



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2015 00241

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

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

(71) Solicitant:
• UNIVERSITATEA TEHNICĂ "GHEORGHE
ASACHI" DIN IAȘI,
BD.PROF.D.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

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

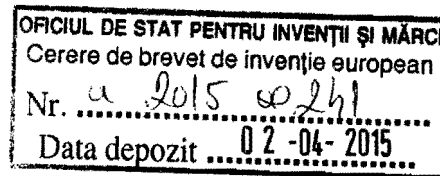
(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor biomateriale nanostructurate, de tip hidroxiapatită substituită cu bismut, pentru aplicații medicale. Procedeu conform invenției constă în amestecarea unei soluții apoase de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$ și $\text{Ca}(\text{OH})_2$ cu o soluție apoasă de H_3PO_4 , astfel încât în soluția rezultată să existe un raport molar $(\text{Ca}+\text{Bi})/\text{P}$ de 1,67, se menține pH constant la 10,5, precipitatul rezultat este îmbătrânit

la 60°C timp de 24 h, sub agitare continuă, apoi se separă sub vid, se spală, se usucă și se calcinează la 800°C, timp de 1 h, din care rezultă o pulbere cristalină, de culoare galbenă, cu o porozitate de 40...50% și o dimensiune a porilor de 1,2...2,2 nm.

Revendicări: 4





PROCEDEU DE OBTINERE A UNOR BIOMATERIALE NANOSTRUCTURATE DE TIP HIDROXIAPATITĂ SUBSTITUITĂ CU BISMUT PENTRU APLICAȚII MEDICALE

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

Cercetările în domeniul științei și ingineriei biomaterialelor s-au extins foarte mult în ultimele decenii. Aceasta pentru că, pe de o parte, medicina este în continuă căutare de soluții în vederea remedierii numeroaselor probleme de sănătate, iar pe de altă parte, anumite clase de biomateriale și-au dovedit deja utilitatea în ameliorarea sau chiar vindecarea anumitor suferințe ale omului. Interesul pentru utilizarea biomaterialelor a crescut considerabil ca urmare a înțelegerii potențialului lor terapeutic și a progreselor înregistrate în strategiile de formulare și tehnologiile de fabricație. Biomaterialele joacă un rol foarte important în dezvoltarea de noi proceduri și dispozitive medicale, respectiv realizarea de implanturi ortopedice și dentare, sisteme de refacere sau înlocuire a țesuturilor vii, sisteme controlate de administrare a medicamentelor și tehnici de diagnostic [1].

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

Cercetările privind dezvoltarea unor noi biomateriale cu rol de substituenți osoase sunt prioritare în prezent, una dintre principalele direcții de cercetare din acest domeniu construindu-se în jurul bioceramelor din categoria cărora fac parte fosfații de calciu [2]. Există o varietate destul de mare de compuși din familia fosfaților de calciu, dintre aceștia

distingându-se materialele apatitice. În termeni generali, apatitele reprezintă un grup important de compuși cu structuri asemănătoare și cu o compoziție chimică ce poate fi descrisă prin următoarea formulă generală:



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

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

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

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

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

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. [3].

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 excelența sa biocompatibilitate care se manifestă în realizarea de legături directe cu țesutul osos viu. Hidroxiapatita nu este doar bioactivă ci și osteoconductivă și netoxică [4]. 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. [5]. Prin sinteză poate fi obținută o gamă diversă de apatite ca aglomerări de micro- sau nanoparticule caracterizate prin interesante proprietăți fizice, chimice și biologice. Proprietățile hidroxiapatitei incluzând bioactivitatea, biocompatibilitatea, osteoconducitivitatea, 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^{2+} 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. [6-8]. 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 radiopetrației 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 mai utilizat fiind sulfatul de bariu. În prezent, o serie de compuși ai bismutului (oxidul de bismut și salicilatul de bismut) sunt utilizați în aplicații clinice ca materiale radioopace, dar și ca agenți antibacterieni sau agenți anticancerigeni [9].

Studiile privind sinteza de biomateriale apatitice substituie cu bismut și cu structuri nanometrice sunt astăzi la început de drum în laboratoare de cercetare de prestigiu din

întreaga lume. În literatura de specialitate disponibilă, există foarte puține studii privind substituția cu ioni de bismut a unor fosfați de calciu, respectiv doar a fosfatului dicalcic și fosfatului tetracalcic [10]. În ceea ce privește substituția ionilor de calciu (Ca^{2+}) cu ioni de bismut (Bi^{3+}) în rețeaua cristalină a hidroxiapatitei, pentru obținerea unui biomaterial cu proprietăți antibacteriene și radioopacitate superioare, literatura de specialitate nu prezintă indicații bibliografice.

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

Procedeele de obținere a biomaterialelor de tip hidroxiapatită substituită cu bismut sub formă de pulbere nanostructurată, conform invenției, se bazează pe reacții de precipitare 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 și bismut, cuprinzând următoarele etape: se amestecă o 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 o soluție apoasă de H_3PO_4 astfel încât în soluția rezultată să existe un raport molar $(\text{Ca}+\text{Bi})/\text{P} = 1,67$, se menține constant pH-ul la valoarea de 10,5, precipitatul rezultat este îmbătrânit la 60°C timp de 24 ore 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 ore și se calcinează într-un cuptor la 800°C timp de 1 oră, rezultând în final o pulbere galbenă formată din ansamble de nanoparticule de hidroxiapatită.

Noutatea acestei invenții constă în folosirea $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ drept sursă de bismut ca materie primă în sinteza hidroxiapatitei substituite. Noutatea folosirii bismutului ca substituent al calciului în structura hidroxiapatitei duce la formarea unei hidroxiapatite substituite cu bismut în proporții variabile 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 de pulbere nanostructurată și care are proprietăți antibacteriene și radioopacitate ridicată.

Avantajele aplicării procedeeului conform invenției constau în faptul că nu necesită aparatură și ustensile complicate, folosește energie electrică în cantități mici (doar pentru procesul de agitare, uscare și calcinare), materiile prime din care se obțin aceste biomateriale sunt ușor accesibile, metodologia de obținere este simplă și necesită un timp scurt, materialele formate sunt biocompatibile cu organismul uman, fiind apte pentru a fi folosite ca substituenți osoși în reconstrucția osoasă. Structura poroasă a acestor pulberi are avantajul că favorizează formarea țesuturilor de legătură cu osul viu. Pe lângă proprietățile de biocompatibilitate și osteoconductivitate, biomaterialele de tip hidroxiapatită substituită cu bismut au o acțiune antimicrobiană foarte bună și o radioopacitate ridicată. Activitatea de inhibare antibacteriană împotriva bacteriilor *Escherichia coli* și *Staphylococcus aureus* crește odată cu creșterea concentrației de bismut în hidroxiapatita substituită. De asemenea, radioopacitatea crește cu creșterea concentrației de bismut în hidroxiapatita substituită.

Se redă în continuare un exemplu de aplicare a invenției.

Exemplu:

a) Obținerea hidroxiapatitei substituită 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 ore 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 ore și se calcinează într-un cuptor la 800 °C timp de 1 oră, rezultând în final o pulbere nanometrică.

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:

- compoziția chimică: $\text{Ca}_{10-x}\text{Bi}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ unde $x \leq 2$;
- 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 hidroxiapatita substituită;
- pulbere cristalină, cu sistemul de cristalizare hexagonal;
- granulație: 35 - 60 nm;
- porozitatea: 40 - 55 %;
- dimensiunea porilor: 1,2 - 2,2 nm;
- materialul manifestă o activitate de inhibare antibacteriană împotriva bacteriilor *Escherichia coli* și *Staphylococcus aureus*, inhibarea antibacteriană crescând odată cu creșterea concentrației de bismut în hidroxiapatita substituită;
- materialul este radioopac, radioopacitatea crescând odată cu creșterea concentrației de bismut în hidroxiapatita substituită.

REVENDICĂRI

1. Procedeu de obținere a unor biomateriale nanostructurate de tip hidroxiapatită substituită cu bismut în diferite proporții, **caracterizat prin aceea că** 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 ore 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 ore și se calcinează într-un cuptor la 800 °C timp de 1 oră, rezultând în final o pulbere nanometrică.
2. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** biomateriale nanostructurate de tip hidroxiapatită substituită cu bismut în diferite proporții obținute au compoziția chimică: $\text{Ca}_{10-x}\text{Bi}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ unde $x \leq 2$, cu un grad de substituție $\text{Ca}^{2+} \leftrightarrow \text{Bi}^{3+}$ de 0,1...20 % (% masice), sunt sub formă de pulbere cristalină cu sistemul de cristalizare hexagonal, pulberea este galbenă, intensitatea culorii crescând cu creșterea concentrației de bismut în hidroxiapatita substituită, pulberea este formată din ansambluri de nanoparticule cu o granulație de 35 și 60 nm, porozitatea de 40 - 55 % și dimensiunea porilor de 1,2 - 2,2 nm.
3. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** biomateriale nanostructurate de tip hidroxiapatită substituită cu bismut în diferite proporții obținute manifestă o activitate de inhibare antibacteriană împotriva bacteriilor *Escherichia coli* și *Staphylococcus aureus* ce crește odată cu creșterea concentrației de bismut în hidroxiapatita substituită.
4. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** biomateriale nanostructurate de tip hidroxiapatită substituită cu bismut în diferite proporții obținute sunt radioopace, radioopacitatea crescând odată cu creșterea concentrației de bismut în hidroxiapatita substituită.