



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2017 00102**

(22) Data de depozit: **23/02/2017**

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

(41) Data publicării cererii:
30/08/2018 BOPI nr. **8/2018**

(73) Titular:

- **INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU METALE NEFEROASE ȘI RARE - IMNR, BD.BIRUIȚEI NR.102, PANTELIMON, IF, RO;**
- **UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "CAROL DAVILA" DIN BUCUREȘTI, STR.DIONISIE LUPU NR.37, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**
- **SITEX 45 S.R.L., STR.GHICA TEI NR.114, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:

- **POPESCU LAURA MĂDĂLINA, STR.DELINEȘTI NR.4, BL.T D 45, AP.14, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
- **PITICESCU ROXANA MIOARA, ȘOS.NICOLAE TITULESCU NR.155, BL.21, SC.C, ET.2, AP.90, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**

- **MOTOC ADRIAN MIHAIL, STR. PAȘCANI NR.9, BL.TD35, SC.A, ET.10, AP.64, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
- **VOINEA LILIANA MARY, BD.IULIU MANIU, NR.57, BL.OD 16, SC.C, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
- **GRĂDINARU (ISTRATE) SÂNZIANA LUMINIȚA, STR.BUZOENI, NR.9, BL.M 43, AP.57, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;**
- **ULIERU DUMITRU, BD.GHICA TEI NR.114, BL.40, AP.2, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;**
- **TOPOR ALEXANDRU, STR. UNIRII, BL.18C, AP.23, BUZĂU, BZ, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:

- **CN 105770988 (A);**
- **A. BUTSCHERAB, M. BOHNER, S. HOFMANN, L. GAUCKLER, R. MULLER, "STRUCTURAL AND MATERIAL APPROACHES TO BONE TISSUE ENGINEERING IN POWDER-BASED THREE- DIMENSIONAL PRINTING", ACTA BIOMATERIALIA, VOL. 7, PP. 907-920, 2011**

(54) **STRUCTURI TRIDIMENSIONALE PE BAZĂ DE HIDROXIAPATITĂ ȘI POLIURETAN-DIOL, OBTINUTE PRIN TEHNICA 3D PRINTING**



RO 132753 B1

1 Invenția se referă la obținerea unor structuri tridimensionale pe bază de hidroxiapatită
și poliuretan-diol prin tehnica 3D printing, care pot fi utilizate la fabricarea implanturilor oculare
3 cu porozitate interconectată.

5 Este cunoscut, din cererea de brevet **MX 2016005397 (A)**, un implant ocular intraorbital,
care să permită umplerea spațiului lăsat liber prin îndepărtarea globului ocular al unei persoane,
7 prevenind absorbția în țesuturile înconjurătoare, și permițând stabilitatea acestei cavități pe
termen lung. Acest implant ocular inventat nu este poros, facilitând îndepărtarea ulterioară în
9 situațiile în care se cere acest lucru. Implantul este realizat din ciment osos polimerizat, cu
dioxid de zirconiu ca material de contrast, și colorant E141, pentru o mai bună vizualizare în
11 timpul operației chirurgicale, și monitorizare post-chirurgicală timpurie, dar și pe termen lung.

13 De asemenea, este cunoscut, din cererea de brevet **CN 105770988 (A)**, un material
ceramic biologic pentru repararea osului, fabricat prin metoda 3D printing, din p-TCP,
15 hidroxiapatită și acid polilactic (PLA) cu masa moleculară 100000-120000, viscozitatea între
0,79 dL/g și 0,84 dL/g, porozitatea structurii tridimensionale fiind 70...90%, și latura unui pătrat
care formează grila între 100 și 300 μm.

17 Este cunoscută, din brevetul **WO 2016/012583**, o formulă de sinteză a unui material
hibrid printabil, pe bază de carboximetil chitosan (CMC) și polifosfat (polyP). Cei doi polimeri
sunt legați prin intermediul ionilor de calciu. Materialul CMC-PolyP în combinație cu alginatul
19 este biocompatibil, biodegradabil și util pentru 3D printing și 3D cell printing (bioprinting).

21 Ingineria țesuturilor este un domeniu interdisciplinar care combină cunoștințele cerce-
tătorilor despre celule, biomateriale și factori biochimici adecvați pentru crearea unei structuri
23 sintetice care să permită creșterea și regenerarea de țesuturi noi [**J. D. Sipe, Reporative
medicine: growing tissues and organs, 961, (2002), 1-9**]. Această structură artificială,
cunoscută sub numele de scaffold, ar trebui să fie obținută dintr-un biomaterial adecvat, și
25 fabricată astfel încât să imite structura fizică și chimică a țesutului gazdă [**Q. Chen, A.
Boccaccini, H. Zhang, D. Wang, M. Edirisinghe, J. Am. Ceram. Soc. 89, (2006), pag. 1534-
27 1539, S. C. Cox, J. A. Thornby, G. J. Gibbons, M. A. Williams, K. K. Mallick, Materials
Science and Engineering C, 47, (2015), pp. 237-247**].

29 Osul spongios are o structură poroasă atât în volum, cât și la suprafață, cu pori
interconectați care permit migrarea celulelor, vascularizarea și creșterea țesutului nou [**R. Z.
31 Legeros, S. Lin, R. Rohanizadeh, D. Mijares, J. P. Legeros, J. Mater. Sci. Mater. Med., 14,
(2003), 201-209, A. G. Mikos, G. Sarakinos, M. D. Lyman, D. E. Ingber, J. P. Vacanti, R.
33 Langer, Biotechnol. Bioeng., 42, (1993), pag. 716-723, D. J. Mooney, D. F. Baldwin, N. P.
Suh, J. P. Vacanti, R. Langer, Biomaterials 17, (1996), pp. 1417-1422**]. În linii mari, metodele
35 de fabricare a structurilor de tip scaffold pot fi grupate în tehnici convenționale (de exemplu,
foaming, salt leaching și emulsification) [**A. Butscher, M. Bohner, S. Hofmann, L. Gauckler,
37 R. Müller, Acta Biomaterialia, 7, (2011), 907-920**] și tehnici de tip Additive Layer
Manufacturing (ALM) sau fabricație aditivă.

39 Principalul dezavantaj al metodelor convenționale este faptul că acestea nu permit
producerea scaffoldurilor poroase cu un control complet al parametrilor geometrici, cum ar fi
41 dimensiunea porilor, obținerea porilor interconectați, dimensiunea și porozitatea materialului [**A.
Butscher, M. Bohner, S. Hofmann, L. Gauckler, R. Müller, Acta Biomaterialia, 7, (2011),
43 907-920**].

45 Metodele ALM permit utilizatorilor construirea materialelor 3D cu diferite niveluri de
complexitate, ceea ce este deosebit de avantajos atunci când se încearcă mimarea structurii
fizice a osului.

RO 132753 B1

Pentru a putea fi utilizat la fabricarea scaffoldurilor pentru aplicații medicale, materialul ales trebuie să îndeplinească următoarele condiții: 1

- 1) să fie biocompatibil; 3
- 2) să aibă o suprafață adecvată din punct de vedere chimic pentru atașarea, proliferarea și diferențierea celulelor; 5
- 3) să fie tridimensional și suficient de poros, cu o rețea de pori interconectați care să permită creșterea celulelor, un flux de transport al substanțelor nutritive și deșeurilor metabolice; 7
- 4) să aibă proprietăți mecanice care să corespundă cu cele ale țesutului în care va fi implantat [A. Butscher, M. Bohner, S. Hofmann, L. Gauckler, R. Müller, *Acta Biomaterialia*, 7, (2011), 907-920]. 9

Pe lângă aceste condiții, parametrii procesului de fabricare a materialului pentru structuri 3D trebuie optimizați astfel încât să asigure biocompatibilitate maximă, osteoconductivitate și proprietăți mecanice suficient de bune. 11 13

În funcție de principiul de funcționare, sistemele ALM au fost clasificate în trei subgrupe: (1) sisteme pe bază de laser, (2) sisteme pe bază de imprimare, și (3) sisteme pe bază de extrudare [S. J. Hollister, *Nat. Mater.*, 4, (2005), 518-524, S. M. Giannitelli, P. Mozetic, M. Trombetta, A. Rainer, *Acta Biomaterialia* 24 (2015), pp. 1-11]. 15 17

În prezent, conform standardului ISO/ASTM52900-15, există șapte categorii de procese tip ALM: Binder Jetting, Directed Energy Deposition, Material Extrusion, Material Jetting, Powder Bed Fusion, Sheet Lamination și Vat Photopolymerization. 19

Diferite tehnici Rapid Prototyping (RP), cum ar fi selective laser sintering (SLS) [Duan B., Wang M., Zhou W. Y., Cheung W. L., Li Z. Y., Lu W. W. *Acta Biomater* 2010;6, pag. 4495-505, Tan K. H., Chua C. K., Leong K. F., Cheah C. M., Cheang P., Abu Bakar M. S., et al. *Biomaterials*, 2003;24:3115-23], fused deposition modelling (FDM) [Yefang Z., Hutmacher D. W., Varawan S. L., Meng L. T., *Int J Oral Max Surg* 2007;36:137-45] și precision extrusion deposition (PED)[Shor L., Guceri S., Wen X. J., Gandhi M., Sun W. *Biomaterials* 2007;28:5291-5297], au fost utilizate pentru fabricarea compozitelor prin 21 23 25 27

combinarea polimerilor ca poli (hidroxibutirat-co-hidroxivalerat), poli(L-lactidă) (PLLA) și policaprolactonă (PCL), cu diferite faze de fosfat de calciu, cum ar fi hidroxiapatita carbonată, hidroxiapatită și β -fosfat tricalcic [A. Nandakumar, C. Cruz, A. Mentink, Z. T. Birgani, L.Moroni, C. van Blitterswijk, P. Habibovic, *Acta Biomaterialia* 9 (2013), pp. 5708-5717]. 29 31

Denumită și "Bioprinting prin extruziune", bioprintarea poate fi definită ca o metodă spațială de depunere stratificată a unui material biologic (sau suport pentru materialul biologic), pe baza 33

unui model computerizat, strat-cu-strat, cu ajutorul unui sistem CAD-CAM. Structura modelului computerizat poate fi modificată și rearanjată odată cu trecerea fiecărui strat, astfel încât să se 35

obțină un model final complex ce imită structura tisulară. Versatilitatea tehnologiei permite adoptarea unui număr nelimitat de combinații de materiale în vederea extruziunii, în acest mod 37

asigurându-se posibilitatea dezvoltării de modele tridimensionale unice, adaptate de la caz la caz. Tehnologia de bioprinting prin extruziune este o combinație între un sistem robotic 39

automatizat, controlat de un software, și un sistem de distribuție prin extruziune a materialului în structura 3D personalizată. Acest procedeu asigură rapiditate, dar și integritate structurală 41

datorată sistemului de depunere continuă computerizată. Modelele 3D pot fi obținute, generate, importate și exportate de pe orice sistem CAD, inclusiv pe baza datelor obținute din sisteme de 43

imagistică medicală de tip CT-computer tomograf și/sau RMN-Rezonanță Magnetică Nucleară. Spre deosebire de alte procedee de fabricație aditivă, bioprintingul prin extruziune nu necesită 45

cantități mari de energie, și este o metodă prietenoasă cu mediul.

RO 132753 B1

1 Tehnica 3D printing a fost utilizată pentru fabricarea unor structuri 3D de tip scaffold, pe
bază de hidroxiapatită și diferiți polimeri organici, precum copolimerul poli(L-lactidă-co-glicolidă)
3 (PLGA) [T. D. Roy, J. L. Simon, J. L. Ricci, E. D. Rekow, V. P. Thompson, J. R. Parsons,
J. Biomed.Mater. Res. A 66A, (2003), 283-291], alcoolul polivinilic (APV) [S. C. Cox, J. A.
5 Thornby, G. J. Gibbons, M. A. Williams, K. K. Mallick, Materials Science and Engineering
C, 47, (2015), 237-24], colagen [J. A. Inzana, D. Olvera, S. M. Fuller, J. P. Kelly, O. A.
7 Graeve, E. M. Schwarz, S. L. Kates, H. A. Awad, Biomaterials 35, (2014), pp. 4026-4034],
polimerul comercial PEO/PBT [A. Nandakumar, C. Cruz, A. Mentink, Z. T. Birgani, L. Moroni,
9 C. van Blitterswijk, P. Habibovic, Acta Biomaterialia 9 (2013), 5708-5717]. Combinațiile care
necesită utilizarea de solvenți organici ca liant, de exemplu, PLGA și β -TCP legat cu cloroform
11 [T. D. Roy, J. L. Simon, J. L. Ricci, E. D. Rekow, V. P. Thompson, J. R. Parsons, J.
Biomed.Mater. Res. A 66A, (2003), pp. 283-291], prezintă un dezavantaj intrinsec deoarece
13 există întotdeauna riscul de a găsi reziduuri toxice de solvent în structura 3D [A. Butscher, M.
Bohner, S. Hofmann, L. Gauckler, R. Müller, Acta Biomaterialia, 7, (2011), 907-920].

15 Pentru a obține structuri de fosfat de calciu cât mai rigide și robuste prin 3D printing,
s-au utilizat lianți de tipul acid citric, acid fosforic, acid tartaric, însă această metodă s-a dovedit
17 a fi dezavantajoasă pentru ingineria țesuturilor. Zhou și colab au utilizat un amestec de
hidroxiapatită cu sulfat de calciu, raport HAp:CaSO₄ = 25:75 (procente de greutate), pentru
19 fabricarea scaffoldurilor prin 3D printing. Într-un studiu recent, J. Inzana și colab. au obținut un
scaffold din material compozit pe bază de fosfat de calciu și colagen, prin metoda 3D printing
21 la temperaturi joase. În acest scop, s-a utilizat ca liant acid fosforic în proporție de 5...20%, iar
Tween 80 a fost adăugat ca surfactant non-citotoxic în proporție de 0,25% în soluția de liant.
23 S-a stabilit concentrația optimă a soluției de liant (8,75%) pentru care citocompatibilitatea și
rezistența mecanică sunt maximizate, și cantitatea necesară de surfactant (Tween 80) pentru
25 îmbunătățirea printării. De asemenea, colagenul a fost dizolvat în prealabil în soluția de liant,
pentru a îmbunătăți și mai mult fabricarea compozitelor fosfat de calciu-colagen prin 3D printing.
27 În 2013, A. Nandakumar și colab. au raportat obținerea a două tipuri de scaffold pe bază de
compozit polimer-hidroxiapatită, prin depunere 3D cu ajutorul unui Bioplotter. S-a utilizat
29 PolyActive™ (PA), un copolimer comercial de poli(etilen-oxid-tereftalat)/poli(butilen-tereftalat)
(PEO/PBT).

31 În prima variantă, s-au extrudat filamente compozite polimer-ceramică având raportul
de masă dorit (maximum 15% HAp). Acestea au fost utilizate ca material pentru fabricarea
33 scaffoldului cu ajutorul Bioplotterului. În cea de-a doua variantă, s-au obținut scaffolduri de
polimer prin depunere 3D, în timp ce particulele ceramice au fost fabricate sub formă de
35 coloane, prin sinterizarea pastei ceramice cu ajutorul stereolitografiei. Cele două componente
au fost apoi asamblate manual prin presarea HAp în porii scaffoldului polimer, creând astfel
37 materialul compozit. Această metodă de depunere 3D cu ajutorul Bioplotterului permite
fabricarea scaffoldurilor cu controlul porozității, dimensiunii porilor, interconectivității și orientării
39 fibrelor între straturile succesive (la 45 sau 90°). Metoda a fost utilizată cu succes pentru
fabricarea scaffoldurilor polimerice pentru ingineria țesuturilor (cartilaj și defecte osteo-
41 cartilaginoase) [Woodfield TBF, Malda J., de Wijn J., Peters F., Riesle J., van Blitterswijk
C. A., Biomaterials 2004; vol. 25: pp. 4149-4161]. Deși este o tehnică foarte versatilă, fabri-
43 carea scaffoldurilor din compozite polimer-ceramice este dificilă, din cauza viscozității ridicate
a pastei polimer-ceramice, care poate duce la înfundarea duzelor. Pe lângă afectarea procesu-
45 lui de fabricare și prelucrabilitate, aceste fenomene limitează cantitatea de ceramică ce poate
fi încorporată în scaffold, deși aceasta determină osteoconductivitatea și osteoinductivitatea
47 materialelor compozite.

RO 132753 B1

Spre deosebire de compozițiile prezentate anterior, pentru depunerea structurilor de tip scaffold prin 3D printing, în care hidroxiapatita și polimerul organic sunt sintetizate separat, sau de proveniență comercială, și apoi amestecate cu un liant în vederea obținerii pastei pentru printare prin extruziune, prezenta invenție se referă la obținerea structurilor tridimensionale pornind de la pulberi hibride nanostructurate, pe bază de hidroxiapatită și poliuretan-diol, sintetizate *in situ* hidrotermal, în condiții de presiuni înalte (1000 bar) și temperaturi joase (100°C), uscate cu ajutorul spray dryer-ului.

Problema tehnică pe care urmărește să o rezolve invenția, așa cum reiese din prezentarea descrierii și a revendicării, constă în realizarea unor structuri tridimensionale prin tehnica 3D printing, pornind de la pulberi hibride nanostructurate, pe bază de hidroxiapatită și poliuretan-diol cu structură chimică omogenă și morfologie controlată printr-un procedeu hidrotermal simplu.

Avantajele procedurii de sinteză hidrotermală la presiuni înalte și temperaturi joase constau în:

- consum scăzut de energie, prin aplicarea presiunii foarte mari (energia consumată pentru a crește temperatura cu 5 unități este egală cu cea necesară pentru a crește presiunea cu 4000 de unități în sistem);

- valoarea negativă a ΔV ($\Delta V = \sum(V/Z)(j) - \sum(V/Z)(i)$, unde i = reactant și j = produs de reacție); deplasarea echilibrului chimic către compuși cu cel mai mic volum;

- îmbunătățirea reactivității chimice;

- sinteza într-o singură etapă a materialelor nanocristaline, fără necesitatea unui tratament termic ulterior;

- păstrarea structurii nealterate a polimerului, datorită temperaturii joase de reacție (100°C);

- tehnologie prietenoasă cu mediul, ecologică, în autoclavă închisă, fără degajarea unor compuși toxici.

Obținerea structurilor tridimensionale pe bază de hidroxiapatită și poliuretan-diol, conform invenției, se referă la tehnica 3D printing la temperatura camerei, utilizând ca lianți polimeri comerciali solubili în apă. Structurile 3D astfel obținute pot fi utilizate la fabricarea implanturilor oculare cu porozitate interconectată, necesară vascularizării acestora.

Prin aplicarea invenției, se înlătură dezavantajele materialelor utilizate anterior pentru obținerea pastei, prin aceea că materialele propuse sunt constituite din hidroxiapatită și poliuretan-diol într-un raport de greutate de 4:1, iar particulele sunt sferice, având diametrul de 0,5...8 μm . Datorită acestui raport de greutate și polimerilor comerciali utilizați ca lianți, cantitatea totală de hidroxiapatită încorporată în scaffold nu este atât de mare încât să determine înfundarea duzelor. Încorporarea poliuretanului încă din timpul sintezei, și uscarea cu ajutorul spray-dryer-ului favorizează extruziunea pastei și formarea unei structuri 3D rigide, cu duritatea necesară aplicației medicale (implant ocular fixat cu șuruburi de titan).

Figurile atașate prezintă micrografiile SEM ale unei pulberi hibride pe bază de hidroxiapatită și poliuretan-diol, având raportul de greutate 4:1.

Pentru realizarea structurilor 3D conform invenției, se poate utiliza poliuretan-diol comercial în sinteza hidrotermală a pulberilor hibride. Procesul de sinteză a pulberilor nanostructurate hibride are loc în condiții hidrotermale, la temperaturi cuprinse între 25 și 120°C (de preferință 80...100°C) și presiuni în intervalul 1000...3000 bar (de preferință 1000-2000 bar). Materialul hibrid astfel obținut se usucă în spray-dryer la temperaturi cuprinse între 100 și 300°C (de preferință 100...150°C). Pulberea rezultată se amestecă mecanic cu lianți comerciali (Mowiflex și Baymedix FD 103), în proporții bine definite, pentru obținerea unei paste ce poate fi utilizată ulterior, pentru depunere 3D printing prin extruziune cu ajutorul sistemului BioScaffolder.

RO 132753 B1

1 Se prezintă, în continuare, două exemple nelimitative de realizare a invenției, fără ca
acestea să limiteze utilizarea acestui procedeu în domeniul tehnic propus.

3 **Exemplul 1**

5 Se amestecă 5 g pulbere hibridă nanostructurată pe bază de hidroxiapatită (HAp) și
poliuretan diol (PU) (având raportul de greutate Hap:PU = 4:1) cu 8,8 ml Mowiflex soluție 20%,
și 0,5 ml Baymedix FD 103, soluție 57%. Se depune pe un suport de plexiglas, cu ajutorul
7 sistemului 3D BioScaffolder, un cub cu latura de 2 cm, utilizând o duză cu diametrul 0,4 mm,
lungimea duzei 31 mm și grosimea stratului 80% din diametrul duzei. Unghiul de rotație între
9 două straturi succesive este de 90°, și distanța între firele extrudate este de 1,3 mm. Viteza de
deplasare a capului de depunere este de 400 mm/min.

11 **Exemplul 2**

13 Se amestecă 5 g pulbere hibridă nanostructurată, pe bază de hidroxiapatită (HAp) și
poliuretan-diol (PU) (având raportul de greutate Hap:PU = 4:1) cu 8,8 ml Mowiflex soluție 20%.
Se depune pe un suport de plexiglas, cu ajutorul sistemului 3D BioScaffolder, un cub cu latura
15 de 2,5 cm, utilizând o duză cu diametrul 0,8 mm, lungimea duzei 31 mm și grosimea stratului
80% din diametrul duzei. Unghiul de rotație între două straturi succesive este de 90°, și distanța
17 între firele extrudate este de 1,3 mm. Viteza de deplasare a capului de depunere este de
400 mm/min.

RO 132753 B1

Revendicare

1

Structuri tridimensionale, pe bază de hidroxiapatită și poliuretan-diol, realizate prin tehnica 3D printing, **caracterizate prin aceea că** sunt constituite dintr-un amestec de pulberi hibride nanostructurate, pe bază de hidroxiapatită și poliuretan-diol, într-un raport în greutate hidroxiapatită:poliuretan-diol de 4:1, sub formă de particule sferice, cu diametrul de 0,5...8 μm , cu lianți uzuali, rezultând o pastă utilizată pentru depunerea pe un suport cu un echipament 3D, prin extruziune, sub formă de cub cu latura de 2...2,5 cm. 3 5 7

(51) Int.Cl.

A61L 27/12^(2006.01);

A61L 27/50^(2006.01)

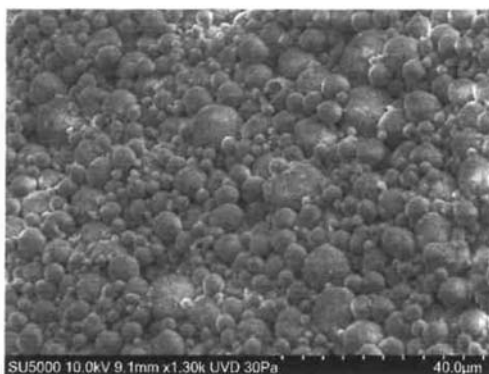


Fig. 1

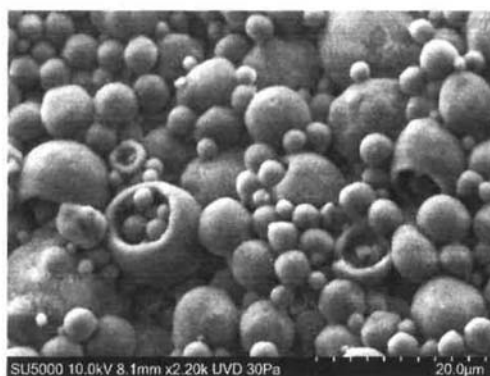


Fig. 2

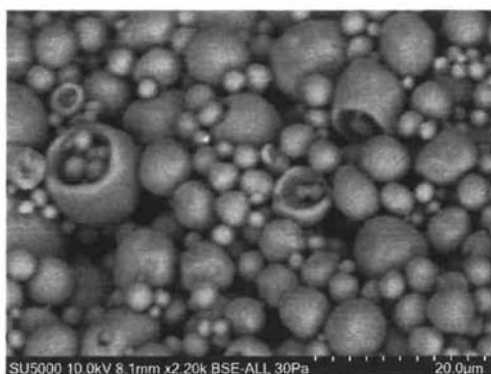


Fig. 3



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 197/2019