ,  $3\text{CaO}\cdot\text{Al}_2\text{O}_3\cdot\text{Ca}(\text{OH})_2\cdot18\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Ca}_3(\text{Al}(\text{OH})_6)_2$ ,  $5(\text{CaO})_3\text{Al}_2\text{O}_3$  și  $(\text{CaO})_3\text{Al}_2\text{O}_3(\text{H}_2\text{O})_8$ . Îmbunătățirea osteointegrării grefei este dată de imobilizarea unor peptide pe suprafața materialului.

### **Problema tehnică**

Având în vedere numărul din ce în ce mai mare de probleme aferente țesutului dur (osos), problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în realizarea unor grefe osoase

antiseptice cu bioactivitate mărită pe baza de colagen, hidroxiapatită sau hidroxiapatită substituită cu  $Zn^{2+}$  și ZnO care poate fi utilizată în ingineria tisulară a țesutului osos. De asemenea prezența ionilor de Zn asigură proprietăți antiseptice sporite, bioactivitate mărită și o rezervă de Zn necesară pentru funcționarea eficientă a unor mecanisme proprii organismului; zincul acționează drept catalizator pentru menținerea echilibrului conținutului de acid carbonic, pentru hidroliza legăturii peptidice și hidroliza fosfoesterilor [5]. Zincul este de asemenea cunoscut pentru efectul său benefic în cazul osteoporozei. Lipsa acută de zinc se manifestă prin întârzieri de creștere și maturizare osoasă sau susceptibilitate crescută la infectare [6]. Zincul este de asemenea utilizat în medicina dentară fiind o componentă activă esențială a diverselor materiale utilizate pentru tratamentul canalelor dentinare.

### **Soluția tehnică**

Soluția tehnică propusă conține componente esențiale osului adică colagen și fosfați de calciu (majoritar hidroxiapatita și apatita carbonată) dar și cantități importante de  $Zn^{2+}$  (1-10%). Raportul fosfați de calciu:colagen este cuprins între 1:1 și 4:1. Procedeul de obținere a acestor materiale este schematic prezentată în Fig. 1. Au fost propuse două rute diferite de sinteză.

Ruta A permite sinteza unui material în care parțial, ionii de Zn substituie ioni de Ca din structura hidroxiapatitei. În acest caz se obține un compozit binar COL/Ca<sub>5-x</sub>Zn<sub>x</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>OH (notat COL/HA-Zn).

Ruta B de sinteză permite obținerea unor materiale componete ternare COL/HA-ZnO, oxidul de zinc fiind adăugat după sinteza prealabilă a gelului mineralizat de COL/HA.

În ambele cazuri materialul final obținut poate fi condițional la gel, matrici sau pulberi, reticulate sau nu și cu porozitate controlată astfel încât să se obțină o osteointegrare bună.

### **Avantajele invenției în raport cu stadiul tehnicii**

Cele mai importante avantaje, raportate la materialele componete COL/HA sunt:

- prezența zincului este deosebit de benefică deoarece prin multitudinea de reacții enzimatic catalizate (zincul este drept co-factor pentru peste 200 de enzime) asigură o funcționare normală a multor sisteme enzimatic – asigura homeostazia zincului;
- prezența zincului asigură și un caracter antiseptic a materialului;
- materialul este ușor de aplicat clinic prin faptul că poate fi obținut sub formă de gel, matrici sau pulberi, bioactivitatea putând fi ajustată prin gradul de reticulare;
- zincul prin excelенă este deosebit de eficient pentru tratamentul oaselor osteoporotice.

### **Descrierea detaliată a invenției**

Materialul compozit COL/HA este, cel puțin din punct de vedere compozițional, cel mai apropiat de țesutul osos. Prezența zincului, indiferent de ce formă, nu modifică în esență proprietățile ceramice ale materialului, astfel încât, prin aplicarea rutelor adecvate, pot fi obținute materiale cu porozitate predefinită aşa cum a fost prezentat în numeroase lucrări de specialitate [7]. Raportul de combinare COL/HA este uzual apropiat de compoziția osului natural însă, pot fi ușor obținute materiale cu raport de combinare între 1:1 și 1:4.

Zincul este adăugat în material în proporție de 1-10%, sau chiar mai mult.

Exemplu I. Zincul se poate regăsi la nivelul grefei osoase sub formă de compuși dintre care cel mai important este  $\text{Ca}_{5-x}\text{Zn}_x(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  (Ruta A, Fig 1). În acest caz ruta de sinteză presupune mineralizarea colagenului pornindu-se de la amestecul de  $\text{Ca}^{2+}$  și  $\text{Zn}^{2+}$ . Odată cu adăugarea fosfatului alcalin sau a acidului fosforic/bază începe procesul de precipitare a  $\text{Ca}_{5-x}\text{Zn}_x(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ , unde x este, uzual 0,01 – 0,1.

Exemplu II. Adăugarea zincului sub formă de oxid de zinc asigură materialului proprietăți antiseptice (Ruta B, Fig 1). Materialul compozit se obține prin adăugarea oxidului de zinc în gelul de colagen mineralizat obținut conform oricărei metode de mineralizare cunoscută. Adăugarea oxidului de zinc se recomandă sub agitare energetică pentru o bună omogenizare a materialului.

Exemplu III. Pornind de la exemplele I și II prezentate se pot obține grefe osoase complexe de tip  $\text{COL}/\text{Ca}_{5-x}\text{Zn}_x(\text{PO}_4)_3\text{OH-ZnO}$ . În acest caz, zincul este adăugat diferențiat, în două etape, astfel: în prima fază se adaugă echivalentul de zinc ce se

dorește a substitui ionii de calciu din structura hidroxiapatitei urmând ca apoi, după mineralizarea propriu zisă a colagenului cu  $\text{Ca}_{5-x}\text{Zn}_x(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  să se dozeze cantitatea de ZnO, adăugarea fiind realizată sub agitare energetică pentru a se realiza o omogenizare avansată a materialului compozit ternar ce urmează a fi utilizat drept grefă osoasă.

Indiferent de compoziția grefei acestea pot fi condiționate astfel încât să se obțină geluri injectabile, nereticulate; matrici reticulate sau nereticulate sau pulberi reticulate sau nereticulate. De asemenea, osteointegrarea, favorizată de prezența zincului, va fi controlată și de proprietățile ceramice ale grefelor prin obținerea unor materiale cu dimensiuni de pori și grad de porozitate controlată. Evident aceste materiale pot include și alte componente, funcție de domeniile de aplicație pentru care sunt proiectate.

### Referințe bibliografice

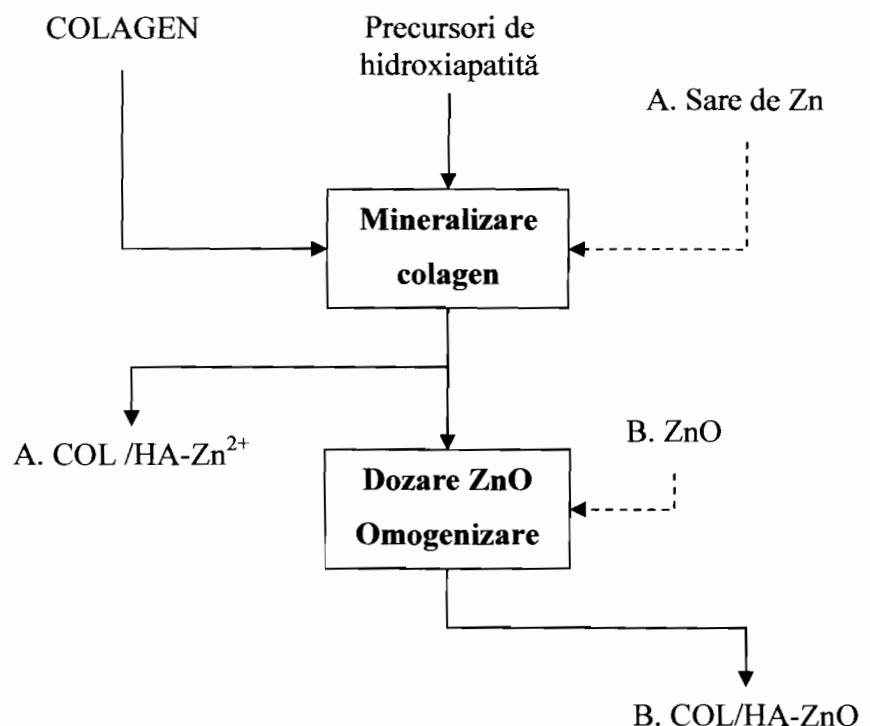
1. Simon BJ, Ronk RM, D'Antonio P, Schwardt JD, inventors. Composite bone graft material. US Patent No. 7621963, 2009.
2. Zhang L, Webster TJ. Nanotechnology and nanomaterials: Promises for improved tissue regeneration. Nano Today 2009;4(1):66-80.
3. Theodore C, Antony K, Charanpreet B, Erik E, Gina N, Marissa D, inventors. Bioactive bone graft substitute 2012.
4. Paula W-E, Kenneth M, James R, Ellen G, Rachelle P, inventors. Enhanced bone healing, 2011.
5. Lakhkar NJ, Lee I-H, Kim H-W, Salih V, Wall IB, Knowles JC. Bone formation controlled by biologically relevant inorganic ions: Role and controlled delivery from phosphate-based glasses. Advanced Drug Delivery Reviews 2012;xx(x):xxx-xxx.
6. Nante G, Tontisirin K. Human Vitamin and Mineral Requirements. World Health Organization - Food and Nutrition Division FAO Rome, 2002.
7. Andronescu E, Voicu G, Ficai M, Mohora IA, Trusca R, Ficai A. Collagen/hydroxyapatite composite materials with desired ceramic properties. Journal of Electron Microscopy 2011 Jun;60(3):253-259.

## REVENDICĂRI

Prin prezenta, revendicăm dreptul de proprietate intelectuală asupra grefelor osoase pe bază de colagen, fosfați de calciu și zinc prezентate precum și asupra procedeelor de obținere a acestora.

- Materialele compozite pe bază de colagen, fosfați de calciu și zinc **caracterizate prin aceea că** îmbunătățesc considerabil osteointegrarea, bioactivitatea, osteoinductivitatea și osteoconductivitatea acestora în raport cu materialele COL/HA simple, și nu numai;
- Materialele compozite pe bază de colagen, fosfați de calciu și zinc **caracterizate prin aceea că** prin prezența zincului se asigură creșterea calității vieții persoanelor care suferă de osteoporoză și totodată asigura rol antiseptic grefei;
- Materialele compozite pe bază de colagen, fosfați de calciu și zinc **caracterizate prin aceea că** duce la menținerea unui nivel mai ridicat de  $Zn^{2+}$  la nivelul osului și implicit o vindecare asistată, mai rapidă, de asemenea intervine în homeostasia  $Zn^{2+}$  în organism;
- Tehnologia de obținere a grefelor osoase compozite, osteoconductive și osteoinductive, cu potențiale aplicații în regenerarea rapidă a fracturilor și defectelor osoase **caracterizată prin aceea că** materialul composit propus are la bază componentele naturale existente în os (colagen și hidroxiapatită - carbonatata sau nu) precum și precursori ai acestora;
- Tehnologia de obținere grefelor compozite pe bază de colagen, fosfați de calciu și zinc **caracterizată prin aceea că** procedeul permite obținerea a trei tipuri de materiale: COL/HA-ZnO; COL/Ca<sub>5-x</sub>Zn<sub>x</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>OH și COL/Ca<sub>5-x</sub>Zn<sub>x</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>OH-ZnO
- Tehnologia de obținere grefelor compozite pe bază de colagen, fosfați de calciu și zinc **caracterizată prin aceea că** procedeul permite obținerea unor grefe variate, cu porozitate predefinită sub variate forme geluri, matrici sau pulberi.

**Figuri**



**Figura 1.** Schema de obținere a materialelor compozite utilizate pentru obținerea unor grefe osoase osteoinductive și osteoconductive