



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2013 00240**

(22) Data de depozit: **20/03/2013**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/05/2019** BOPI nr. **5/2019**

(41) Data publicării cererii:
30/10/2014 BOPI nr. **10/2014**

(73) Titular:
• **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;**

• **ALBU MĂDĂLINA GEORGIANA,
BD. TINERETULUI NR. 21, BL. Z6, SC. 1,
ET. 7, AP. 48, SECTOR 4, 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**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
WO 2012/084214 A1; US 2012/0148681 A1

(54) **MATERIALE COMPOZITE PENTRU GREFE OSOASE
OSTEOINDUCTIVE ȘI OSTEOCONDUCTIVE**



RO 129823 B1

1 Invenția se referă la o grefă osoasă osteoinductivă și osteoconductivă pe bază de
2 colagen și hidroxiapatită, precum și săruri de calciu cu biodisponibilitate avansată și colagen
3 denaturat sub formă de hidrolizat, care poate fi utilizată în stomatologie și ortopedie, în ingineria
4 tisulară osoasă.

5 În domeniu sunt cunoscuți substituenții de os care sunt materiale naturale sau sintetice,
6 unare, binare sau polinare, care pot prelua parțial sau total funcțiile osului substituit/grefat
7 (**Janicki P., Schmidmaier G., What should be the characteristics of the ideal bone graft
8 substitute Combining scaffolds with growth factors and/or stem cells, Injury
9 2011;42(SUPPL. 2):S77-S81**).

10 Materialele utilizate pentru regenerarea osoasă sunt metalice, polimerice, ceramice sau
11 compozite. Metalele sunt utilizate acolo unde sunt necesare materiale cu proprietăți mecanice
12 avansate, cum ar fi tije, șuruburi, plăcuțe etc., însă, din cauza mediului coroziv cu care intră în
13 contact după implantare, sunt susceptibile oxidării și, în consecință, necesită intervenții de
14 revizie periodice. În cazul grefelor polimerice, ceramice sau compozite, aceste intervenții sunt
15 evitate, însă în cazul oaselor cu încărcare mecanică mare nu pot asigura proprietățile
16 metalelor/aliajelor, drept pentru care nu s-a putut renunța la materialele metalice din prima
17 generație de biomateriale.

18 Pe lângă materialele consacrate și aplicate cu succes există un număr mare de
19 materiale compozite în diverse faze, unele dintre ele obținând recent toate aprobările în vederea
20 folosirii în scopuri medicale.

21 Brevetul **WO 2012/084214 (A1)** descrie metoda pentru producerea unui material pentru
22 substituent poros osos, din fosfat de calciu și hidroxiapatită nanocristalină, impregnate cu fibre
23 de colagen. Spre deosebire de invenția noastră, acest material nu conține hidrolizat de colagen
24 care conferă funcția de osteointegrare mai rapidă.

25 Alt biomaterial compozit a fost prezentat în brevetul **US 2012/148681 (A1)** - scaffold
26 peptidic conținând cel puțin o peptidă sau combinații de peptide cu rol terapeutic pentru stimula-
27 rea și promovarea activității osteogenice și osteoconductive pentru celule. Acest material,
28 comparativ cu materialul compozit prezentat în această invenție, are dezavantajul că nu conține
29 colagen fibrilar tip I, care dă rezistența mecanică suportului.

30 În brevetul **CN 102416200 (A)** sunt prezentate microsfele de fosfat de calciu sintetizate
31 în prezență de bio-macromolecule de colagen. Alte compozite similare au fost descrise în
32 **US 2011276147 (A1)** - substituent de os obținut prin deshidratare având în compoziție colagen
33 fibrilar, hidroxiapatită și fosfat de calciu, și în **WO 2011018057 (A2)** - compozit din colagen
34 atelopectidic și hidroxiapatită. Brevetele descrise mai sus au avantajul de a avea o structură și
35 o compoziție cât mai apropiate de osul natural, dar, în comparație cu prezenta invenție, nu au
36 capacitatea de a conferi osteoinductivitate și osteoconductivitate în contact cu țesutul.

37 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în realizarea unei grefe osoase
38 osteoinductive și osteoconductive, pe bază de colagen și hidroxiapatită, precum și săruri de
39 calciu cu biodisponibilitate avansată și colagen denaturat sub formă de hidrolizat, care poate
40 fi utilizată cu succes în ingineria tisulară osoasă.

41 Materialele compozite pentru grefă osoasă, conform invenției, înlătură dezavantajele de
42 mai sus prin aceea că sunt constituite din:

43 - 10...30% în greutate colagen fibrilar de tip I, obținut din derma pielii de vițel, sub formă
44 de gel, cu o structură nativă triplu helicoidală, având un conținut de 0,5...3,0% colagen
45 substanță uscată;

- 25...80% în greutate hidroxiapatită;

- 1...30% în greutate hidrolizat de colagen și

- 0,03...10% în greutate gluconat de calciu.

RO 129823 B1

Prin aplicarea invenției se obțin următoarele avantaje în raport cu stadiul tehnicii: 1

- realizarea unei grefe osoase cu o compoziție foarte apropiată de cea a osului uman; 2
- grefa osoasă are proprietăți performante datorită activității osteoinductive și osteoconductive; 3
- materialul compozit propus conține precursori ai colagenului (însemnând colagen denaturat), care pot fi ușor asimilați de organism și transformați în colagen, inducând astfel o osteointegrare mai rapidă. 5 7

Obținerea materialelor compozite COL(-HC)/HA(-Ca²⁺) este prezentată în fig. 1. Se poate constata că metoda este deosebit de versatilă, putându-se obține o varietate de materiale compozite, de la materialele COL/HA simple (când cantitatea de HC dozat este 0%), atât prin ruta A - mineralizare (reacția este condusă stoichiometric), cât și prin ruta B - prin adăugarea directă a cantității dorite de HA pur la materiale compozite cu osteointegrare îmbunătățită de tip COL-HC/HA-Ca²⁺, cu conținut variabil de HC și săruri de calciu cu biodisponibilitate mărită. 9 11 13

În toate cazurile, osteoinductivitatea este dată de natura componentelor, atât colagenul, cât și hidroxiapatita fiind osteoinductive (**Barradas AMC, Yuan H, Blitterswijk CA, Habibovic P. Osteoinductive biomaterials: current knowledge of properties, experimental models and biological mechanisms. European Cells and Materials 2011;21:407-429**). 15 17

Oricare dintre materialele compozite prezentate în continuare pot conține diverse componente celulare sau acelulare pentru îmbunătățirea anumitor proprietăți, cum ar fi: celule STEM, celule osoase, factori de creștere (**Janicki P., Schmidmaier G., What should be the characteristics of the ideal bone graft substitute Combining scaffolds with growth factors and/or stem cells, Injury 2011;42(SUPPL. 2):S77-S81**), celule osoase morfogenice (**Lee M., Li W., Siu R.K., Whang J., Zhang X., Soo C., et al., Biomimetic apatite-coated alginate/chitosan microparticles as osteogenic protein carriers. Biomaterials 2009;30(30):6094-6101**), vitamine, ioni etc. Materialele pe bază de colagen și hidroxiapatită sunt și osteoconductive (**Kikuchi M., Matsumoto H.N., Yamada T., Koyama Y., Takakuda K., Tanaka J., Glutaraldehyde cross-linked hydroxyapatite/collagen self-organized nanocomposites. Biomaterials 2004;25(I):63-69**), osteoconductivitatea putând fi îmbunătățită prin modelarea porozității și dimensiunii porilor prin procesare adecvată (**Chang B.S., Lee K.K., Hong K.S., Youn H.J., Ryu H.S., Chung S.S., et al. Osteoconduction at porous hydroxyapatite with various pore configurations. Biomaterials 2000;21(12):1291-1298**). 19 21 23 25 27 29 31

Colagenul (COL) este proteina de bază din organismul uman și animal, fiind unul dintre polimerii naturali cei mai utilizați ca biomateriale cu aplicații medicale. Conformația moleculară de triplu helix și existența hidroxiprolinei în structura sa deosebesc colagenul de celelalte proteine. În această invenție este utilizat gelul de colagen fibrilar tip I, obținut din piele bovină, având o concentrație de colagen de 0,5...3,0%. 33 35

Hidroxiapatita este componentul anorganic principal al osului, și este recunoscută ca material de umplură pentru oase, datorită osteoconductivității și biocompatibilității, fiind utilizată în aplicații biomedicale. Hidroxiapatita utilizată în această invenție este obținută *in situ* pornind de la lactat sau gluconat de calciu de granulație milimetrică, în prezență de fosfat disodic. 37 39 41

Hidrolizatul de colagen (HC) este obținut prin hidroliza chimică sau enzimatică a colagenului, și reprezintă o sursă importantă de peptide și aminoacizi, fiind un agent terapeutic în sistemul matriceal osos. Hidrolizatul de colagen utilizat în prezenta invenție are un conținut de azot aminic de 16...17% și masa moleculară de 5000...15000 Da. Gluconatul de calciu și lactatul de calciu sunt reactivi de puritate >98% și granulație medie <1 mm. 43 45

RO 129823 B1

1 În continuare se prezintă 4 exemple de realizare a invenției în conformitate cu figurile
ce reprezintă:

3 - fig. 1, schema de obținere a materialelor compozite utilizate pentru obținerea unor
grefe osoase osteoinductive și osteoconductive;

5 - fig. 2, imagini SEM caracteristice materialelor compozite COL/HA-Ca²⁺: A. provenite
de la gluconat; B. provenite de la lactat de calciu;

7 - fig. 3, mecanismul de formare a structurilor eterogene.

Exemplul 1. COL/HA

9 Aceste materiale compozite pot fi obținute atât prin mineralizare (indiferent de forma de
prezentare a colagenului: gel, matrice, fibre - ruta A), cât și prin amestecare directă a
11 colagenului și a HA (în special în cazul gelului de colagen, ruta B). Conținutul de HA poate varia
în limite largi, de la 0 la 100% HA, însă uzual se recomandă în raport COL:HA similar osului
13 substituit, adică 2:6-2:8. În acest caz nu are loc adăugarea de HC, ceea ce se materializează
într-o osteoinductivitate moderată (indusă doar de prezența colagenului și hidroxiapatitei). În
15 acest caz osteoconducția este moderată datorită lipsei unor factori care să favorizeze
osteosinteza. Acest tip de material poate fi considerat martor.

Exemplul 2. COL-HC/HA

17 Aceste materiale compozite implică adăugarea/dozarea hidrolizatului de colagen.
19 Conținutul de hidrolizat raportat la colagen poate varia de la 0 la 100%, și în acest caz
materialele compozite COL-HC/HA pot fi obținute prin mineralizarea amestecului de polimeri
21 (ruta A) sau prin adăugarea cantității de HA dorite (ruta B). Prezența hidrolizatului de colagen
induce o mai bună osteoconductivitate deoarece prezența unor aminoacizi esențiali sau
23 fragmente de colagen (peptide) va asista la formarea matricei de colagen caracteristică
organismului gazdă, odată ce a avut loc invadarea cu celule osoase primare a interfeței și a
25 grefei. Mineralizarea ulterioară a colagenului format va avea loc conform mecanismelor
naturale.

Exemplul 3. COLL/HA-Ca²⁺

27 În cazul în care se dorește obținerea unui material cu osteointegrare îmbunătățită, se
29 va recurge la utilizarea unor precursori de Ca cu biodisponibilitate mai bună (spre exemplu, se
recomandă gluconat sau lactat de calciu). În acest caz, în scopul menținerii unui anumit nivel
31 de Ca biodisponibil la interfața implant/os se va doza precursorul de Ca în exces. În cazul în
care se lucrează cu lactat sau gluconat de Ca, solubilitatea moderată va permite o încapsulare
33 de lactat sau gluconat de calciu în matricea de material compozit COL/HA. Osteoconductivitatea
îmbunătățită va avea loc ca urmare a creșterii concentrației de calciu biodisponibil și, implicit,
35 viteza de mineralizare crește ca urmare a creșterii conținutului de ioni de calciu. Prezența
calciului sub formă anorganică îl face mai greu de asimilat și, implicit, materialul prezintă o
37 osteoconductivitate mai mică. Porozitatea avansată (fig. 2) duce, de asemenea, la creșterea
osteointegrării deoarece invadarea cu celule osteoprogenitoare are loc mai rapid. În acest caz,
39 osteointegrarea se preconizează a fi mai rapidă decât în cazul compozitelor COLL/HA simple.

Exemplul 4. COLL-HC/HA-Ca²⁺

41 Această categorie de materiale compozite prezintă cea mai bună osteointegrare
deoarece osteoinductivitatea este dedublată de o osteoconductivitate îmbunătățită de prezența
43 hidrolizatului de colagen și a calciului ionic ușor asimilabil. Datorită osteoconductivității crescute,
aceste materiale se vor osteointegra cel mai rapid, comparativ cu exemplele prezentate
45 anterior.

RO 129823 B1

Revendicare

1

Materiale compozite pentru grefă osoasă de tip COL-HC/HA, COL/HA-Ca²⁺, COL-HC/HA-Ca²⁺, **caracterizate prin aceea că** sunt constituite din: 3

- 10...30% în greutate colagen fibrilar de tip I, obținut din derma pielii de vițel, sub formă de gel, cu o structură nativă triplu helicoidală, având un conținut de 0,5...3,0% colagen substanță uscată; 5 7

- 25...80% în greutate hidroxiapatită;

- 1...30% în greutate hidrolizat de colagen și 9

- 0,03...10% în greutate gluconat de calciu,

asigurând o osteointegrare rapidă a umpluturilor/grefelor utilizate în vindecarea fracturilor și defectelor osoase. 11

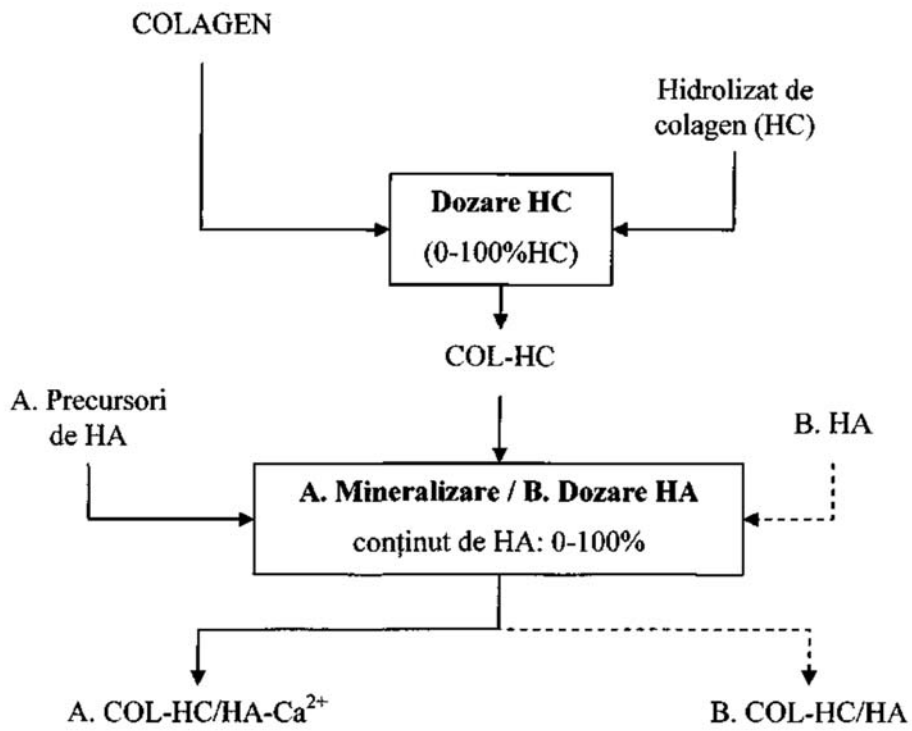


Fig. 1

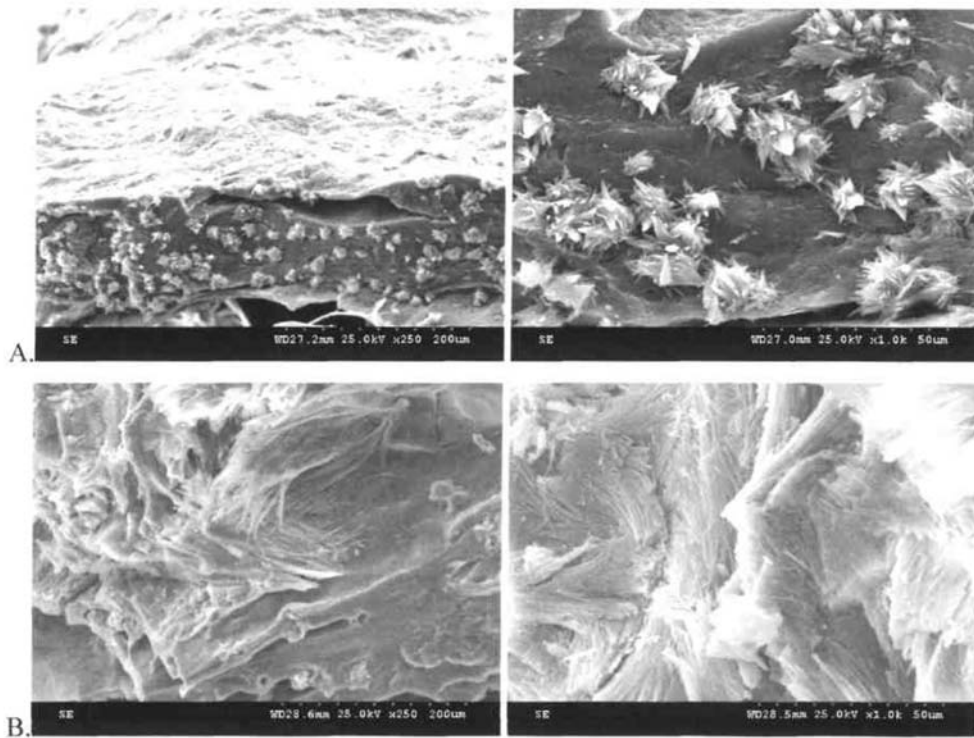


Fig. 2

