



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2017 00001**

(22) Data de depozit: **04/01/2017**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/10/2019** BOPI nr. **10/2019**

(41) Data publicării cererii:
30/06/2017 BOPI nr. **6/2017**

(73) Titular:

- **MICULESCU FLORIN**,
ALEEA MASA TĂCERII NR. 2, BL. A, SC. 2,
ET. 3, AP. 55, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;
- **MAIDANIUC ANDREEA**, CALEA PLEVNEI
NR. 15, PARTER, AP. 9, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;
- **COSTOIU MIHNEA COSMIN**,
STR. COMANDOR EUGEN BOTEZ NR. 21,
SC. 2, ET. 1, AP. 2, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, RO;
- **SEMENESCU AUGUSTIN**,
ȘOS. BUCUREȘTI- TÂRGOVIȘTE
NR. 22 T, A 14, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B,
RO;
- **MICULESCU MARIAN**, STR. HOTARULUI
NR. 12D, CLINCENI, IF, RO;
- **IONIȚĂ-RADU FLORENTINA**,
CALEA 13 SEPTEMBRIE NR. 120,
BL. 60-62, SC. B, ET. 1, AP. 28, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO;
- **ARGHIRESCU MARIUS**, STR. MOȚOC
NR. 4, BL. P 56, SC. 1, ET. 8, AP. 164,
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

- **MICULESCU FLORIN**,
ALEEA MASA TĂCERII BL. A, SC. 2, ET. 3,
AP. 55, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
- **MAIDANIUC ANDREEA**, CALEA PLEVNEI
NR. 15, PARTER, AP. 9, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;
- **COSTOIU MIHNEA COSMIN**,
STR. COMANDOR EUGEN BOTEZ NR. 21,
SC. 2, ET. 1, AP. 2, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, RO;
- **SEMENESCU AUGUSTIN**,
ȘOS. BUCUREȘTI-TÂRGOVIȘTE NR. 22T,
A14, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
- **MICULESCU MARIAN**, STR. HOTARULUI
NR. 12D, CLINCENI, IF, RO;
- **IONIȚĂ-RADU FLORENTINA**,
CALEA 13 SEPTEMBRIE NR. 120,
BL. 60-62, SC. B, ET. 1, AP. 28, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO;
- **ARGHIRESCU MARIUS**, STR. MOȚOC
NR. 4, BL. P 56, SC. 1, ET. 8, AP. 164,
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:

- WO 2012/052035 A1; US 4960426;**
- US 2015/0098875 A1**

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A UNUI PRODUS TIP SCAFFOLD
PE BAZĂ DE HIDROXIAPATITĂ, PENTRU RECONSTRUCȚIA
DEFECTELOR OSOASE**



RO 131943 B1

1 Inventția se referă la un procedeu de obținere a unui produs tip scaffold pe bază de
hidroxiapatită, pentru reconstrucția osoasă a defectelor osoase majore, ale cărui proprietăți
3 fizico-chimice sunt predeterminate prin controlul unor parametri fazici.

5 Un substituent ideal al țesutului osos trebuie să respecte structura și funcțiile țesutului
natural. De asemenea, acesta trebuie să fie biocompatibil, disponibil într-o gamă largă de
7 forme și dimensiuni, să prezinte proprietăți osteoinductive și osteoconductive, și să fie
biodegradabil. Materialul de substituție trebuie să aibă o compoziție chimică asemănătoare
9 cu a osului original (din acest motiv prezența ortofosfaților de calciu în material este
recomandată [1]), o porozitate care să permită vascularizarea și creșterea de țesut nou, și
11 proprietăți mecanice adecvate, care să asigure rezistența mecanică împreună cu țesutul aflat
în plin proces de regenerare. Procesul de degradare al unui material ideal de substituție
13 osoasă trebuie să depindă de viteza de regenerare a țesutului înlocuit, iar substanțele
eliberate în urma degradării trebuie să poată fi metabolizate de organismul uman fără efecte
15 secundare. În final, se impun rezistența la sterilizare, ușurința depozitării și posibilitatea de
procesare la costuri reduse [2].

17 Fosfații de calciu bifazici au fost dezvoltați ca rezultat al eforturilor de proiectare a
unor grefe osoase sintetice cu viteză de resorbție adaptată. Resorbția și bioactivitatea
fosfaților de calciu bifazici poate fi controlată prin variația compoziției fazice și a cristalinității
19 materialelor ceramice. Mai mult (deși inițial era asociat în principal cu factorii de creștere
adăugați în scaffoldurile osoase), caracterul osteoinductiv al unui material de substituție
21 osoasă poate fi influențat de caracteristicile chimice sau structurale specifice. Acest fenomen
se aplică și în cazul fosfaților de calciu bifazici care, prin controlul compoziției chimice,
23 macroporozității și microporozității, au devenit capabili să promoveze osteogeneza *in vivo*,
fără adăugarea de factori de creștere [3-6].

25 O ipoteză complementară afirmă că și proprietățile mecanice ale acestor compuși pot
fi îmbunătățite ca urmare a introducerii de faze secundare într-o matrice ceramică. Evaluarea
27 comparativă a materialelor cu diferite concentrații de hidroxiapatită și fosfat tricalcic a dus
la obținerea unor rezultate diferite în ceea ce privește biocompatibilitatea. Diferențele se
29 datorează în mare parte gamei largi de precursori care pot fi utilizați în preparare, și
metodelor diferite de obținere a compușilor bifazici [7].

31 Cercetările din domeniu s-au concretizat în producția fosfaților de calciu bifazici prin
metode de sinteză chimică bazate pe reacția dintre săruri de calciu și soluții de fosfați
33 [RU 2359708/2009; RU 2546539/2015; RU 255685/2015]. Deși metodele propuse duc la
obținerea unor pulberi de dimensiuni nano- sau submicrometrice, sinteza chimică prezintă
35 riscul contaminării produsului ceramic cu reziduuri ale reacției dintre precursori.

37 Utilizarea unui precursor natural de tipul țesutului osos bovin elimină riscurile de
contaminare (cu condiția procesării termice la temperaturi mai mari de 850°C [8]), însă
39 metodele reglementate [9], respectiv, standardizate [10] utilizează substanțe toxice precum
în deproteinizarea țesutului osos. Acest aspect este soluționat de metodele bazate pe
41 deproteizare exclusiv termică (asigurată în totalitate pentru tratamente efectuate la
temperaturi mai mari de 600°C) [8].

43 Prin deproteinizarea osului bovin este obținut un material de tip hidroxiapatită
nestoichiometrică, stabil termic până la aproximativ 1200°C [6, 8]. Transformarea acestui
45 material în fosfat de calciu bifazic este posibilă fie prin tratamentul termic efectuat în
atmosfere controlate [11], fie prin tratamente chimice (cu reactivi non-toxici) aplicate
produsului în ultimele etape de fabricare.

RO 131943 B1

Materialul ceramic obținut prin tratarea termică a osului se procesează facil prin măcinare. Utilizarea morilor cu bile fabricate din agat elimină riscul contaminării produselor ceramice în timpul obținerii pulberilor. După măcinare pulberile pot fi sortate granulometric, întrucât controlul dimensiunii pulberilor obținute este o componentă esențială pentru sintetizarea ceramicelor. Utilizarea sorturilor cu diferite dimensiuni ale particulelor contribuie la împachetarea mai bună a amestecului, și influențează porozitatea corpului sinterizat [12].

Cerințele de porozitate impuse produsului depind de utilizarea/destinația acestuia: în cazul scaffoldurilor ceramice, porozitatea trebuie să permită vascularizarea adecvată a materialului de substituție, în vederea regenerării țesutului osos. Țesuturile naturale sunt alimentate cu substanțe nutritive și oxigen prin intermediul unui sistem de vase de sânge intens ramificate, care sunt divizate în țesuturi sub formă de capilare. Distanța maximă dintre aceste capilare este de aproximativ 200 μm, valoare corelată cu limita de difuzie a oxigenului [13, 14]. În cazul unor țesuturi precum pielea sau cartilajele, celulele pot fi alimentate cu substanțe nutritive și oxigen prin difuzie, de la vase de sânge care sunt situate la o depărtare mai mare. Această caracteristică a permis crearea pielii și cartilajelor artificiale, însă aproape toate celelalte tipuri de țesut din organism (inclusiv țesutul osos) se bazează pe un sistem vascular cu vase situate la distanțe mai mici de limita de 200 μm [15].

Există un consens că scaffoldurile tridimensionale pentru os trebuie să aibă o porozitate de 40...60%, pentru a favoriza difuzia rapidă a nutrimenților și migrația celulară, iar dimensiunea recomandată a porilor variază în intervalul 50...1000 μm pentru regenerarea osoasă [16, 17]. Dimensiunea conexiunilor variază în intervalul 15...50 μm [18, 19]. Toate aceste valori sunt afectate în diferite grade de incertitudinea asociată metodelor de caracterizare. În această lumină, este clar că ideea de "material ideal" trebuie adaptată fiecărei aplicații.

Porozitatea materialului poate fi controlată suplimentar prin controlul parametrilor de sinterizare [11] și prin adăugarea de agenți porigeni în compoziția amestecului [20]. Principalul parametru de sinterizare care contribuie la controlul proprietăților de material este tratamentul termic al țesutului osos, care induce modificări ale caracteristicilor chimice, morfologice și structurale. Cum aceste modificări depind în mare măsură de temperatura tratamentului termic, stabilirea riguroasă a influenței temperaturii asupra proprietăților produselor obținute din țesut osos bovin se poate dovedi cu o strategie eficientă de personalizare a ceramicelor pentru regenerare osoasă.

Modificarea țesutului osos bovin începe cu evaporarea apei adsorbite la nivelul suprafeței acestuia. Fenomenul se desfășoară până la aproximativ 250°C. Degradarea colagenului începe în paralel cu evaporarea apei adsorbite, și continuă până la eliminarea completă a componentei organice (aproximativ 500...600°C). Pe parcursul degradării, componenta organică va suferi modificări complexe, influențate de gradul de hidratare, cantitatea de substanță organică din os și de tipul acestuia (compact sau spongios).

În cadrul țesutului osos, componenta organică acționează ca un scut protector pentru fosfatul de calciu care alcătuiește componenta minerală [21]. Din acest motiv, componenta minerală nu suferă transformări de natură termică până la temperatura de 500...600°C, când faza organică a țesutului osos este complet degradată și eliminată; începând cu 500°C, hidroxiapatita nestoichiometrică existentă în țesutul osos va suferi o serie de modificări compoziționale și morfologice și, în final, va fi supusă unui proces de recristalizare [22].

Creșterea temperaturii de tratament peste 750°C asigură decontaminarea biologică a țesutului osos bovin. În jurul acestei temperaturi, hidroxiapatita va suferi o reducere masivă a dimensiunilor, fenomen asociat cu modificarea aspectului morfologic și a parametrilor rețelei cristaline, precum și cu eliminarea din structură a grupărilor carbonat. După aceasta,

RO 131943 B1

1 se presupune că hidroxiapatita va începe să se descompună, însă fenomenul este puternic
influențat de factori precum compoziția chimică a materialului brut, sau mediul în care are
3 loc tratamentul termic. Principalii produși de descompunere ai hidroxiapatitei sunt diferite
forme de oxipatite care se vor descompune ulterior în fosfat tricalcic de tip beta sau oxid
5 de calciu [6, 21-34].

Continuarea tratamentului termic la temperaturi mai mari de 1000°C duce la apariția
7 cristalelor de hidroxiapatită cu morfologie granulară, înglobate într-o arhitectură poroasă [35],
însă, prin creșterea temperaturii la 1100...1200°C, porozitatea este diminuată datorită unui
9 proces de densificare a microstructurii care continuă până la 1300°C (când porozitatea
dispare) [36]. Formarea de alți compuși, precum oxidul de calciu (CaO), a fost studiată și nu
11 a permis detecția prin XRD [28]. Alți compuși identificați în diferite studii efectuate la
temperaturi similare de tratament termic au fost P-fosfatul tricalcic [6, 30] și fosfatul
13 tetracalcic [37].

Temperatura și durata de menținere a tratamentului termic depind de dimensiunea
15 probelor, cantitatea de oxigen din atmosferă și metodele de pregătire utilizate anterior
tratamentului [38]. În tratamentul de deproteinizare o probă de 1 cm³ de țesut osos, tratată
17 termic la temperaturi cuprinse între 600 și 1000°C, necesită aproximativ 2 h de menținere,
pentru îndepărtarea completă a componentei organice [30]. În tratamentele de sinterizare,
19 efectuate la temperaturi mai mari de 1000°C, creșterea duratei de menținere contribuie la
densificarea microstructurii materialului ceramic [39].

Degradarea colagenului, identificată în intervalul 250...500°C, este mai rapidă în aer
21 comparativ cu alte medii de tratament [28, 29, 32, 40, 41]. În intervalul 500...800°C,
23 eliberarea de grupări carbonat este amânată atunci când încălzirea are loc în atmosferă de
argon [29]. Întrucât eliberarea grupărilor carbonat din structura hidroxiapatitei duce la o
25 scădere a stabilității termice și obținerea de oxid de calciu ca produs al descompunerii fazei
minerale a țesutului osos, care afectează atât biocompatibilitatea, cât și proprietățile
27 mecanice ale materialelor formate [42, 43], aceasta poate fi evitată prin efectuarea
tratamentelor termice în atmosferă de dioxid de carbon [43]. Tratamentul termic al țesutului
29 osos bovin în argon permite obținerea unui produs bifazic HAP- β-TCP la 1000°C. Conținutul
de β-TCP crește până la aproximativ 30% după tratamentul termic efectuat la 1200°C.

31 Controlul condițiilor de răcire poate contribui la modificarea/menținerea compoziției
fazice a fosfaților de calciu: reacția de transformare a beta-fosfatului tricalcic (β-TCP) în alfa-
33 fosfat tricalcic (α-TCP) este reversibilă la răcire lentă. Păstrarea alfa-fosfatului tricalcic
(resorbabil) în structura fosfaților de calciu procesați termic poate fi însă posibilă prin răcire
35 rapidă [44]. Fenomenul nu este valabil și pentru forma super-alfa a fosfatului tricalcic (super-
α-TCP), care nu rezistă călirii până la temperaturi înalte [45, 46]. Influența condițiilor de
37 răcire este confirmată și de aspectul morfologic al probelor de țesut osos bovin, care
sugerează că densificarea microstructurii este accentuată la răcirea în apă, concomitent cu
39 scăderea raportului Ca/P. Rezultatele sugerează accelerarea unor modificări structurale la
răcirea rapidă a țesutului dur tratat termic, care ar putea contribui la eficientizarea procesării
41 fosfaților de calciu derivați din os bovin [11].

Pulberile obținute prin tratarea termică a osului bovin sunt adecvate pentru a fi
43 utilizate ca precursori în fabricarea aditivă/SFF/printarea tridimensională. Deși unele metode
au fost deja brevetate pentru hidroxiapatită (**US 8071007/2011 și US 6993406/2006**),
45 domeniul se confruntă cu neajunsuri precum erorile dimensionale cauzate de acuratețea
echipamentelor, lipsa lianților adecvați pentru susținerea pulberilor ceramice, și anizotropia
47 proprietăților produselor obținute [11, 47]. Pornind de la un material care satisface cerințele
biologice și mecanice impuse de o aplicație medicală specifică, acesta trebuie să fie adaptat
49 și metodei de fabricație aditivă selectate, urmând ca după obținerea structurilor
tridimensionale eforturile să se concentreze asupra îmbunătățirii proprietăților acestora [48].

RO 131943 B1

Obiectivul propunerii de brevet constă în obținerea unei structuri suport (scaffold) 1
pentru repararea defectelor osoase majore, obținute din produse monofazice (hidroxiapatită 3
HAP) sau bifazice (hidroxiapatită + fosfat tricalcic de tip α sau β), care să îndeplinească
cerințele de rezistență mecanică și biocompatibilitate.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în adaptarea succesiunii fazelor 5
și a parametrilor fazici ai unui procedeu specific producerii unei structuri suport tip scaffold
pentru repararea defectelor osoase majore, din hidroxiapatită și fosfat tricalcic, care să 7
permită predictibilitatea și obținerea caracteristicilor mecanice de porozitate și rezistență
mecanică ale produsului final tip scaffold. 9

Procedeeul conform invenției, de producere a unui material pentru reconstrucția 11
defectelor osoase, pe bază de hidroxiapatită, rezolvă această problemă tehnică prin aceea
că, pentru obținerea unui raport predeterminat între hidroxiapatită și fosfatul tricalcic:
HAP/TCP, după o fază preliminară de obținere a hidroxiapatitei prin deproteinizare pe cale 13
termică, prin fierbere, a osului bovin, cu îndepărtarea mecanică a materialului proteic și
tratare termică la 400...500°C, 2...4 h, în cuptor electric, în atmosferă de aer, cu ventilație 15
continuă, tratarea termică a osului deproteinizat în cuptor electric, în atmosferă de aer, la
temperaturi cuprinse între 800 și 1200°C, timp de 2...6 h, măcinare în moară cu bile de agat 17
timp de 2...6 h și sortare granulometrică prin vibrare în site succesive cu dimensiunea
ochiurilor cuprinsă între 200 și 20 de μm , în faza următoare, pulberile de hidroxiapatită 19
obținute se amestecă și se omogenizează cu soluție de pirofosfat de sodiu de concentrație
cuprinsă între 0,1 și 0,5 molar, la un raport soluție/HAP între 1/3 și 1/4, prestabilit în corelație 21
cu raportul HAP/TCP dorit, și apoi se compactează prin presare în forme cilindrice cu
diametre între 10 și 50 mm, cu forțe de apăsare cuprinse între 10 și 500 MPa, în funcție de 23
porozitatea și caracteristicile mecanice dorite pentru produsul final, care este obținut prin
uscarea produsului compactat la temperatura camerei, între 24 și 240 h, și prelucrarea 25
mecanică a acestuia prin găurire cu burghie, diametrul găurilor obținute variind între 1 și 3
mm, produsul obținut fiind în final sinterizat la 700...1300°C timp de 2...6 h, în atmosferă de 27
aer-argon.

Găurile sunt practicate din două direcții: axial (perpendicular pe suprafața circulară) 29
și pe o direcție perpendiculară pe generatoarea cilindrului. Distanța între oricare două
extremități ale găurilor este cuprinsă între 1 și 3 mm (distanța maximă care permite 31
menținerea vascularizării în vederea regenerării osoase), valoarea raportului HAP/TCP și
porozitatea fiind controlate prin valoarea concentrației soluției de pirofosfat de sodiu, a 33
parametrilor de tratament termic și prin prelucrarea mecanică.

Procedeeul conform invenției prezintă avantajul că permite predictibilitatea și obținerea 35
caracteristicilor mecanice de porozitate și rezistență mecanică ale produsului final tip scaffold
rezultate ca funcție de raportul: soluție de pirofosfat de sodiu/hidroxiapatită și de parametrii 37
tratamentului termo-mecanic.

Invenția este prezentată pe larg în continuare, în legătură și cu fig. 1...3, ce 39
reprezintă:

- fig. 1 a, b, c, reprezentarea grafică a scaffoldurilor prezentate în tabelul de mai jos 41
(pozițiile 3, 5, 7);

- fig. 2, variația compoziției fazice a materialului ceramic funcție de concentrația de 43
pirofosfat de sodiu utilizat la producerea acestuia;

- fig. 3, exemplu concret de realizare a unui scaffold prin procedeeul conform invenției. 45

Conform invenției, elementul de noutate, raportat la brevetele existente și la articolele 47
publicate, constă în două aspecte:

- posibilitatea "tunării" compoziției și structurii cristalografice (raport HAP/TCP variabil 49
între limitele 70% HAP-30% TCP și 100% HAP-0% TCP) în funcție de rata de resorbție
dorită;

RO 131943 B1

- 1 - modalitatea de obținere a structurii tridimensionale la scală macroscopică și a
porozității la scală microscopică.
- 3 Conform procedurii, într-o fază preliminară, este obținută hidroxiapatita, prin
tratarea osului bovin (componenta centrală a femurului din care au fost îndepărtate
5 articulațiile) tratat termic în două etape:
- 7 - deproteinizarea strict pe cale termică, pentru obținerea produsului ceramic primar
(fără componente organice):
- 9 - fierbere în apă 2...4 h;
 - îndepărtarea resturilor de țesut moale prin procedee mecanice;
 - 11 - fierbere în apă distilată 2...4 h;
 - tratament termic la 400...500°C, 2...4 h, în cuptor electric, în atmosferă de
aer, cu ventilație continuă;
 - 13 - tratarea termică a produsului deproteinizat în cuptor electric, în atmosferă de aer,
la temperaturi cuprinse între 800 și 1200°C, 2...6 h.
- 15 După obținerea componentelor deproteinizate în formă masivă (produse integral
ceramice cu forme neregulate, fragmentate), se obțin pulberi cu dimensiuni variabile.
17 Pulberea este obținută prin măcinare în mori cu bile de agat, în incintă de agat. Măcinarea
se realizează 2...6 h, cu turații variabile ale morii. După măcinare se efectuează sortarea
19 granulometrică prin vibrare în site succesive, cu dimensiunea ochiurilor cuprinsă între 200
și 20 de μm.
- 21 Pulberile de hidroxiapatită obținute se amestecă și se omogenizează cu soluție de
pirofosfat de sodiu (concentrație cuprinsă între 0,1 și 0,5 molar), și se compactează prin
23 presare în forme cilindrice (cu diametre între 10 și 50 mm), folosind forțe de apăsare
cuprinse între 10 și 500 MPa, în funcție de porozitatea și caracteristicile mecanice urmărite
25 ale produsului finit.
- După compactare se obțin cilindri cu diametre cuprinse între 10 și 50 mm, și înălțimi
27 cuprinse între 10 și 100 mm. Aceste produse sunt uscate la temperatura camerei
(24...240 h). După uscare, produsele cilindrice sunt prelucrate mecanic prin găurire cu
29 burghie (diametre între 1 și 3 mm). Găurile sunt practicate din două direcții: axial
(perpendicular pe suprafața circulară) și pe o direcție perpendiculară pe generatoarea
31 cilindrului. Distanța între oricare două extremități ale găurilor este cuprinsă între 1 și 3 mm.
- Raportul HAP/TCP variabil între limitele 70% HAP-30% TCP și 100% HAP-0% TCP
33 este obținut prin modificarea concentrației soluției de pirofosfat de sodiu și a parametrilor de
tratament termic de sinterizare a produsului compactat găurit, realizat la următorii parametri:
- 35 - perioada 2...6 h;
 - temperatura 700...1300°C;
 - 37 - atmosfera din cuptor (aer-argon în proporții cuprinse în intervalul 0...100%).
- Porozitatea macroscopică dorită poate fi obținută și folosind sorturile granulometrice.
- 39 Relația dintre dimensiunea sorturilor și porozitate este de directă proporționalitate.
- Porozitatea microscopică se modifică prin alegerea parametrilor de tratament termic:
- 41 - timpul de tratament între 2 și 6 h;
 - temperatura de tratament între 700 și 1300°C.
- 43 După aplicarea tuturor procedurilor, în ordinea prestabilită și cu parametrii
preselectați în funcție de aplicația chirurgicală specifică, se obțin produse masive, cu forma
45 cilindrică, perforate bidirecțional, cu caracteristici mecanice (rezistență la compresiune)
variabile, în funcție de compoziție, structură și dimensiuni ale macro- și microporilor. Aceste
47 produse pot fi prelucrate mecanic intraoperator, în funcție de forma defectului chirurgical.

RO 131943 B1

Caracteristicile mecanice ale produselor, indiferent de parametrii tehnologici utilizați, permit modificarea formei scaffoldului folosind aparatură uzuală, în sala de operație, pentru obținerea unui implant personalizat, în funcție de necesitățile fiecărui caz în parte. Pentru atingerea acestui obiectiv, procedura de diagnosticare și proiectare a implantului personalizat implică folosirea unor tehnici de imagistică medicală specifice, și a unor metode de reconstrucție tridimensională prin modelare matematică.

Alegerea tuturor dimensiunilor incluse în acest brevet este impusă de caracteristici biologice, anatomice și funcționale necesare pentru reconstrucția rapidă a defectelor osoase majore, și pentru recăpătarea funcționalității integrale a țesutului rezecat. Porozitatea produsului final tip scaffold este dată de parametrii de prelucrare mecanică și exemplificată în tabelul prezentat mai jos. Porozitatea dată de prelucrarea mecanică este completată de porozitatea intrinsecă a materialului ceramic derivat din țesut osos.

Corelație între porozitatea produselor tip scaffold și parametrii de prelucrare mecanică

Nr. crt.	Dimensiuni ale scaffoldului		Nr. găuri perpendiculare pe generatoare	Nr. găuri perpendiculare pe rază	Nr. total găuri	Dimensiuni ale porilor (găurilor)		Porozitate teoretică
	Înălțime [mm]	Diametru [mm]				Diametrul porilor [mm]	Distanța dintre pori [mm]	
1	30	30	182	145	327	1	1	27%
2	30	30	90	69	159	1	2	15%
3	30	30	49	37	86	1	3	8%
4	50	50	240	181	421	2	1	46%
5	50	50	132	97	229	2	2	27%
6	50	50	90	69	159	2	3	20%
7	100	50	264	87	351	3	1	54%
8	100	50	171	61	232	3	2	37%
9	100	50	112	45	157	3	3	27%

Reprezentarea grafică a scaffold-urilor prezentate în tabel (pozițiile 3, 5 și 7) sunt redată în fig. 1.

Variația compoziției fazice a produselor, dată de concentrația soluției de pirofosfat de sodiu utilizată în preparare, este prezentată în fig. 2.

Un exemplu concret de realizare a unui produs tip scaffold conform invenției este prezentat în fig. 3.

Exemplu

S-au debitat bucăți de țesut osos din partea centrală a femurului bovin, care au fost deproteinate prin fierbere în apă timp de 2 h. După fierbere, resturile de țesut moale au fost îndepărtate mecanic. Deproteinizarea materiei prime s-a încheiat cu un tratament termic efectuat în cuptor electric, cu ventilație continuă; bucățile de țesut osos au fost tratate termic la 500°C, în aer, timp de 2 h.

Bucățile de țesut osos deproteinizat (material ceramic) au fost supuse unui tratament termic în cuptor electric, cu ventilație continuă; materialul ceramic a fost tratat termic la 1000°C, în aer, timp de 6 h. Bucățile de material ceramic au fost măcinate într-o moară cu bile, timp de 6 h, iar pulberea rezultată a fost sortată granulometric, pentru a asigura dimensiuni ale particulelor cuprinse în intervalul 100...200 μm.

RO 131943 B1

1 Pulberea ceramică a fost omogenizată și amestecată cu o soluție de pirofosfat de
sodiu de concentrație 0,1 M. Pasta obținută a fost turnată în forme și presată la 25 MPa,
3 pentru a obține un corp cilindric cu diametrul de 50 mm și înălțimea de 50 mm. Corpul
cilindric a fost uscat în aer, la temperatura camerei, timp de 120 h.

5 Corpul ceramic a fost prelucrat mecanic prin găurire cu un burghiu cu $\varnothing = 2$ mm,
păstrând o distanță $d = 2$ mm între oricare 2 găuri practicate. S-au practicat astfel 192 de
7 găuri perpendiculare pe generatoarea (înălțimea) corpului cilindric, și 97 de găuri
perpendiculare pe diametrul corpului cilindric.

9 Corpul ceramic prelucrat mecanic a fost supus unui tratament termic de sintetizare
în cuptor electric, cu ventilație continuă; corpurile ceramice au fost tratate termic la 1000°C ,
11 în argon, timp de 2 h.

Prin procedeul descris mai sus a fost obținut un produs de tip scaffold cu compoziție
13 bifazică în proporțiile 70%HAP-30% β -TCP, cu porozitate teoretică de 27% și dimensiuni ale
porilor de 0,8...2000 μm .

17 Bibliografie

19 [1] Dorozhkin S.V., *Biocomposites and hybrid biomaterials based on calcium
orthophosphates*, Biomatter 2011;1: 3-56.

21 [2] Best SM, Porter AE, Thian E.S., Huang J., *Bioceramics: Past, present and for the
future*. Journal of the European Ceramic Society 2008;28: 1319-27.

23 [3] Gallinetti S, Canal C, Ginebra MP., *Development and Characterization of Biphasic
Hydroxyapatite/ β -TCP Cements*. Journal of the American Ceramic Society 2014;97:1065-73.

25 [4] Barradas A, Yuan H, Blitterswijk CA, Habibovic P., *Osteoinductive biomaterials:
current knowledge of properties, experimental models and biological mechanisms*. European
27 cells & materials 2011;21: 407-29.

[5] Habibovic P., Yuan H., van der Valk C.M., Meijer G., van Blitterswijk C.A., de
29 Groot K., *3D microenvironment as essential element for osteoinduction by biomaterials*.
Biomaterials 2005;26:3565-75.

31 [6] Miculescu F., Stan G.E., Ciocan L.T., Miculescu M., Berbecaru A., Antoniac I.,
Cortical bone as resource for producing biomimetic materials for clinical use. Digest Journal
33 of Nanomaterials and Biostructures 2012;7:1667-77.

[7] Dorozhkin SV., *Biphasic, triphasic and multiphasic calcium orthophosphates*. Acta
35 biomaterialia 2012;8:963-77.

[8] Miculescu F, Maidaniuc A, Stan GE, Miculescu M, Voicu SI, Ciocan LT., *Thermal
37 degradation and morphological characteristics of bone products*. In: Tiwari A, Raj B, editors.
Reactions and Mechanisms in Thermal Analysis of Advanced Materials: Wiley - Scrivener
39 Publishing LLC; 2015.

[9] COMMISSION REGULATION (EU) No 722/2012 of 8 August 2012 concerning
41 particular requirements as regards the requirements laid down in Council Directives
90/385/EEC and 93/42/EEC with respect to active implantable medical devices and medical
43 devices manufactured utilising tissues of animal origin.

[10] ISO/TR 22442 Standard Series - Medical devices utilizing animal tissues and
45 their derivatives.

[11] Miculescu F, Maidaniuc A, Stan G, Miculescu M, Voicu S, Cîmpean A, et al.,
47 *Tuning Hydroxyapatite Particles' Characteristics for Solid Freeform Fabrication of Bone
Scaffolds*. Advanced Composite Materials 2016:321.

RO 131943 B1

- [12] Rahaman MN., *Sintering of ceramics*: CRC press; 2007. 1
- [13] Rouwkema J, Rivron NC, van Blitterswijk CA., *Vascularization in tissue engineering*. Trends in biotechnology 2008;26:434-41. 3
- [14] Lovett M, Lee K, Edwards A, Kaplan DL. Vascularization strategies for tissue engineering. Tissue Engineering Part B: Reviews 2009;15:353-70. 5
- [15] Jain RK, Au P, Tam J, Duda DG, Fukumura D., *Engineering vascularized tissue*. Nature biotechnology 2005;23:821-3. 7
- [16] Bohner M, Baumgart F., *Theoretical model to determine the effects of geometrical factors on the resorption of calcium phosphate bone substitutes*. Biomaterials 2004;25:3569-82. 9
- [17] Karageorgiou V, Kaplan D., *Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis*. Biomaterials 2005;26:5474-91. 11
- [18] Lu J, Flautre B, Anselme K, Hardouin P, Gallur A, Descamps M, et al., *Role of interconnections in porous bioceramics on bone recolonization in vitro and in vivo*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine 1999; 10:111-20. 13
- [19] Bignon A, Chouteau J, Chevalier J, Fantozzi G, Carret J-P, Chavassieux P, et al., *Effect of micro-and macroporosity of bone substitutes on their mechanical properties and cellular response*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine 2003;14:1089-97. 17
- [20] Studart AR, Gonzenbach UT, Tervoort E, Gauckler LJ., *Processing routes to macroporous ceramics: a review*. Journal of the American Ceramic Society 2006;89:1771-89. 19
- [21] Etok S, Valsami-Jones E, Wess T, Hiller J, Maxwell C, Rogers K, et al., *Structural and chemical changes of thermally treated bone apatite*. J Mater Sci 2007;42:9807-16. 21
- [22] Pramanik S, Pinguan-Murphy B, Cho J, Osman NAA., *Design and development of potential tissue engineering scaffolds from structurally different longitudinal parts of a bovine-femur*. Scientific reports, 2014;4. 23
- [23] Bahrololoom M, Javidi M, Javadpour S, Ma J. *Characterisation of natural hydroxyapatite extracted from bovine cortical bone ash*. J Ceram Process Res 2009;10:129-38. 25
- [24] Lau M-I, Lau K-t, Ku H, Cardona F, Lee J-H. *Analysis of heat-treated bovine cortical bone by thermal gravimetric and nanoindentation*. Composites Part B: Engineering 2013;55:447-52. 29
- [25] Barakat NAM, Khalil KA, Sheikh FA, Omran AM, Gaihre B, Khil SM, et al. *Physiochemical characterizations of hydroxyapatite extracted from bovine bones by three different methods: Extraction of biologically desirable HAp*. Materials Science and Engineering: C 2008;28:1381-7. 31
- [26] Blokhuis TJ, Termaat MF, den Boer FC, Patka P, Bakker FC, Henk JTM. *Properties of calcium phosphate ceramics in relation to their in vivo behavior*. Journal of Trauma-Injury, Infection, and Critical Care 2000;48:179. 33
- [27] Dorozhkin SV. *Calcium orthophosphates as bioceramics: State of the Art*. Journal of functional biomaterials 2010;1:22-107. 35
- [28] Figueiredo M, Fernando A, Martins G, Freitas J, Judas F, Figueiredo H. *Effect of the calcination temperature on the composition and microstructure of hydroxyapatite derived from human and animal bone*. Ceramics International 2010;36:2383-93. 37
- [29] Mkukuma LD, Skakle JM, Gibson IR, Imrie CT, Aspden RM, Hukins DW. *Effect of the proportion of organic material in bone on thermal decomposition of bone mineral: an investigation of a variety of bones from different species using thermogravimetric analysis coupled to mass spectrometry, high-temperature X-ray diffraction, and Fourier transform infrared spectroscopy*. Calcified tissue international 2004;75:321-8. 39

RO 131943 B1

- 1 [30] Ooi CY, Hamdi M, Ramesh S. *Properties of hydroxyapatite produced by annealing of bovine bone*. *Ceramics International* 2007;33:1171-7.
- 3 [31] Liao C-J, Lin F-H, Chen K-S, Sun J-S. *Thermal decomposition and reconstitution of hydroxyapatite in air atmosphere*. *Biomaterials* 1999;20:1807-13.
- 5 [32] Fantner GE, Birkedal H, Kindt JH, Hassenkam T, Weaver JC, Cutroni JA, et al. *Influence of the degradation of the organic matrix on the microscopic fracture behavior of trabecular bone*. *Bone* 2004;35:1013-22.
- 7 [33] Rey C, Combes C, Drouet C, Glimcher MJ. *Bone mineral: update on chemical composition and structure*. *Osteoporos Int* 2009;20:1013-21.
- 9 [34] Miculescu F, Ciocan L, Miculescu M, Ernuteanu A. *Effect of heating process on micro structure level of cortical bone prepared for compositional analysis*. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 2011;6:225-33.
- 11 [35] Dorozhkin SV. *Calcium orthophosphate-based bioceramics*. *Materials* 2013;6:3840-942.
- 13 [36] Miculescu F, Maidaniuc A, Voicu SI, Miculescu M, Berbecaru A, Ciocan LT, et al. *Structural and morphological induced modifications in hydroxyapatite obtained by bone thermal treatments*. *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials* 2015;17:1361-6.
- 15 [37] Herliansyah MK, Hamdi M, Ide-Ektessabi A, Wildan MW, Toque JA. *The influence of sintering temperature on the properties of compacted bovine hydroxyapatite*. *Materials Science and Engineering: C* 2009;29:1674-80.
- 17 [38] Liu Q, Huang S, Matinlinna JP, Chen Z, Pan H. *Insight into biological apatite: physicochemical properties and preparation approaches*. *BioMed research international* 2013;2013.
- 19 [39] Champion E. *Sintering of calcium phosphate bioceramics*. *Acta biomaterialia* 2013;9:5855-75.
- 21 [40] Deydier E, Guilet R, Sarda S, Sharrock P. *Physical and chemical characterisation of crude meat and bone meal combustion residue: "waste or raw material?"*. *Journal of hazardous materials* 2005;121:141-8.
- 23 [41] Johnson G, Mucalo M, Lorier M. *The processing and characterization of animal-derived bone to yield materials with biomedical applications Part 1: Modifiable porous implants from bovine condyle cancellous bone and characterization of bone materials as a function of processing*. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 2000; 11:427-41.
- 25 [42] Joschek S, Nies B, Krotz R, Goferich A. *Chemical and physicochemical characterization of porous hydroxyapatite ceramics made of natural bone*. *Biomaterials* 2000;21:1645-58.
- 27 [43] Lombardi M, Palmero P, Haberko K, Pyda W, Montanaro L. *Processing of a natural hydroxyapatite powder: From powder optimization to porous bodies development*. *Journal of the European Ceramic Society* 2011;31:2513-8.
- 29 [44] Nilen RWN, Richter PW. *The thermal stability of hydroxyapatite in biphasic calcium phosphate ceramics*. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 2008;19:1693-702.
- 31 [45] Nurse RW, Welch JH, Gutt W. *A New Form of Tricalcium Phosphate*. *Nature* 1958; 182:1230.
- 33 [46] Gross K, Berndt C. *Thermal processing of hydroxyapatite for coating production*. *Journal of biomedical materials research* 1998;39:580-7.
- 35 [47] Tempelman E, Shercliff H, van Eyben BN. Chapter 11 - *Additive Manufacturing*. In: Tempelman E, Shercliff H, Eyben BNv, editors. *Manufacturing and Design*. Boston: Butterworth-Heinemann; 2014. p. 187-200.
- 37 [48] Butscher A, Bohner M, Hofmann S, Gauckler L, Miiller R. *Structural and material approaches to bone tissue engineering in powder-based three-dimensional printing*. *Acta biomaterialia* 2011; 7:907-20.
- 39
- 41
- 43
- 45
- 47
- 49
- 51

RO 131943 B1

Revendicări

1. Procedeu de obținere a unui produs tip scaffold pe bază de hidroxiapatită, pentru reconstrucția defectelor osoase majore, cu raport predeterminat între hidroxiapatită și fosfatul tricalcic HAP/TCP, incluzând o fază preliminară de obținere a hidroxiapatitei prin deproteinizare pe cale termică, prin fierbere, a osului bovin, îndepărtarea mecanică a materialului proteic și tratare termică la 400...500°C, 2...4 h, în cuptor electric, în atmosferă de aer, cu ventilație continuă, tratarea termică a osului deproteinizat în cuptor electric, în atmosferă de aer, la temperaturi cuprinse între 800 și 1200°C, timp de 2...6 h, măcinare în moară cu bile de agat timp de 2...6 h și sortare granulometrică prin vibrație în site succesive cu dimensiunea ochiurilor cuprinsă între 200 μm și 20 μm, **caracterizat prin aceea că** pulberile de hidroxiapatită obținute se amestecă și se omogenizează cu soluție de pirofosfat de sodiu de concentrație cuprinsă între 0,1 și 0,5 molar, la un raport: soluție/HAP între 1/3 și 1/4, prestabilit în corelație cu raportul HAP/TCP dorit, și apoi se compactează prin presare în forme cilindrice cu diametre între 10 și 50 mm, cu forțe de apăsare cuprinse între 10 și 500 MPa, în funcție de porozitatea și caracteristicile mecanice dorite pentru produsul final care este obținut prin uscarea produsului compactat, la temperatura camerei, între 24 și 240 h, și prelucrarea mecanică a acestuia, prin găurire cu burghie, diametrul găurilor obținute variind între 1 și 3 mm, găurile fiind practicate pe direcții axiale, perpendiculare pe suprafața circulară, și pe direcții radiale, cu distanța între oricare două extremități ale găurilor cuprinsă între 1 și 3 mm, produsul astfel obținut fiind în final sintetizat la 700...1300°C timp de 2...6 h, în atmosferă de aer-argon.

2. Procedeu de obținere a unui produs tip scaffold pe bază de hidroxiapatită, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** prelucrarea mecanică a produsului din HAP/TCP este realizată conform următorului tabel de corelație între porozitatea produselor tip scaffold și parametrii de prelucrare mecanică:

Nr. crt.	Dimensiuni ale scaffoldului		Nr. găuri perpendiculare pe generatoare	Nr. găuri perpendiculare pe rază	Nr. total găuri	Dimensiuni ale porilor (găurilor)		Porozitate teoretică
	Înălțime [mm]	Diametru [mm]				Diametrul porilor [mm]	Distanța dintre pori [mm]	
1	30	30	182	145	327	1	1	27%
2	30	30	90	69	159	1	2	15%
3	30	30	49	37	86	1	3	8%
4	50	50	240	181	421	2	1	46%
5	50	50	132	97	229	2	2	27%
6	50	50	90	69	159	2	3	20%
7	100	50	264	87	351	3	1	54%
8	100	50	171	61	232	3	2	37%
9	100	50	112	45	157	3	3	27%

(51) Int.Cl.
C01B 25/32 (2006.01);
A61K 35/32 (2006.01);
A61L 27/12 (2006.01);
A61F 2/28 (2006.01)

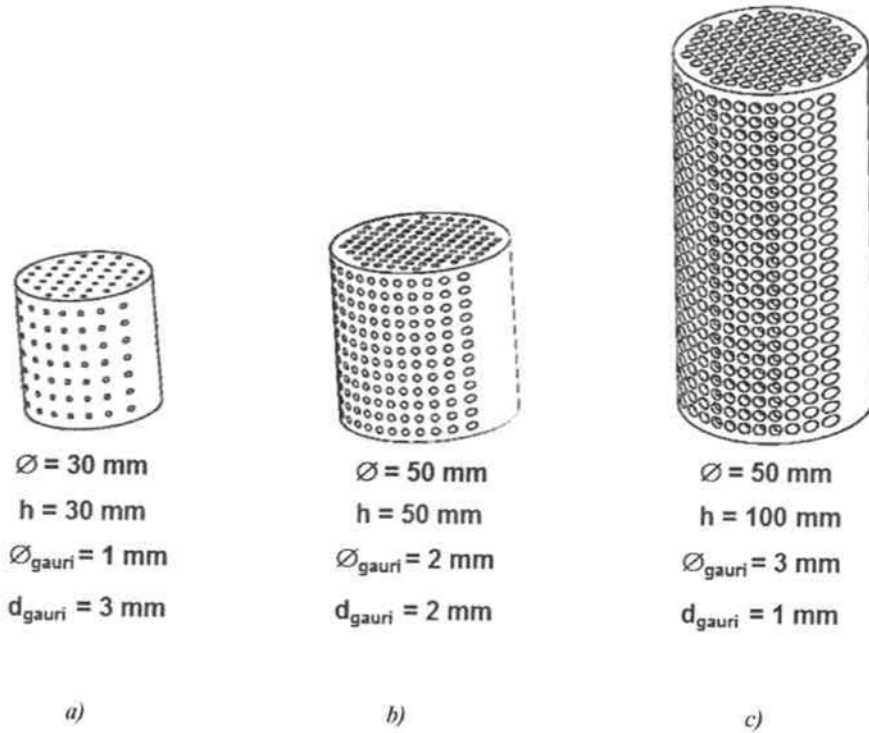


Fig. 1

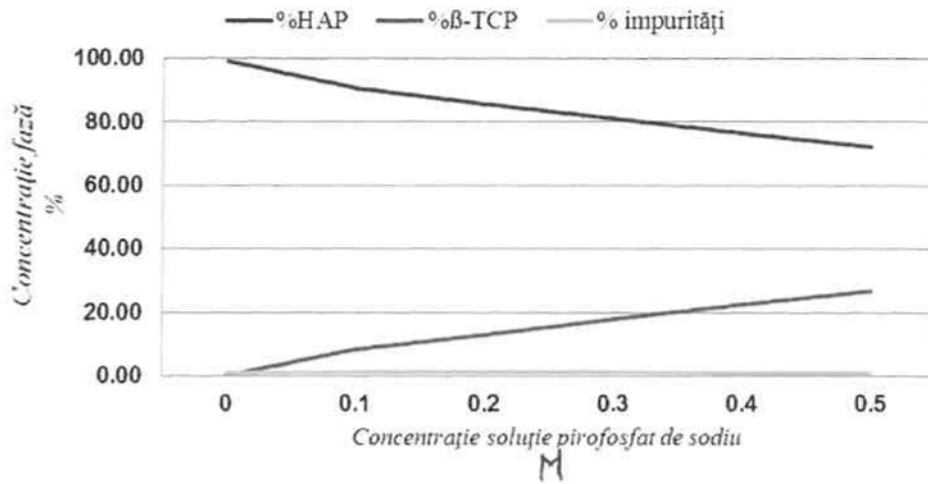


Fig. 2

(51) Int.Cl.
C01B 25/32 (2006.01);
A61K 35/32 (2006.01);
A61L 27/12 (2006.01);
A61F 2/28 (2006.01)

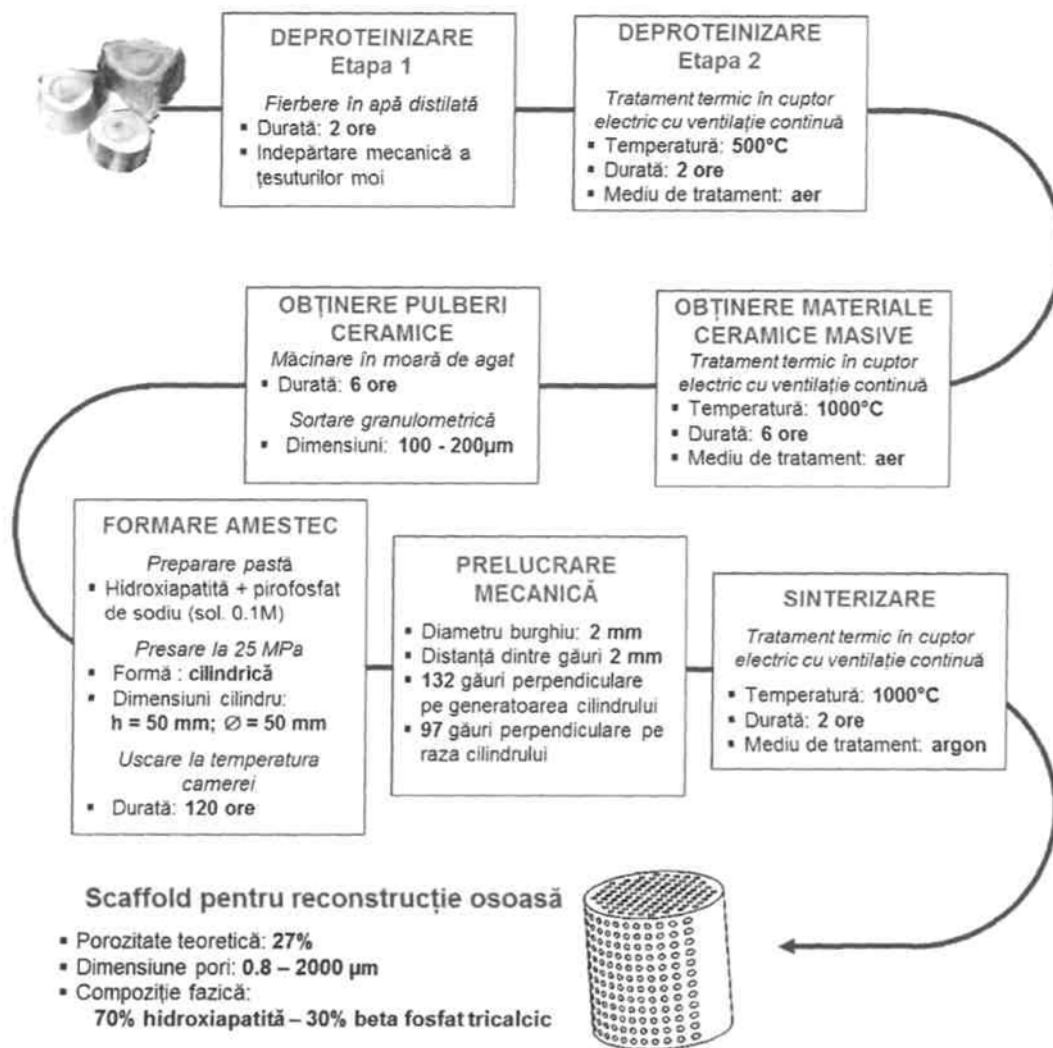


Fig. 3

