



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2015 00241**

(22) Data de depozit: **02/04/2015**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/05/2018** BOPI nr. **5/2018**

(41) Data publicării cererii:
28/10/2016 BOPI nr. **10/2016**

(73) Titular:
• UNIVERSITATEA TEHNICĂ
"GHEORGHE ASACHI" DIN IAȘI,
BD. PROF. DIMITRIE MANGERON NR.67,
IAȘI, IS, RO

(72) Inventatori:
• CIOBANU MARGARETA-GABRIELA,
STR. ANASTASIE PANU NR. 32,
BL. A. PANU 2A, TR.5, ET. 5, AP. 16, IAȘI,
IS, RO;

• MATEIUC ANA-MARIA,
STR. INDEPENDENȚEI NR. 5, SC. D, ET. 4,
AP. 9, BOTOȘANI, BT, RO;
• LUCA CONSTANTIN,
STR.G-RAL.BERTHELOT NR. 4, IAȘI, IS,
RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:
ANA MARIA BARGAN, "CERCETĂRI
PRIVIND OBȚINEREA, CARACTERIZAREA
ȘI APLICAȚIILE UNOR BIOMATERIALE
APATICE SUBSTITUITE", TEZA DE
DOCTORAT, UNIVERSITATEA
GHEORGHE ASACHI, IAȘI, 2014;
WO 2014/016707 A2

(54) **PROCEDEU DE OBȚINERE A UNOR BIOMATERIALE
NANOSTRUCTURATE RADIOOPACE,
DE TIP HIDROXIAPATITĂ SUBSTITUITĂ CU BISMUT,
PENTRU APLICAȚII MEDICALE**



RO 131431 B1

1 Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor biomateriale, de tip hidroxiapatită
2 substituită cu bismut în diverse proporții, sub formă de pulberi nanostructurate, apte de a fi
3 folosite ca substituenți osoși în tratamentele medicale ale defectelor osoase din
4 stomatologie și ortopedie.

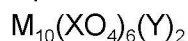
5 Sunt cunoscute, din cererea de brevet **WO 2014/016707 A2**, materiale compozit care
6 sunt utilizate ca substituenți osoși în tratamente medicale în chirurgia osoasă reparatorie
7 din stomatologie și ortopedie, care au în compoziție ciment biomaterial și un agent de
8 îmbunătățire a radioopacității, injectabil *in vivo* sub formă de bromură sau iodură de stronțiu.

9 Cercetările în domeniul științei și ingineriei biomaterialelor s-au extins foarte mult în
10 ultimele decenii. Aceasta pentru că, pe de o parte, medicina este în continuă căutare de
11 soluții, în vederea remedierii numeroaselor probleme de sănătate, iar pe de altă parte,
12 anumite clase de biomateriale și-au dovedit deja utilitatea în ameliorarea sau chiar
13 vindecarea anumitor suferințe ale omului. Interesul pentru utilizarea biomaterialelor a crescut
14 considerabil ca urmare a înțelegerii potențialului lor terapeutic și a progreselor înregistrate
15 în strategiile de formulare și în tehnologiile de fabricație. Biomaterialele joacă un rol foarte
16 important în dezvoltarea de noi proceduri și dispozitive medicale, respectiv realizarea de
17 implanturi ortopedice și dentare, sisteme de refacere sau înlocuire a țesuturilor vii, sisteme
18 controlate de administrare a medicamentelor și tehnici de diagnostic (**X. Zhao, J. M.
19 Courtney, H. Qian, "Bioactive materials in medicine: design and applications", X.
20 Zhao, J.M. Courtney, H. Qian (eds.), Woodhead Publishing Series in Biomaterials,
21 Cambridge, UK, 2011**).

22 Medicina regenerativă și recuperatorie este un domeniu în plină afirmare, ea fiind
23 reprezentanta tehnicilor de vârf din biotehnologie care vizează refacerea sau înlocuirea
24 părților lipsă din țesuturi sau reconstruirea organelor deteriorate și reechilibrarea lor
25 funcțională. Regenerarea osoasă se ocupă cu substituirea țesuturilor osoase distruse cu un
26 nou țesut. Bolile osoase reflectă o stare de sănătate gravă, cu impact direct asupra calității
27 vieții suferințelor, în special în rândul persoanelor vârstnice. În majoritatea cazurilor,
28 tratamentul defectelor osoase necesită o grefă osoasă. Astfel, odată cu creșterea speranței
29 de viață și bunăstarea omului, dezvoltarea de substituenți osoși capabili de a restabili
30 funcționalitatea întregului țesut original este un imperativ de o importanță crescândă în
31 ultimul timp.

32 Cercetările privind dezvoltarea unor noi biomateriale cu rol de substituenți osoși
33 sunt prioritare în prezent, una dintre principalele direcții de cercetare din acest domeniu
34 construindu-se în jurul bioceramelor din categoria cărora fac parte fosfații de calciu (**S. V.
35 Dorozhkin, "Calcium orthophosphates", J. Mater. Sci., 42 (2007) 1061-1095**).

36 Există o varietate destul de mare de compuși din familia fosfaților de calciu, dintre
37 aceștia distingându-se materialele apatitice. În termeni generali, apatitele reprezintă un grup
38 important de compuși cu structuri asemănătoare și cu o compoziție chimică ce poate fi
39 descrisă prin următoarea formulă generală:



40 unde: M = cation cu valență între 1...3 (Ca^{2+} , Pb^{2+} , Ba^{2+} , K^+ , Na^+ , Al^{3+} , etc.);

41 X = element cu valență între 3...7 (P^{5+} , V^{5+} , As^{5+} , Si^{4+} , C^{4+} , S^{6+} , B^{3+} , etc.);

42 XO_4 = anion-oxianion (PO_4^{3-} , VO_4^{3-} , SiO_4^{4-} , etc.);

43 Y = anion cu valență între 1...3 sau moleculă neutră (OH^- , F^- , Cl^- , CO_3^{2-} , H_2O).

44 Dintre toate formele de apatită, din punct de vedere medical, cea care prezintă o
45 mare importanță este hidroxiapatita (sau hidroxilapatita), $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. Ea poate fi sub
46 formă naturală (hidroxiapatita biologică) sau se poate sintetiza (hidroxiapatita sintetică) prin
47 diverse metode.

RO 131431 B1

Este cunoscut faptul că hidroxiapatita biologică este un fosfat de calciu care se întâlnește în structura minerală a osului și dintelui (în dentină și smalțul dentar), dar și în cazul unor calcifieri patologice de tipul pietrelor renale, calculi dentari, etc. (R. Z. LeGeros, *“Apatites in Biological Systems”*, *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, 4(1981) 1-45).

Hidroxiapatita sintetică este similară în compoziție și proprietăți cu hidroxiapatita ce intră în faza minerală a oaselor și a dinților. Aceste asemănări au dus la un mare interes în dezvoltarea de materiale apatitice pentru aplicații biomedicale. Cea mai importantă proprietate a hidroxiapatitei ca biomaterial este excelenta sa biocompatibilitate care se manifestă în realizarea de legături directe cu țesutul osos viu. Hidroxiapatita nu este doar bioactivă, ci și osteoconductivă și netoxică (J. O. Hollinger, G. C. Battistone, *“Biodegradable bone repair materials”*, *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 207 (1986) 290-305). Hidroxiapatita este utilizată pentru aplicații ortopedice, dentare și maxilofaciale, fie ca material de acoperire pentru implanturile metalice, fie ca material de umplere osoasă.

Hidroxiapatita sintetică se poate obține sub formă de pulbere prin diverse metode bazate pe reacții de precipitare, hidroliză, hidrotermale sau în fază solidă la temperaturi ridicate, prin metoda sol-gel, etc. - A. K. Nayak, *“Hydroxyapatite Synthesis Methodologies: An Overview”*, *International Journal of ChemTech Research*, 2 (2010) 903-907.

Prin sinteză poate fi obținută o gamă diversă de apatite ca aglomerări de micro- sau nanoparticule caracterizate prin proprietăți fizice, chimice și biologice interesante. Proprietățile hidroxiapatitei, incluzând bioactivitatea, biocompatibilitatea, osteoconductivitatea, solubilitatea, proprietăți mecanice și de adsorbție, etc., pot fi adaptate unei arii largi de aplicații prin controlul compoziției particulelor, a dimensiunii și morfologiei acestora.

Structura cristalină a hidroxiapatitei are o bună flexibilitate, permițând diferite substituții cu cationi sau anioni în rețeaua sa. Literatura de specialitate indică posibilitatea substituției ionilor de calciu Ca cu ioni metalici divalenți (Sr^{2+} , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Ba^{2+}), trivalenți (Cr^{3+} , Al^{3+} , Fe^{3+} , La^{3+} , Pr^{3+} , Ce^{3+} , Nd^{3+} , Sm^{3+}) și tetravalenți (Ti^{4+}), fapt ce induce modificări benefice ale unor caracteristici importante ale hidroxiapatitei, printre care cristalinitatea, solubilitatea, stabilitatea termică și mecanică, acțiunea antibacteriană, etc. - E. Boanini, M. Gazzano, A. Bigi, *“Ionic substitutions in calcium phosphates synthesized at low temperature”*, *Acta Biomaterialia*, 6 (2010) 1882/189, M. E. Fleet, X. Liu, Y. Pan, *“Rare-earth elements in chlorapatite $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2]$, uptake, site preference, and degradation of monoclinic structure”*, *American Mineralogist*, 85 (2000) 1437-1446, M. D. O'Donnell, Y. Fredholm, A. Rouffignac, R. G. Hill, *“Structural analysis of a series of strontium-substituted apatites”*, *Acta Biomaterialia*, 4 (2008) 1455-1464.

Deși prezența ionilor substituenți în structura hidroxiapatitei este în proporție mică, ei conferă apatitei proprietăți biologice și fizice specifice, astfel că rolul lor este important și determinant în sinergia osoasă.

În reconstrucția osoasă, toate defectele existente, precum fracturi, goluri, contururi improprii și alte structuri de diagnostic importante, trebuie să fie vizibile pe imaginile de raze X. Datorită radiopenetrației intrinseci sau a radioopacității slabe, substituențele osoase, în special materialele de umplere osoasă, nu pot fi detectate în mod clar de radiografie. Prin urmare, acestor materiale de umplere osoasă li se adaugă agenți de contrast radioopaci, cel

1 mai utilizat fiind sulfatul de bariu. În prezent, o serie de compuși ai bismutului (oxidul de
2 bismut și salicilatul de bismut) sunt utilizați în aplicații clinice ca materiale radioopace, dar
3 și ca agenți antibacterieni sau agenți anticancerigeni T. Kotani, D. Nagai, K. Asahi, H.
4 Suzuki, F. Yamao, N. Kataoka, T. Yagura T, "**Antibacterial properties of some cyclic**
5 **organobismuth(III) compounds, antimicrobial agents and chemotherapy**",
6 **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 49 (2005) 2729-2734.

7 Studiile privind sinteza de biomateriale apatitice substituite cu bismut și cu structuri
8 nanometrice sunt astăzi la început de drum în laboratoare de cercetare de prestigiu din
9 întreaga lume. În literatura de specialitate disponibilă există foarte puține studii privind
10 substituția cu ioni de bismut a unor fosfați de calciu, respectiv doar a fosfatului dicalcic și
11 fosfatului tetracalcic [F. Chen, C. Liu and Y. Mao, "**Bismuth-doped injectable calcium**
12 **phosphate cement with improved radiopacity and potent antimicrobial activity for root**
13 **canal filling**", **Acta Biomaterialia**, 6 (2010) 3199-3207]. În ceea ce privește substituția
14 ionilor de calciu (Ca^{2+}) cu ioni de bismut (Bi^{3+}) în rețeaua cristalină a hidroxiapatitei, pentru
15 obținerea unui biomaterial cu proprietăți antibacteriene și radioopacitate superioare, literatura
16 de specialitate nu prezintă indicații bibliografice.

17 Problema tehnică pe care își propune să o rezolve invenția este de a realiza un
18 procedeu simplu prin care se pot obține, în condiții bine determinate, biomateriale de tip
19 hidroxiapatită substituită cu bismut în diverse proporții, sub formă de pulbere nano
20 structurată, care se pot utiliza ca substituenți osoase în tratamentele medicale ale defectelor
21 osoase, respectiv în chirurgia osoasă reparatorie din stomatologie și ortopedie, biomateriale
22 cu proprietăți antibacteriene și radiopacitate superioare, mult mai mari în comparație cu
23 hidroxiapatită nesubstituită.

24 Procedeu de obținere a biomaterialelor de tip hidroxiapatită substituită cu bismut sub
25 formă de pulbere nano structurată, conform invenției, se bazează pe reacții de precipitare
26 în soluție apoasă ce conține $\text{Ca}(\text{OH})_2$, H_3PO_4 și $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ drept surse de calciu, fosfor
27 și bismut, cuprinzând următoarele etape: se amestecă o soluție apoasă ce conține
28 $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ și $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (cu raportul molar $\text{Bi}/(\text{Bi} + \text{Ca}) = 0,01 \dots 0,20$) cu o soluție apoasă
29 de H_3PO_4 astfel încât în soluția rezultată să existe un raport molar $(\text{Ca} + \text{Bi})/\text{P} = 1,67$, se
30 menține constant pH-ul la valoarea de 10,5, precipitatul rezultat este îmbătrânit la 60°C timp
31 de 24 h sub agitare continuă, apoi precipitatul se separă prin filtrare la vid, se spală cu apă
32 bidistilată, se usucă într-o etuvă la 90°C timp de 2 h și se calcinează într-un cuptor la 800°C
33 timp de 1 h, rezultând în final o pulbere galbenă formată din ansambluri de nanoparticule de
34 hidroxiapatită.

35 Folosirea $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ drept sursă de bismut ca materie primă în sinteza
36 hidroxiapatitei substituite, folosirea bismutului ca substituent al calciului în structura
37 hidroxiapatitei duce la formarea unei hidroxiapatite substituite cu bismut în proporții variabile
38 de 0,1...20% Bi (% masice) și cu formula chimică $\text{Ca}_{10-x}\text{Bi}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, unde $x \leq 2$, sub formă
39 de pulbere nanostructurată, și care are proprietăți antibacteriene și radioopacitate ridicată.

40 Avantajele aplicării procedurii conform invenției constau în faptul că nu necesită
41 aparatură și ustensile complicate, folosește energie electrică în cantități mici (doar pentru
42 procesul de agitare, uscare și calcinare), materiile prime din care se obțin aceste biomate-
43 riale sunt ușor accesibile, metodologia de obținere este simplă și necesită un timp scurt,
44 materialele formate sunt biocompatibile cu organismul uman, fiind apte pentru a fi folosite
45 ca substituenți osoși în reconstrucția osoasă. Structura poroasă a acestor pulberi are
46 avantajul că favorizează formarea țesuturilor de legătură cu osul viu. Pe lângă proprietățile
47 de biocompatibilitate și osteoconductivitate, biomaterialele de tip hidroxiapatită sub-
48 stituită cu bismut au o acțiune antimicrobiană foarte bună și o radioopacitate ridicată.

RO 131431 B1

Activitatea de inhibare antibacteriană împotriva bacteriilor <i>Escherichia coli</i> și <i>Staphylococcus aureus</i> crește odată cu concentrația de bismut în hidroxiapatita substituită. De asemenea, radioopacitatea crește cu concentrația de bismut în hidroxiapatita substituită.	1 3
Se redă, în continuare, un exemplu de aplicare a invenției.	
Exemplu	5
a) Obținerea hidroxiapatitei substituite cu bismut:	
100 ml soluție apoasă ce conține $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ și $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (cu raportul molar $\text{Bi}/(\text{Bi} + \text{Ca}) = 0,01 \dots 0,20$) se amestecă cu 100 ml soluție apoasă de H_3PO_4 0,1 M, astfel încât în soluția rezultată să existe raportul molar $(\text{Ca} + \text{Bi})/\text{P} = 1,67$; se menține constant pH-ul la valoarea de 10,5 cu NaOH 1 M, precipitatul rezultat este îmbătrânit la 60°C timp de 24 h sub agitare continuă, apoi precipitatul se separă prin filtrare la vid, se spală cu apă bidistilată, se usucă într-o etuvă la 90°C timp de 2 h și se calcinează într-un cuptor la 800°C timp de 1 h, rezultând în final o pulbere nanometrică.	7 9 11 13
Rezultă în final, conform exemplului de preparare, un biomaterial nanostructurat de tip hidroxiapatită substituită cu bismut în diferite proporții, cu următoarele caracteristici obținute conform invenției:	15
- compoziția chimică: $\text{Ca}_{10-x}\text{Bi}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, unde $x \leq 2$;	17
- grad de substituție $\text{Ca}_{2+} \leftrightarrow \text{Bi}^{3+}$: 0,1...20% (% masice);	
- pulbere galbenă, intensitatea culorii crescând cu creșterea concentrației de bismut în hidroxiapatită substituită;	19
- pulbere cristalină, cu sistemul de cristalizare hexagonal;	21
- granulație: 35...60 nm;	
- porozitatea: 40...55%;	23
- dimensiunea porilor: 1,2...2,2 nm;	
- materialul manifestă o activitate de inhibare antibacteriană împotriva bacteriilor <i>Escherichia coli</i> și <i>Staphylococcus aureus</i> , inhibarea antibacteriană crescând odată cu concentrația de bismut în hidroxiapatita substituită;	25 27
- materialul este radioopac, radioopacitatea crescând odată cu concentrația de bismut în hidroxiapatita substituită.	29

RO 131431 B1

1

Revendicare

3

Procedeu de obținere a unor biomateriale nanostructurate radioopace, de tip hidroxiapatită substituită cu bismut în diferite proporții, **caracterizat prin aceea că** se amestecă 100 ml soluție apoasă ce conține $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ și $\text{Ca}(\text{OH})_2$, cu raportul molar $\text{Bi}/(\text{Bi} + \text{Ca}) = 0,01 \dots 0,20$, cu 100 ml soluție apoasă de H_3PO_4 0,1 M, astfel încât în soluția rezultată să existe raportul molar $(\text{Ca} + \text{Bi})/\text{P} = 1,67$, menținându-se constant pH-ul la valoarea de 10,5 cu NaOH 1 M, precipitatul rezultat este îmbătrânit la 60°C timp de 24 h sub agitare continuă, apoi precipitatul se separă prin filtrare la vid, se spală cu apă bidistilată, se usucă într-o etuvă la 90°C timp de 2 h și se calcinează într-un cuptor la 800°C timp de 1 h, rezultând în final o pulbere nanometrică sub formă de biomateriale nanostructurate radioopace, radioopacitatea crescând odată cu concentrația de bismut în hidroxiapatita substituită.

5

7

9

11



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 231/2018