(19) OFICIUL DE STAT
PENTRU INVENŢII ŞI MĂRCI
Bucureşti

ROMÂNIA

(11) RO 133124 A2
(51) Int.Cl.
*A61K 6/033* (2006.01);
*A61L 27/12* (2006.01)

(12) **CERERE DE BREVET DE INVENŢIE**

(21) Nr. cerere: **a 2017 00529**

(22) Data de depozit: **31/07/2017**

(41) Data publicării cererii:
**29/03/2019** BOPI nr. **3/2019**

(71) Solicitant:
• **UNIVERSITATEA "BABEŞ-BOLYAI" DIN CLUJ-NAPOCA**, *STR.MIHAIL KOGĂLNICEANU NR.1, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;*
• **UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ŞI FARMACIE "IULIU HAŢIEGANU" CLUJ-NAPOCA**, *STR. VICTOR BABEŞ NR. 8, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO*

(72) Inventatori:
• **TOMOAIA-COTISEL MARIA**, *STR.TIMIŞULUI NR.75, BL.T 2, AP.5, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;*
• **MOCANU AURORA**, *STR.LOUIS PASTEUR NR.40, BL IX R, SC.2, AP.19, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;*
• **POP ALEXANDRU**, *STR.ISLAZULUI NR.4, BL.A 1, SC.2, ET.1, AP.38, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;*
• **GARBO CORINA LĂCRĂMIOARA**, *STR.TRAIAN, NR.15, AP.3, TURDA, CJ, RO;*
• **BUD MARIUS GHEORGHE**, *STR. DONATH, NR. 188, AP. 27, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;*
• **TOMOAIA GHEORGHE**, *STR.SCORŢARILOR NR.1, BL.D5, AP.5, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;*
• **ROMAN CECILIA**, *PIAŢA ABATOR, BL.B, AP.5, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;*
• **CADAR OANA**, *STR.MIGDALULUI NR.14, AP.20, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;*
• **RACZ CSABA-PAL**, *STR.BECAS, NR.11 B, AP.12, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO*

(54) **PROCEDEE DE FABRICARE A UNOR MATERIALE INOVATIVE, PE BAZĂ DE HIDROXIAPATITE MULTISUBSTITUITE, UTILIZATE ÎN SCOPURI STOMATOLOGICE**

(57) **Rezumat:**

Invenţia se referă la nanomateriale pe bază de hidroxiapatită (HAP) şi derivaţi de hidroxiapatită, utilizate în stomatologia restaurativă, şi la un procedeu pentru obţinerea acestora. Nanomaterialele conform invenţiei conţin, în procente masice, 0,15...5% Mg, 0,01...20% $Zn^{2+}$, 1...40% $Sr^{2+}$, 0,1...4% Si, fiind sub formă de suspensii sau nanopulberi cu structură cristalină, formată dintr-o singură fază corespunzătoarea HAP, cu dimensiuni ale cristalitelor de 5...50 nm şi a particulelor de 15...70 nm. Procedeul conform invenţiei constă în precipitarea chimică, în condiţii de amestecare foarte rapidă, a reactanţilor la temperatura de 2...25°C, maturarea la temperatura de 70...120°C, timp de maturare 8...24 h, adăugarea de 0,01...2% faţă de HAP surfactanţi uzuali, după care turta de precipitat este uscată, mărunţită şi, eventual, calcinată.

Revendicări: 9
Figuri: 17

*Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecţia conferită potrivit dispoziţiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepţia cazurilor în care cererea de brevet de invenţie a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecţiei conferite de cererea de brevet de invenţie este determinată de revendicările conţinute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).*

RO 133124 A2

Cerere de brevet de invenție
Nr. a 2017 00529
Data depozit 31.07.2017



# Procedee de fabricare a unor materiale inovative, pe baza de hidroxiapatite multisubstituite utilizate in scopuri stomatologice

Inventia se refera la o noua clasa de nanomateriale pe baza de hidroxiapatita (HAP), hidroxiapatita multisubstituita, avand activitate biologica marita, utilizate in scopuri biomedicale in: stomatologie. Inventia se refera la procedee de fabricare a nanomaterialelor.

Hidroxiapatita (HAP, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$), component de baza al partii anorganice a dintilor (smalt, dentina), este un material fara toxicitate, cu bune proprietati in ceea ce priveste bioactivitatea, compatibilitatea si aderenta cu tesuturi vii, motiv pentru care este frecvent utilizata in scopuri biomedicale.

Necesitatile practice impun materiale cu proprietati specifice care sa raspunda cat mai bine scopului urmarit, cum ar fi implante dentare, ciment endodontic, paste pentru remineralizarea smaltului dentar si prevenirea cariilor, paste sau dispersii pentru tratamentul hipersensibilitatii dentare si prevenirea gingivitei. Ca urmare, propunerea are in vedere elaborarea de noi materiale, precum si a metodelor avansate de preparare a acestora.

Proprietatile biomedicale ale hidroxiapatitei pot fi substantial imbunatatite prin modificarea compozitiei chimice si a structurii morfologice, care se realizeaza prin controlul parametrilor de reactie si a parametrilor de procesare prin maturarea suspensiilor de HAP obtinute, precum si a parametrilor pentru tratamentul ulterior al produselor, si anume uscarea prin liofilizare si tratamentul termic prin calcinare. Modificarile în compozitia chimica si morfologia produsilor, corelate cu proprietatile biologice, sunt favorizate de capacitatea hidroxiapatitei de a accepta cu usurinta in reteaua ei cristalina substituenti, atat pentru ionii de $Ca^{2+}$ cat si pentru cei de $PO_4^{3-}$. Capacitatea HAP de a adsorbi pe suprafata sau a include in structura ei diferiti ioni, faciliteaza prepararea nanomaterialelor cu activitate biologica sporita.

Pentru ca nanomaterialele sintetizate sa corespunda scopurilor urmarite, ele trebuie sa indeplineasca anumite conditii, printre care: sa fie formate din nanoparticule de forma si dimensiune controlata, sa posede un anumit grad de cristalinitate si o anumita porozitate specifica, sa nu fie toxice, sa fie bioactive si biocompatibile, asigurandu-se astfel o eficienta integrare a acestora in tesuturile biologice, fara sa provoace reactii si fenomene de respingere. Eliberarea ionilor substituenti din structura HAP trebuie sa confere abilitate sporita de stimulare a celulelor formatoare de os si sa asigure cresterea tesutului osos, mai ales pentru

interventiile maxilo faciale, precum si pentru refacerea alveolei dentare, remineralizarea smaltului, repararea dentinei si a radacinii dentare.

Desi ionii substituenti intra in proportie mica in structura HAP, prezenta lor confera materialelor proprietati biologice, fiziologice si mecanice specifice, astfel incat in final se realizeaza structura si biochimia osului natural. Este de dorit ca prin natura lor ionii substituenti din structura HAP sa confere materialelor proprietati biologice favorabile, asigurandu-se o viteza sporita de regenerare a tesutului osos la parametrii fizico-chimici ai osului natural, ceea ce determina reducerea perioadei de refacere a pacientilor, in conditiile micsorarii probabilitatii de infectie.

Sunt cunoscute biomateriale pe baza de HAP in care ionii de $Ca^{2+}$ sunt partial substituiti cu cei de $Mg^{2+}$, $Zn^{2+}$, sau $Sr^{2+}$, iar ionii de $PO_4^{3-}$ sunt substituiti partialcu $SiO_4^{4-}$, iar $OH^-$ cu $F^-$. Se obtine si HAP partial carbonatata, continand ioni $CO_3^{2-}$ .

Prezenta ionilor de $Mg^{2+}$ in structura HAP confera acesteia o mai mare solubilitate accelerandu-se astfel procesul de integrare si regenerare a osului natural. Lipsa ionilor de $Mg^{2+}$ din structura HAP afecteaza procesele fiziologice din metabolismul osos prin faptul ca provoaca fragilitate. Exista totusi o limita superioara a raportului molar $Mg^{2+}$:$Ca^{2+}$ care nu trebuie sa depaseasca valoarea $Mg^{2+}$ : $Ca^{2+}$ = 0,25 : 1 pentru a mentine structura HAP.

Un element esential in compozitia hidroxiapatitei este zincul. Ionii $Zn^{2+}$ se regasesc in compozitia HAP biologic in proportie de 0,01 ÷ 0,02% gr. si au efect stimulator asupra formarii tesutului osos si un efect antiinflamator. Mai mult, prezenta ionilor de zinc in masa de reactie in timpul operatiei de precipitare determina inhibarea procesului de crestere a cristalitelor, prin aceea ca clusterii de fosfat de zinc formati se adsorb la suprafata cristalitelor, blocand astfel depunerea ionilor de $Ca^{2+}$ si $PO_4^{3-}$ si implicit cresterea lor.

Ionii de $Sr^{2+}$ aduc un aport esential in dezvoltarea sistemului osos, stimuland activitatea osteoblastelor, celule formatoare de tesut osos; un alt efect benefic consta in refacerea smaltului dentar. De asemenea, au un efect antibacterian.

Un rol foarte important in structura tesutului osos il joaca ionii de $SiO_4^{4-}$. Substitutia partiala a ionilor $PO_4^{3-}$ cu $SiO_4^{4-}$ determina formarea legaturilor siloxan –O–Si–O– ceea ce conduce la un material cu o suprafata specifica si porozitate mare, creandu-se astfel conditii optime de proliferare si crestere a osteoblastelor si refacerea sistemului osos maxilar. In plus, prezenta ionilor de $SiO_4^{4-}$ in compozitia HAP determina formarea unui numar mare de grupari silanol –Si–OH ceea ce, coroborat cu porozitatea ridicata a materialului, conduce la o

intensificare a proceselor biologice, prin care se dezvolta matricea organica a tesutului osos. Totodata, prin intermediul gruparilor $OH^-$ de pe suprafata materialului se realizeaza si o buna adeziune celulara a HAP cu partea organica a osului.

Cu toate ca exista o gama larga de biomateriale destinate aplicatiilor medicale pentru refacerea tesuturilor osoase, totusi continua cercetarile in directia elaborarii de noi biomateriale nanostructurate de compozitie controlata, precum si pentru perfectionarea procedeelor de fabricatie, care in final sa conduca la produse cu proprietati identice sau cat mai apropiate osului natural: scara „nano" a materialului, cristalinitate ridicata, buna adeziune si biocompatibilitate cu tesuturile vii, precum si lipsa citotoxicitatii.

**Sinteza HAP** se realizeaza curent dupa procedee ce pot fi impartite in trei mari grupe: a) metoda precipitarii, b) metoda sol-gel, sau c) reactie in faza solida. Datorita multiplelor avantaje, metoda precipitarii este cea mai des utilizata si ca urmare aceasta cale de preparare este de cea mai mare perspectiva, intrucat utilizeaza reactivi ieftini, usor accesibili: o sare solubila de $Ca^{2+}$ (azotat, acetat), iar ca sursa de ioni $PO_4^{3-}$ se folosesc saruri solubile ale acidului ortofosforic (fosfati de amoniu, sodiu sau potasiu). Sinteza se realizeaza la un pH de 9,5 ÷ 12 al mediului de reactie ce poate fi realizat prin adaos de solutii de amoniac, hidroxid de sodiu sau de potasiu.

Metoda precipitarii, desi larg raspandita, prezinta multiple dezavantaje care deriva in principal din modul defectuos de contactare a reactantilor, ceea ce are ca rezultat formarea unui material polifazic format din fosfatii prezentati in Tabelul 1, compusi care ulterior sunt foarte greu sau chiar imposibil de a mai fi transformati in HAP.

Un rol hotarator in procesul de cristalizare, implicit cel de obtinere a nanomaterialelor, il joaca fenomenele de nucleatie si de crestere a cristalelor. Marimea finala a particulelor si forma cristalitelor este in stransa legatura, atat cu raportul dintre viteza de nucleatie si de crestere a cristalitelor, cat si cu prezenta surfactantilor, in procesul tehnologic utilizat.

Atat viteza de nucleatie cat si cea de crestere a cristalitelor depind in mod hotarator de gradul de suprasaturare al solutiei in componentul ce ia nastere, precum si de temperatura la care are loc reactia chimica. Vitezele celor doua procese, de nucleatie si crestere a cristalitelor, se desfasoara dupa legitati si viteze diferite in functie de parametrii de lucru. Acesta este motivul pentru care temperatura in timpul reactiei de precipitare joaca un rol determinant asupra marimii finale a cristalitelor, care se asociaza in particule si vor determina gradul de cristalinitate al produsului de reactie.

Prin metodele actuale de preparare nu pot fi controlate vitezele celor doua procese elementare: nucleatia si cresterea cristalitelor. Solubilitatea foarte mica a produsilor de reactie (Tabelul 1) determina grade de suprasaturare mari, de ordinul $\gamma > 10^5$, ceea ce face ca viteza de nucleatie sa depaseasca mult viteza de crestere a cristalitelor. Se creeaza astfel conditiile pentru formarea unui mare numar de germeni cu raza r mai mica decat raza critica $r < r_{cr}$, germeni care sunt instabili din punct de vedere termodinamic si care in timpul operatiilor ulterioare de maturare si spalare se dizolva depunandu-se pe cristalitele cu $r > r_{cr}$ care astfel cresc. Un dezavantaj al actualelor procedee de preparare a nanoparticulelor de HAP deriva din modul defectuos de contactare a reactantilor care se face in regim discontinuu prin adaugarea solutiei ce contine ionii $PO_4^{3-}$ peste cea care contine ionii $Me^{2+}$ ceea ce determina ca raportul $Ca^{2+}:PO_4^{3-}$ in masa de reactie sa varieze continuu, aflandu-se tot timpul in afara raportului molar stoechiometric $Ca^{2+}:PO_4^{3-} = 1,67$. Prin metodele actuale de preparare rezulta materiale care nu corespund calitativ, atat din punct de vedere a compozitiei chimice cat si fazale a cristalitelor: marime la scara "nano" a cristalitelor si structura omogena.

Problemele tehnice pe care le rezolva inventia se refera la:

- Elaborarea de noi sorturi de nanomateriale pe baza de HAP si HAP multisubstituita in care ionii $PO_4^{3-}$ sunt partial inlocuiti cu $SiO_4^{4-}$ iar cei de $Ca^{2+}$ partial inlocuiti cu $Mg^{2+}$, $Zn^{2+}$, $Sr^{2+}$;

- Procedee de preparare si obtinere a acestor nanomateriale.

Prezenta ionilor substituenti in structura HAP determina obtinerea unor nanomateriale care catalizeaza procesele biologice prin care nutrientii sunt transformati in produsii specifici tesutului osos Introducerea ionilor de $Sr^{2+}$ in compozitia nanomaterialelor pe baza de HAP, alaturi de $Mg^{2+}$, $Zn^{2+}$ permite obtinerea de materiale utilizabile in stomatologie, cu efect in prevenirea cariilor, in diminuarea durerilor gingivale si refacerea smaltului dentar. Factorul determinant privind rolul $Sr^{2+}$ in structura osului il constituie inhibarea procesului de resorbtie, prin aceasta reducandu-se substantial fenomenul de osteoporoza.

Conform inventiei, nanomaterialele utilizate in scopuri biomedicale sunt formate din HAP, HAP multisubstituita in care ionii de $Ca^{2+}$ sunt partial inlocuiti cu $Mg^{2+}$, $Zn^{2+}$, $Sr^{2+}$ iar cei de $PO_4^{3-}$ cu $SiO_4^{4-}$. Aceste biomateriale contin 0,15 ÷ 5 % gr. Mg; 0,01 ÷ 20% gr. $Zn^{2+}$; 1 ÷ 40% gr. $Sr^{2+}$; 0,1 ÷ 4% gr. Si. Nanomaterialele rezultate se prezinta sub forma de suspensii sau nanopulberi cu structura cristalina formate dintr-o singura faza. cea

corespunzatoare HAP, cu dimensiuni ale cristalitelor 5 ÷ 50 nm iar cea a particulelor de 15 ÷ 70 nm.

Procedeul de preparare a nanomaterialelor pe baza de HAP partial substituita cu ioni de $Mg^{2+}$, $Zn^{2+}$, $Sr^{2+}$, $SiO_4^{4-}$ si $CO_3^{2-}$ conform inventiei, consta in precipitarea chimica in conditii de amestecare foarte rapida a reactantilor, in raportul molar stoechiometric corespunzator structurii de HAP: $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, adica $Ca^{2+}$ / $PO_4^{3-}$ = 5/3.

In acest scop se utilizeaza un sistem de contactare a reactantilor intr-un tip de reactor la care fluxurile cu cele doua solutii, cu cationi si anioni, se ciocnesc sub forma de jeturi, intr-un tub in forma de „Y" sau „T", (figura 1a, figura 1b), ceea ce asigura formarea amestecului de reactie la raportul $M_e^{2+}$ : $PO_4^{3-}$ = 1,67 intr-un timp foarte scurt: 0,05 ÷ 1 sec, de preferinta 0,1 ÷ 0,5 sec. Viteza de amestecare a reactantilor mai mare decat viteza de nucleatie asigura conditiile formarii amestecului la raportul stoechiometric corespunzator HAP in tot volumul masei de reactie rezultand astfel un produs unitar lipsit de fosfatii tetra sau octacalcic, produsi posibil a se forma in conditiile de lucru. produsi care ulterior cu greu sau chiar imposibil mai pot fi transformati in HAP.

Marimea si forma cristalitelor produsului obtinut sunt controlate prin intermediul parametrilor de lucru la care se realizeaza reactia de precipitare: temperatura de preferinta -2 ÷ 25°C; temperatura si durata maturarii aplicate 70 ÷ 120°C de preferinta 80 ÷100°C timp de 8-24 ore, precum si prin intermediul surfactantilor adaugati in masa de reactie (asparagina, nonilfenol etc.), in proportie de 0,01 ÷ 2%, de preferinta 0,5 ÷ 1% fata de HAP.

Conform inventiei sunt inlaturate dezavantajele materialelor existente prin aceea ca elementele substituente se regasesc in nanomaterial in procente de masa de: Mg 0,15 ÷ 5, Zn 0,01 ÷ 20, Sr 1 ÷ 40, Si 0,1 ÷ 4.

**Procedeul de fabricare** a nanomaterialelor pe baza de HAP multisubstituita, conform inventiei, consta in efectuarea reactiei de precipitare intr-un reactor (figura 1) la care contactarea reactantilor se face prin ciocnirea frontala a celor doua fluxuri materiale, solutia A respectiv solutia B, la concentratii si debite astfel calculate incat ionii sa se regaseasca in proportia stoechiometrica a materialului dorit. Solutia A contine cationii sub forma de saruri $M_eA_2$, in care $A^{1-}$ reprezinta unul din anionii: $NO_3^-$ , $CH_3-COO^-$, cu concentratie cuprinsa in intervalul 0,05 ÷ 0,74M, de preferinta 0,1 ÷ 0,35M; solutia B contine ionii $PO_4^{3-}$ cu concentratia 0,02 ÷ 0,35M, de preferinta 0,1 ÷ 0,13M, alaturi de care se regasesc precursori ai ionilor $SiO_4^{4-}$ , care sa asigure o proportie de 0,1÷4% gr. Si din materialul final rezultat.

Controlul procesului de nucleatie si crestere a cristalitelor se face prin intermediul temperaturii celor doua fluxuri in etapa de contactare a reactantilor care este cuprinsa intre -2 ÷ 25°C, durata si temperatura in timpul maturarii care variaza intre 8 ÷ 72 ore, de preferinta 12 ÷ 18 ore, respectiv 50 ÷ 120°C, de preferinta 70 ÷ 80°C. Formarea altor faze alcatuite din fosfati tri, tetra si octacalcici este evitata datorita timpului foarte scurt pentru amestecarea in proportie stoechiometrica a reactantilor, care variaza in limitele 0,05 ÷ 1 sec, de preferinta 0,1 ÷ 0,55 sec precum si prin intermediul pH-ului celor doua fluxuri: pH = 6,5 ÷ 9,5 pentru solutia cu ionii de $Ca^{2+}$ si pH = 10 ÷ 11,5 pentru solutia ce contine ionii de $PO_4^{3-}$.

Conform inventiei, agregarea cristalitelor si aglomerarea particulelor in timpul operatiei de uscare se evita prin racirea brusca cu azot lichid la temperatura –70 ÷ -100°C a turtei de precipitat rezultate dupa spalare, iar apa ramasa in precipitat este eliminata prin refiltrare rezultand o turta cu umiditatea 20÷80%, care se elimina prin liofilizare la t = –30 ÷ -50°C si presiunea (5 ÷ 25) · $10^{-3}$ torr (0.67 - 3.33 Pa).

In continuare se dau exemple de realizare a inventiei.

**Exemplul 1**

Intr-un vas de 5 litri se prepara o solutie cu concentratia 0,25M ce contine ionii: $Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$, $Zn^{2+}$, $Sr^{2+}$ in raport molar: $Ca^{2+}$: $Mg^{2+}$ = 1 : 0,15; $Ca^{2+}$ : $Zn^{2+}$ = 1 : 0,005; $Ca^{2+}$ : $Sr^{2+}$ = 1 : 0,04 (solutia A).

Separat se prepara solutia B (5 L) continand fosfat diamoniacal $(NH_4)_2HPO_4$ cu concentratia 0,15M, al carei pH este adus in limitele 10,5 ÷ 11,5 prin adaugare de amoniac, solutie de 25%. Drept sursa pentru ionii de $SiO_4^{4-}$ s-a utilizat 2,6g TEOS (tetraetoxisilan) diluat in prealabil in 0,1 litri alcool (metilic, etilic sau propilic). Dupa diluare in alcool, solutia TEOS a fost introdusa in 0,25 litri apa distilata, apoi amestecata cu solutia de fosfat de amoniu. In alt vas s-au dizolvat 0,5 g asparagina in 0,25 litri apa distilata. Dupa dizolvarea completa a asparaginei, solutia rezultata a fost introdusa peste solutia de fosfat de amoniu, amoniac, TEOS, rezultand in final 5 L de solutie B.

Solutiile astfel preparate, cea care contine ionii metalici respectiv cea cu ionii de $PO_4^{3-}$ si $SiO_4^{4-}$ au fost aduse in contact sub forma a doua jeturi care s-au ciocnit frontal intr-un reactor in forma de tub „Y" (figura 1) asigurandu-se astfel o amestecare foarte rapida, 0,1 ÷ 0,5 secunde. Proportia stoechiometrica a reactantilor s-a realizat utilizand debite egale ale fluxurilor dar concentratii diferite. Temperaturile celor doua fluxuri au fost aceleasi 20 ÷ 25°C. Suspensia formata a fost colectata intr-un reactor prevazut cu agitator si manta de

incalzire in vederea maturarii, care s-a realizat in doua etape: 24 ore la temperatura camerei si 8 ore la temperatura de 60 – 70 °C. Dupa maturare, suspensia rezultata a fost filtrata pe palnie Büchner iar precipitatul de HAP a fost spalat cu apa distilata pana la lipsa din filtrat a ionilor $NO_3^-$. Turta de precipitat obtinuta dupa spalare a fost racita brusc cu azot lichid, apoi dezghetata si refiltrata. Materialul astfel preparat a fost liofolizat $(5 \div 25) \cdot 10^{-3}$ torr (0.67 - 3.33 Pa) si temperatura de -35 ÷ -45 °C pana ce intreaga cantitate de apa a fost eliminata.

Materialul a fost maruntit (dezintegrat) intr-un mojar de agat.

Rezulta un material pulverulent de culoare alba care dupa calcinare timp de 8 ore la temperatura 850°C are caracteristicile din Tabel 2 confirmate de spectrul FTIR (figura 2), difractograma XRD (figura 3).

Pulberea cu caracteristicile indicate este destinata acoperirilor in plasma, cu un strat aderent de HAP multisubstituita, a implantelor stomatologice din titan.

**Exemplul 2**

Intr-un vas de 5 litri se prepara o solutie cu concentratia 0,25M ce contine ioni de $Ca^{2+}$ si $Sr^{2+}$ in raport molar $Ca^{2+} : Sr^{2+} = 1 : 0,08$

Separat, intr-un vas tot de 5 litri, se prepara o solutie de fosfat diamoniacal cu concentratia de 0,15M al carei pH este adus in limitele pH de 10,5 ÷ 11,5 prin adaugare de amoniac, solutie 25%. In vederea prepararii a 10g rasina ureoformaldehidica , se adaugă uree (U)si formaldehida (F), in raportul de masa U : F = 1 : 1,3, in solutia ce contine ionii $PO_4^{3-}$.

Solutiile astfel preparate au fost contactate, sub forma a doua jeturi care se ciocnesc frontal intr-un tub in forma de „Y" sau „T" ceea ce asigura un timp de amestecare foarte scurt 0,1 ÷ 0,5 secunde, evitandu-se astfel nucleatia eterogena secundara care conduce la formarea unui amestec polifazic. Suspensia rezultata este colectata intr-un reactor prevazut cu agitator si manta de incalzire unde se mentine 24 ore la temperatura camerei, dupa care se incalzeste la 80 ÷ 90°C timp de 8 ore. In timpul maturarii la temperatura de 80 ÷ 90°C are loc procesul de formare a rasinii prin policondensare, acoperind astfel particulele de HAP formate. Suspensia rezultata este filtrata pe palnie Büchner, precipitatul este spalat in continuare de trei ori cu apa distilata pana la indepartarea completa a ionilor $NO_3^-$. Turta de precipitat dupa spalare este inghetata brusc cu azot lichid, mentinuta 5 ore la 2 ÷ -5°C in vederea lichidarii suprasaturatiei, cand urmele de ioni de $PO_4^{3-}$, $Ca^{2+}$ si $Sr^{2+}$ ramasi in solutie se depun pe suprafata exterioara a particulelor de HAP acoperite deja cu rasina. Se blocheaza astfel

fenomenul de asociere si aglomerare a cristalitelor in timpul operatiei de uscare. Dupa dezghetarea turtei de precipitat, materialul se refiltreaza, rezultand o turta cu umiditatea de cca. 80% care este supusa uscarii in etuva la temperatura 110 ÷ 120°C. In final materialul rezultat este supus operatiei de maruntire intr-o moara cu bile apoi calcinat timp de 8 ore la temperatura de 850°C.

Rezulta o pulbere formata din HAP cu 6,2 % gr. Sr, ale carei caracteristici sunt prezentate in Tabelul 2, confirmate de masuratorile obtinute prin spectrul FTIR (figura 5), difractograma XRD (figura 6).

Materialul cu caracteristicile aratate este destinat utilizarii in stomatologie, la prepararea cimenturilor dentare si a pastelor de dinti.

**Exemplul 3**

Intr-un vas de 5 litri se prepara o solutie 0,25 M $Ca^{2+}$ (azotat) al carei pH este adus in limitele 7,5 ÷ 8,5 prin adaugare de $NH_3$, solutie 25%. Separat, in alt vas de 5 litri se prepara o solutie de fosfat diamoniacal, careia i se adauga $NH_3$, solutie 25% pana la pH de 10,5 ÷ 11,5. Solutiile astfel preparate au fost contactate sub forma a doua jeturi care se ciocnesc frontal intr-un tub „Y" sau „T", asigurandu-se asfel un timp foarte scurt de amestecare 0,1 ÷ 0,5 secunde ceea ce asigura o amestecare rapida a reactantilor la o valoare a raportului molar stoechiometric caracteristic HAP : Ca : $PO_4^{3-}$ = 1,67. Rezulta o suspensie formata din particule de HAP cu structura predominant amorfa, care este colectata intr-un reactor prevazut cu agitator si manta de incalzire, unde este mentinuta 24 ore la temperatura camerei. In continuare se ridica temperatura la 70 ÷ 80°C, unde este mentinuta timp de 8 ore pentru desavarsirea procesului de integrare a ionilor in reteaua specifica hidroxiapatitei (avansarea procesului de cristalizare). Dupa maturare suspensia este filtrata pe palnie Büchner iar precipitatul este spalat cu apa distilata pana la lipsa ionului $NO_3^-$. Turta de precipitat obtinuta dupa spalare este inghetata rapid cu azot lichid, ceea ce determina o lichidare rapida a suprasaturatiei, evitandu-se astfel cresterea particulelor in timpul operatiilor de uscare si calcinare. Turta de precipitat dupa dezghetare este refiltrata, apoi este supusa uscarii prin liofilizare la P = (5 ÷ 25) · $10^{-3}$ torr (0.67 - 3.33 Pa) si temperatura t = -25 ÷ -35°C. Uscarea finala a materialului se realizeaza la temperatura 100 ÷ 105°C.

Se obtine o pulbere formata din HAP cu raportul molar Ca : $PO_4^{3-}$ = 1,67 ale carei caracteristici prezentate in Tabelul 2, sunt confirmate prin masuratori FTIR (figura 7), difractograma XRD (figura 8) si analiza BET (figura 9).

Materialul rezultat este utilizat la formularea unor paste de dinti pentru remineralizarea smaltului si prevenirea cariilor.

**Exemplul 4**

Se prepara 5 litri de solutie apoasa cu concentratia 0,25 M, care contine ionii de $Ca^{2+}$ si $Zn^{2+}$ in raport molar $Ca^{2+} : Zn^{2+} = 1 : 0,19$.

Separat se prepara 5 litri solutie apoasa de fosfat diamoniacal cu concentratia de 0,15 M, în care se adaugă L-asparagină în concentaţie de 0,1 g/L, iar pH-ul soluţiei se aduce la valarea 11.5 prin adaugare de solutie de ammoniac 25%.

Solutiile astfel preparate au fost contactate sub forma a doua jeturi care se ciocnesc frontal intr-un tub „Y" sau „T", asigurandu-se asfel un timp foarte scurt de amestecare 0,1 ÷ 0,5 secunde ceea ce asigura o amestecare rapida a reactantilor la o valoare a raportului molar stoechiometric caracteristic HAP, $Ca^{2+} : PO_4^{3-} = 5 : 3$. Rezulta o suspensie, care este colectata intr-un reactor prevazut cu agitator si manta de incalzire, unde este mentinuta 24 ore la temperatura camerei. In continuare se ridica temperatura la 70 °C, unde este mentinuta timp de alte 24 de ore pentru desavarsirea procesului de integrare a ionilor in reteaua specifica hidroxiapatitei (avansarea procesului de cristalizare). Dupa maturare suspensia este filtrata pe palnie Büchner iar precipitatul este spalat cu apa distilata pana la lipsa ionului $NO_3^-$. Turta de precipitat obtinuta dupa spalare este inghetata rapid cu azot lichid, ceea ce determina o lichidare rapida a suprasaturatiei, evitandu-se astfel cresterea particulelor in timpul operatiilor de uscare si calcinare. Turta de precipitat dupa dezghetare este refiltrata, apoi este supusa uscarii prin liofilizare la $P = (5 \div 25) \cdot 10^{-3}$ torr (0,67 – 3,.33 Pa) si temperatura $t = -25 \div -35°C$.

Dupa macinare într-o moară cu bile se obtine o pulbere alba, cu caracteristicile prezentate in Tabelul 2, confirmate prin imagini TEM (figura 10), difractograme de raze X (figura 11), spectreul FTIR (figura 12) si analiza BET (figura 13).

Materialul cu caracteristicile aratate este destinat utilizarii in stomatologie, la prepararea cimenturilor dentare si a pastelor de dinti.

**Exemplul 5.**

Se procedeaza la fel ca la exemplul 4, doar ca prima solutie contine, pe langa ionii de $Ca^{2+}$si $Zn^{2+}$, ioni de $Sr^{2+}$, in concentratie totala (Ca+Zn+Sr) de 0.25 M si in rapoartele molare $Ca^{2+} : Zn^{2+} = 1 : 0,12$; $Ca^{2+} : Sr^{2+} = 1 : 0,04$.

Se obtine o pulbere de hidroxiapatita substituita cu zinc si strontiu, avand caracteristicile prezentate in Tabelul 2 si ilustrate prin figurile 14-17.

**Tabel 1.** Solubilitatea compusilor din sistemul $PO_4^{3-}$ - $Ca^{2+}$ rezultati in timpul precipitarii; $K_{sp}$ reprezinta produsul de solubilitate.

| **Raportul molar Ca/P** | **Fosfati de calciu** | **Formula chimica** | **Solubilitatea 25°C, -log($K_{sp}$)** |
|---|---|---|---|
| 0,5 | Fosfat monocalcic - monohidrat (MCPM) | $Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$ | 1,14 |
| 0,5 | Fosfat monocalcic - anhidru (MCPA) | $Ca(H_2PO_4)_2$ | 1,14 |
| 1,0 | Fosfat dicalcic - dihidrat (DCPD, Brushit) | $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$ | 6,59 |
| 1,0 | Fosfat dicalcic - anhidru (DCPA, Monetit) | $CaHPO_4$ | 6,90 |
| 1,33 | Fosfat octacalcic (OCP) | $Ca_8(HPO_4)_2(PO_4)_4 \cdot 5H_2O$ | 96,6 |
| 1,5 | α – Fosfat tricalcic (α –TCP) | α – $Ca_3(PO_4)_2$ | 25,5 |
| 1,5 | β - Fosfat tricalcic (β –TCP) | β - $Ca_3(PO_4)_2$ | 28,9 |
| 1,2 – 2,5 | Fosfat calcic amorf (ACP) | $Ca_x(PO_4)_y \cdot nH_2O$ | 25 – 33 |
| 1,5 – 1,67 | Hidroxiapatita cu deficit de calciu (CDHA) | $Ca_{10-2x}(PO_4)_{6-x}(OH)_{2-x}$ | 85 |
| **1,67** | **Hidroxiapatita stoechiometrica** | **$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$** | **116,8** |
| 2,0 | Fosfat tetracalcic (TTCP) | $Ca_4(PO_4)_2O$ | 38 – 44 |

**Tabel 2.** Caracteristicile fizico-chimice ale materialelor preparate conform exemplelor 1-5

| Nr proba | Dimensiune cristalite (nm) | Grad de cristalinitate (%) | Suprafata specifica ($m^2/g$) | Volumul specific al porilor ($cm^3/g$) | Compozitie % masa |
|---|---|---|---|---|---|
| **Ex 1** | 50,2 | 76,02 | 11,9 | 0,01391 | Ca 33,54<br>Mg 3,05<br>Zn 0,27<br>Sr 2,94<br>Si 0,28<br>P 18,28 |
| **Ex 2** | 55 | 79,5 | 17,6 | 0,027 | Ca 35,69<br>Sr 6,24<br>P 17,87 |
| **Ex 3** | 18,2 | 55 | 85,3 | 0,344 | Ca 39,89<br>P 18,51 |
| **Ex. 4** | 21,3 | 33,9 | 139,7 | 0,436 | Ca 32,22<br>Zn 10,00<br>P 17,78 |
| **Ex. 5** | 24,9 | 38,2 | 108,4 | 0,385 | Ca 33,00<br>Zn 6,46<br>Sr 2,89<br>P 17,74 |

12

## Revendicari

1. Nanomateriale pentru scopuri biomedicale stomatologice pe baza de hidroxiapatita si hidroxiapatita multisubstituita in care ionii substituiti se regasesc in proportie de: 0,15 ÷ 5,5 % gr. Mg; 0,01 ÷ 20% gr. Zn; 1 ÷ 40% gr. $Sr^{2+}$; 0,1 ÷ 4% gr. Si.
2. Nanomateriale pentru scopuri biomedicale pe baza de hidroxiapatita si hidroxiapatita multisubstituita definite la revendicarea 1 caracterizate prin aceea ca ionii de calciu sunt substituiti cu magneziu, zinc, strontiu in rapoartele molare Ca : Mg= 1 : 0,15; Ca : Zn= 1 : 0,005; Ca : Sr= 1 : 0,04 si cu un continut de Si de 0,2% gr., obtinute prin precipitare la temperatura camerei in prezenta de 0,1÷2% asparagina adaugata in solutia cu ionii de $PO_4^{3-}$ urmata de maturare timp de 24 ore la temperatura camerei si 8 ore la temperatura de 60-70°C obtinand un produs cu suprafata specifica 60÷160 $m^2/g$, volumul specific al porilor 0,10-0,50 $cm^3/g$ si dimensiuni ale particulelor de 15÷70 nm. Materialul rezultat are o mare capacitate de adsorbtie si este destinat materialelor dentare, conditionarii medicamentelor si ca transportor al acestora
3. Nanomateriale pentru scopuri biomedicale pe baza de hidroxiapatita si hidroxiapatita multisubstituita definite la revendicarea 1 caracterizate prin aceea ca ionii de calciu sunt partial substituiti cu strontiu (HAP cu 8÷20% gr. Sr), reactia de precipitare si maturarea de 24 ore s-a efectuat la temperatura camerei. Rezulta in final o pudra cu suprafata specifica 120÷150 $m^2/g$ si volumul specific al porilor 0,30÷0,55 $cm^3/g$. Materialul astfel preparat este destinat scopurilor stomatologice (cimenturi dentare si paste de dinti).
4. Nanomateriale pentru scopuri biomedicale stomatologice pe baza de hidroxiapatita si hidroxiapatita multisubstituita definite la revendicarea 1 caracterizate prin aceea ca ionii de calciu sunt substituiti partial cu zinc, rezultand HAP cu 2-20% gr. Zn. Materialul este destinat pentru paste de dinti si apa de gura cu actiune antibacteriana si antiinflamatoare.
5. Nanomateriale pentru scopuri biomedicale pe baza de hidroxiapatita si hidroxiapatita multisubstituita definite la revendicarea 1, caracterizate prin aceea ca reactia de precipitare s-a efectuat la temperatura de 0°C si maturare timp de 24 ore la temperatura camerei. Dupa prelucrare rezulta o pudra de culoare alba, cu suprafata specifica 130÷140 $m^2/g$, volumul specific al porilor 0,41÷0,44$cm^3/g$, dimeniuni ale cristalitelor 10÷25 nm si grad de cristalinitate coborat 20÷40%. Materialul este destinat uzului stomatologic pentru tratamentul osteitei, in paste de dinti si cimenturi stomatologice.

6. Nanomateriale pentru scopuri biomedicale pe baza de hidroxiapatita si hidroxiapatita multisubstituita definite la revendicarea 1 caracterizate prin aceea ca reactia de precipitare si maturare a precipitatului se efectueaza la temperatura de 0°C. Rezulta materiale cu dimensiunea cristalitelor de 10÷25 nm. Materialele sunt utilizate la intretinerea si protejarea smaltului dentar.
7. Nanomateriale pentru scopuri biomedicale pe baza de hidroxiapatita si hidroxiapatita multisubstituita definite la revendicarile 1 si 6, caracterizate prin aceea ca durata maturarii este 8-36 ore, de preferinta 12-24 ore, rezultand dupa prelucrare o pudra cu dimensiuni ale cristalitelor 15-35 nm, grad de cristalinitate 20-50%, cu suprafata specifica 100÷110 $m^2/g$, volumul specific al porilor 0,32÷0,37$cm^3/g$, utilizate la prepararea pastelor de dinti si a pulberilor pentru reconstructia smaltului dentar.
8. Nanomateriale pentru scopuri biomedicale pe baza de hidroxiapatita si hidroxiapatita multisubstituita definite la revendicarea 1, caracterizate prin aceea ca maturarea precipitatului se efectueaza timp de 4-24 ore de preferinta 10-12 ore la temperatura de 60-70°C. Sunt destinate cimenturilor stomatologice si regenerarii maxilarului.
9. Nanomateriale pentru scopuri biomedicale pe baza de hidroxiapatita si hidroxiapatita multisubstituita definite la revendicarea 1 caracterizate prin aceea ca dupa uscare turta de precipitat este calcinata timp de 4-12 ore, de preferinta 8-10 ore, la temperatura de 850-950 °C, rezultand un material cu suprafata specifica de 10-20 $m^2/g$, volumul specific al porilor 0,012÷0,027$cm^3/g$, utilizate pentru acoperirea implantelor stomatologice de titan prin pulverizare in plasma.

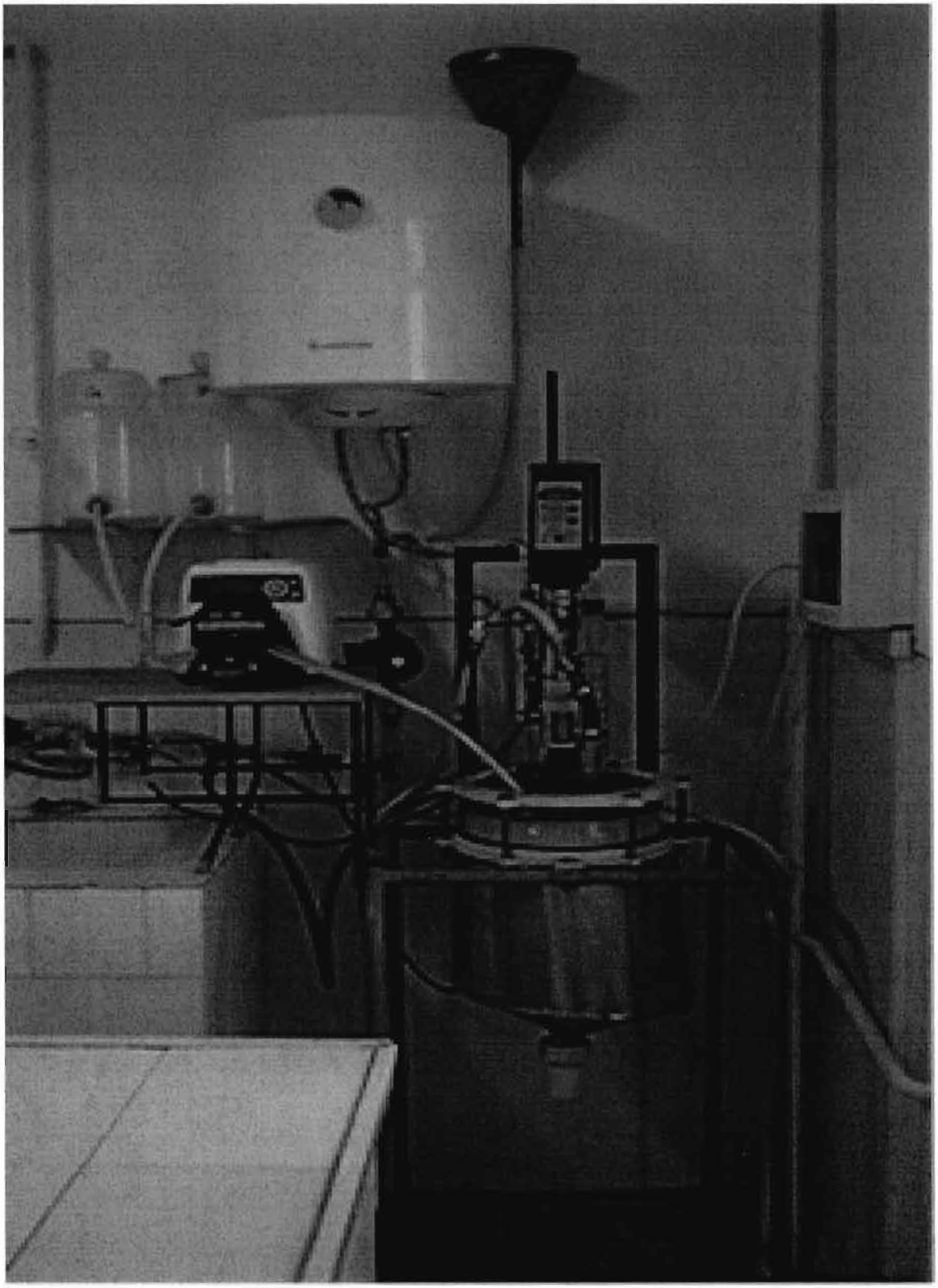
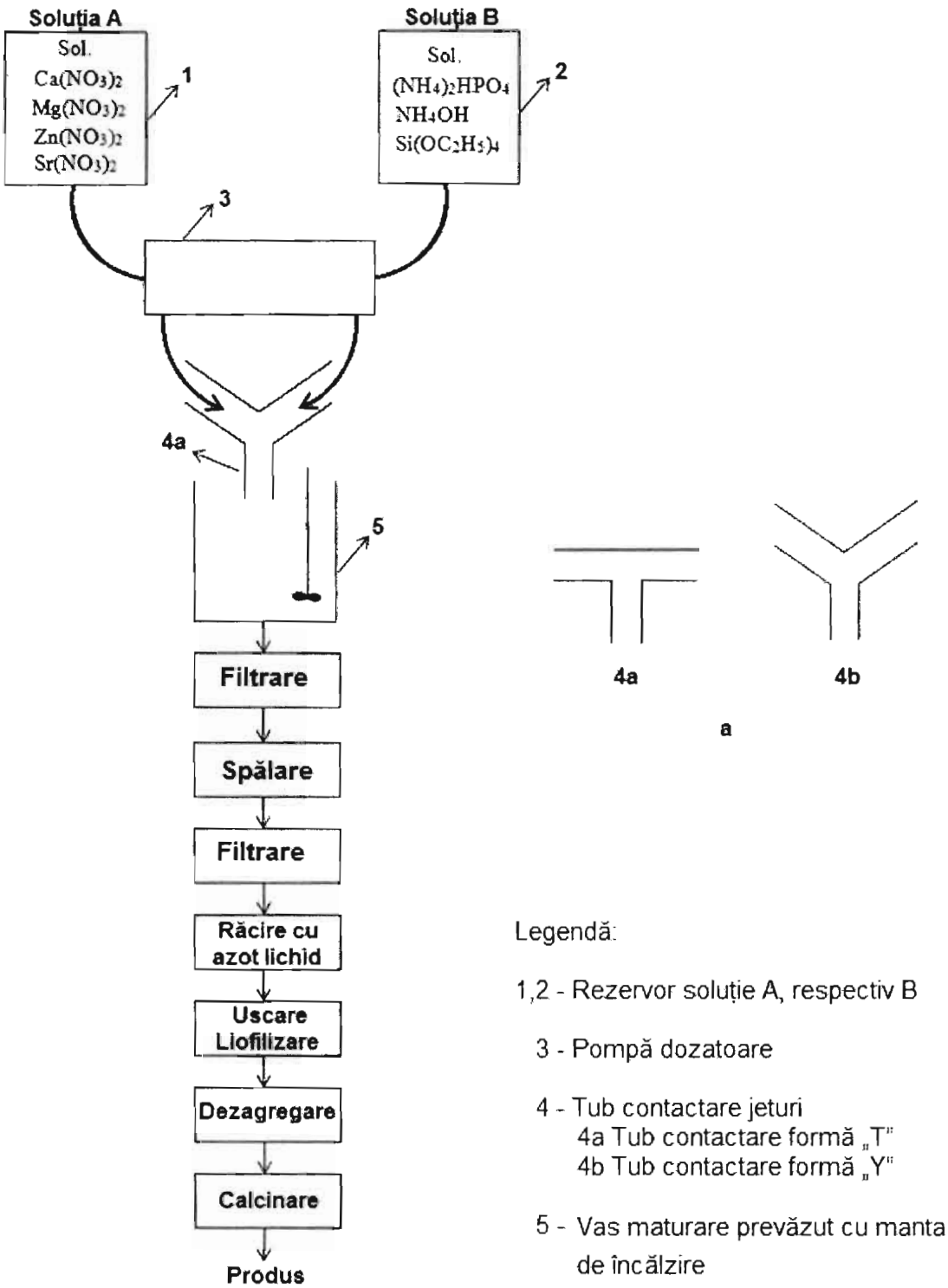


Fig 1a. Instalatia de laborator pentru prepararea biomaterialelor nanostructurate, pe baza de HAP




Legendă:

1,2 - Rezervor soluție A, respectiv B

3 - Pompă dozatoare

4 - Tub contactare jeturi
4a Tub contactare formă „T"
4b Tub contactare formă „Y"

5 - Vas maturare prevăzut cu manta de încălzire

Fig 1b. Schema bloc a operatiilor de preparare a nanomaterialelor pe baza de HAP

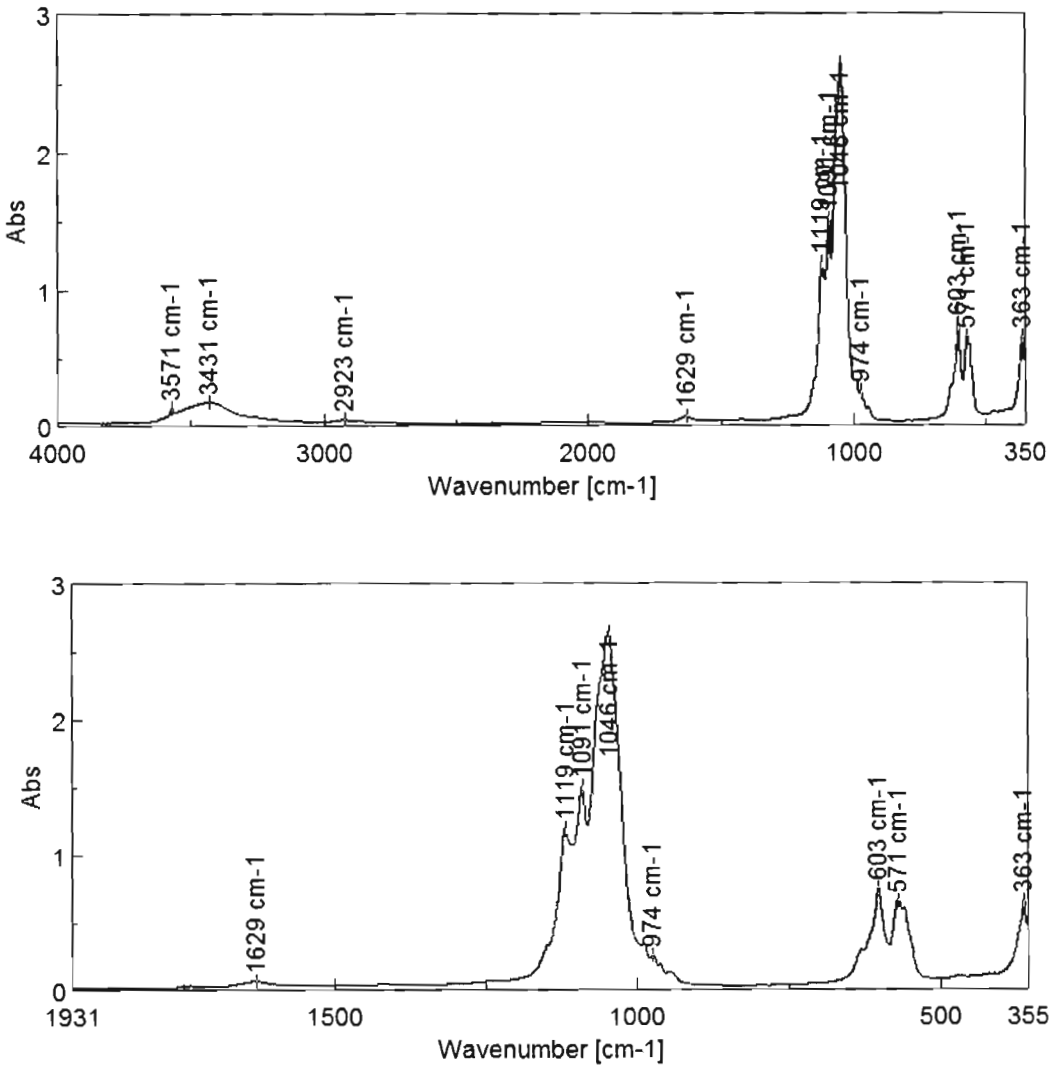



Fig 2. Spectrul FTIR – Exemplul 1

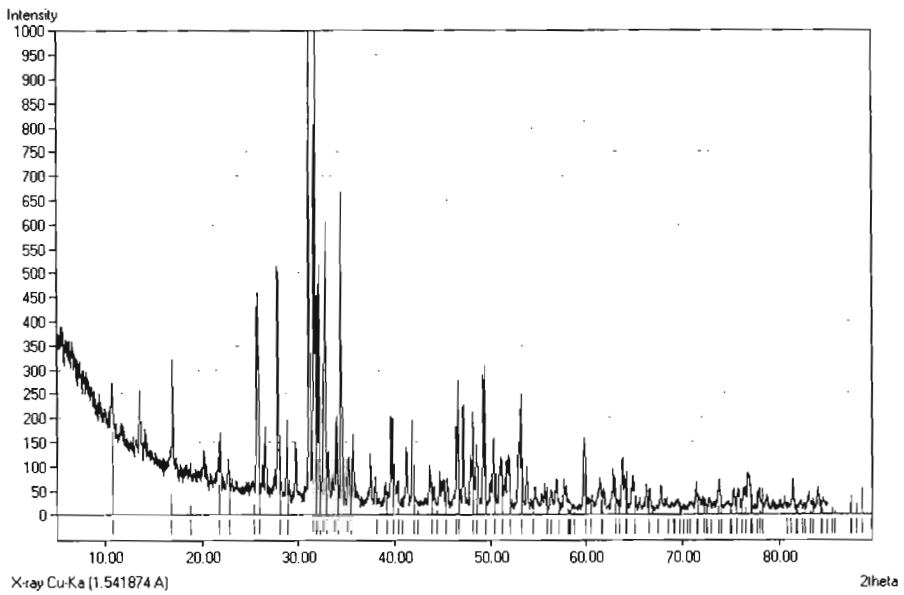



Fig 3. Spectrul XRD – Exemplul 1

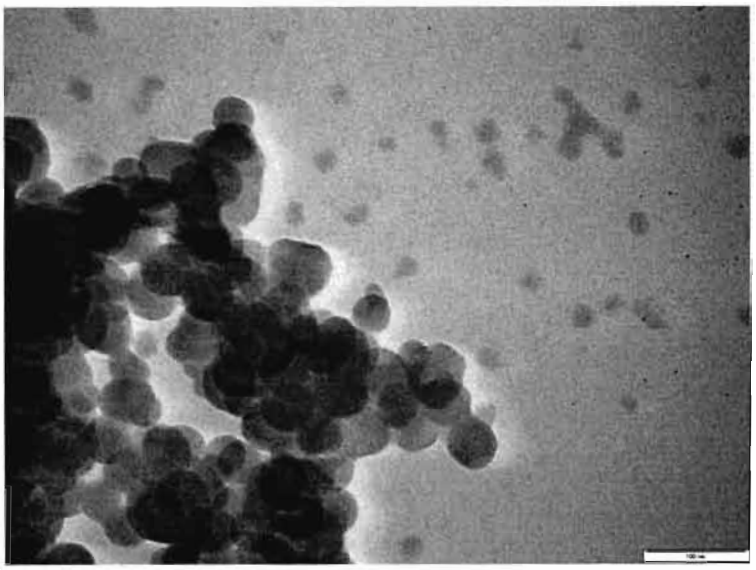


Fig 4. TEM – Exemplul 1

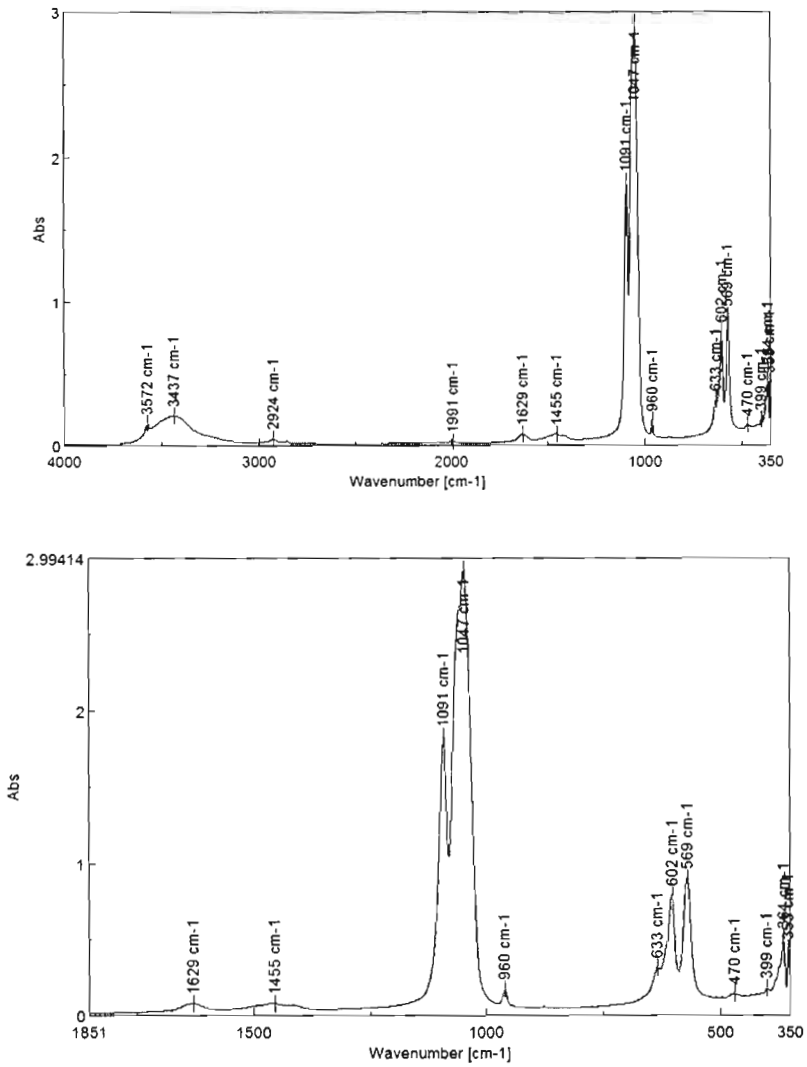



Fig 5. Spectrul FTIR – Exemplul 2

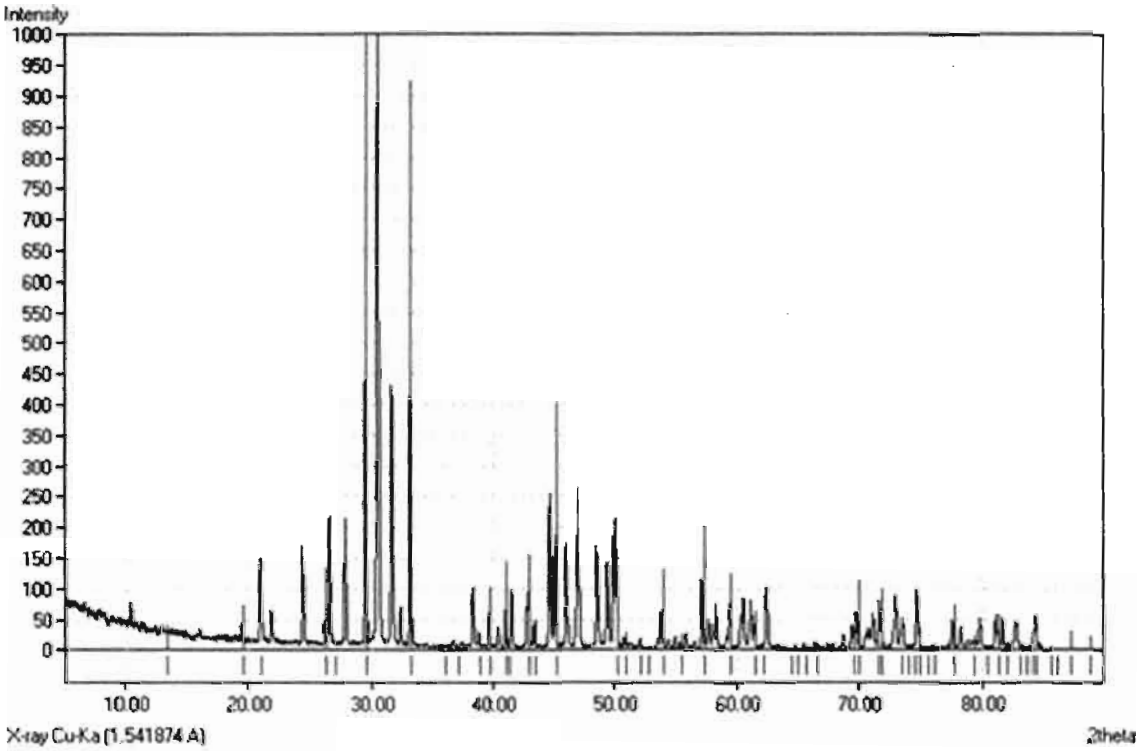



Fig 6. Spectrul XRD – Exemplul 2

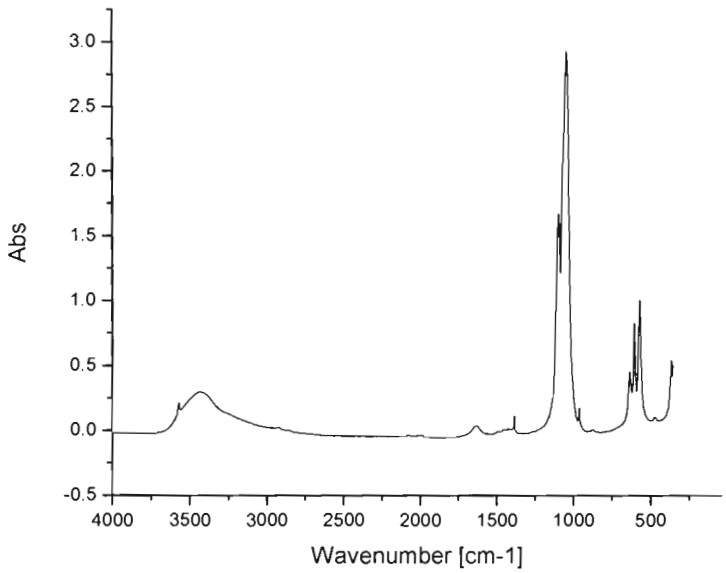



Fig 7. Spectrul FTIR – Exemplul 3

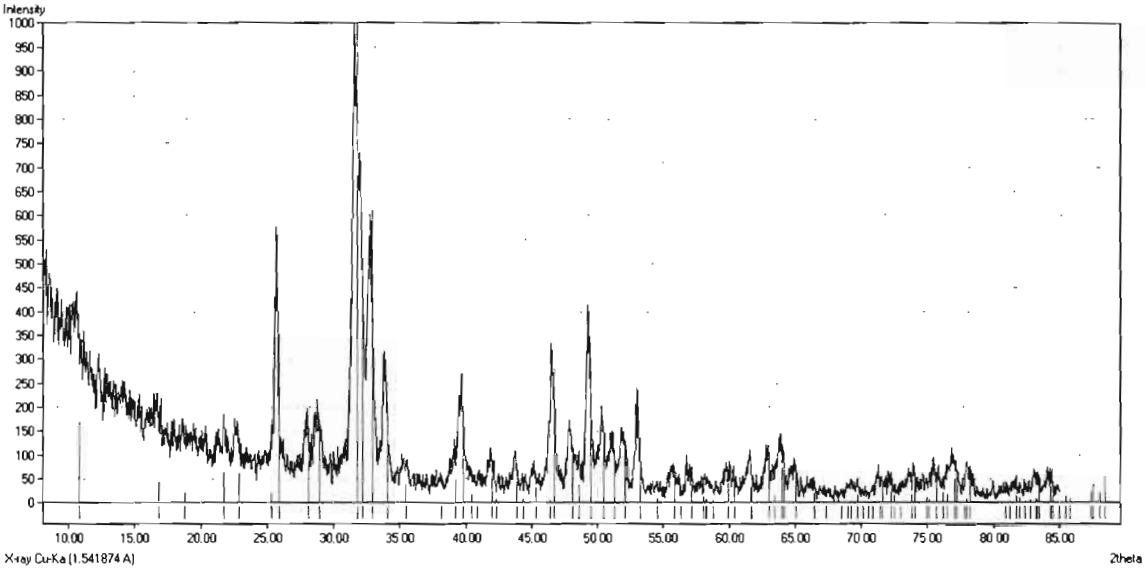
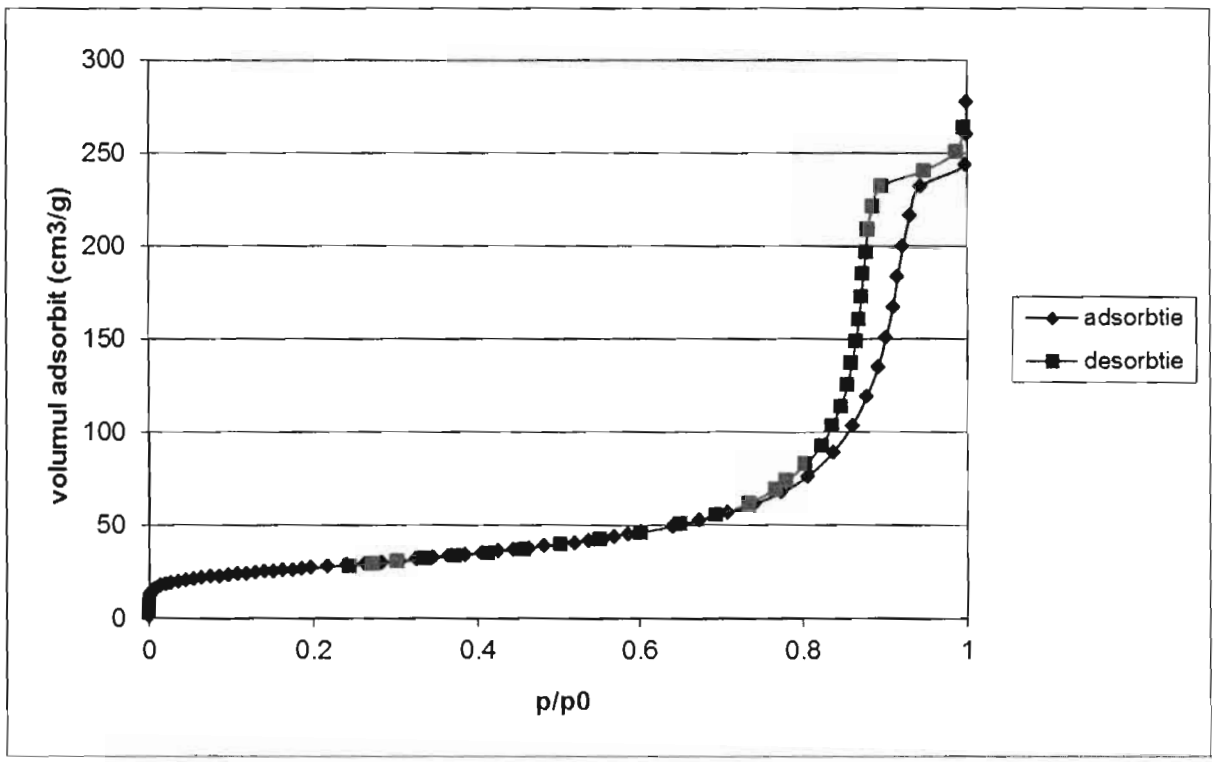



Fig 8. Spectrul XRD – Exemplul 3



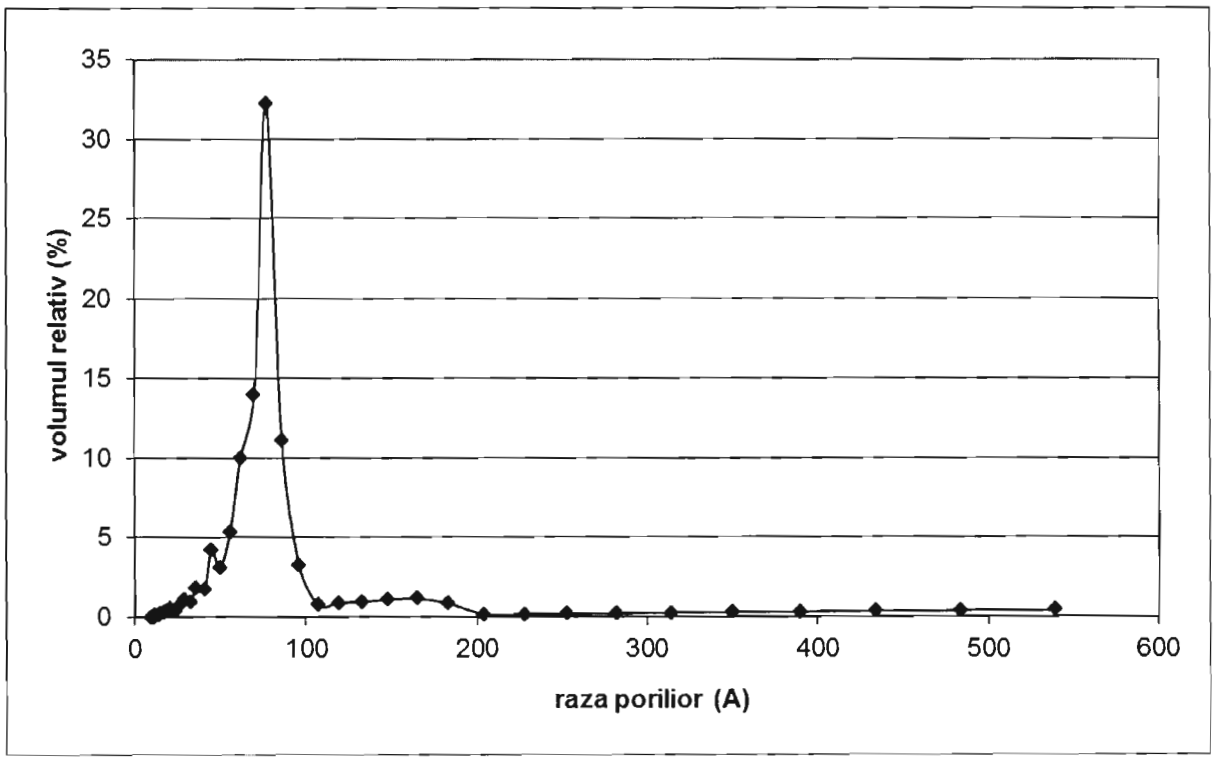



Fig 9. Izotermele de adsorbție-desorbție şi distribuția porilor– Exemplul 3

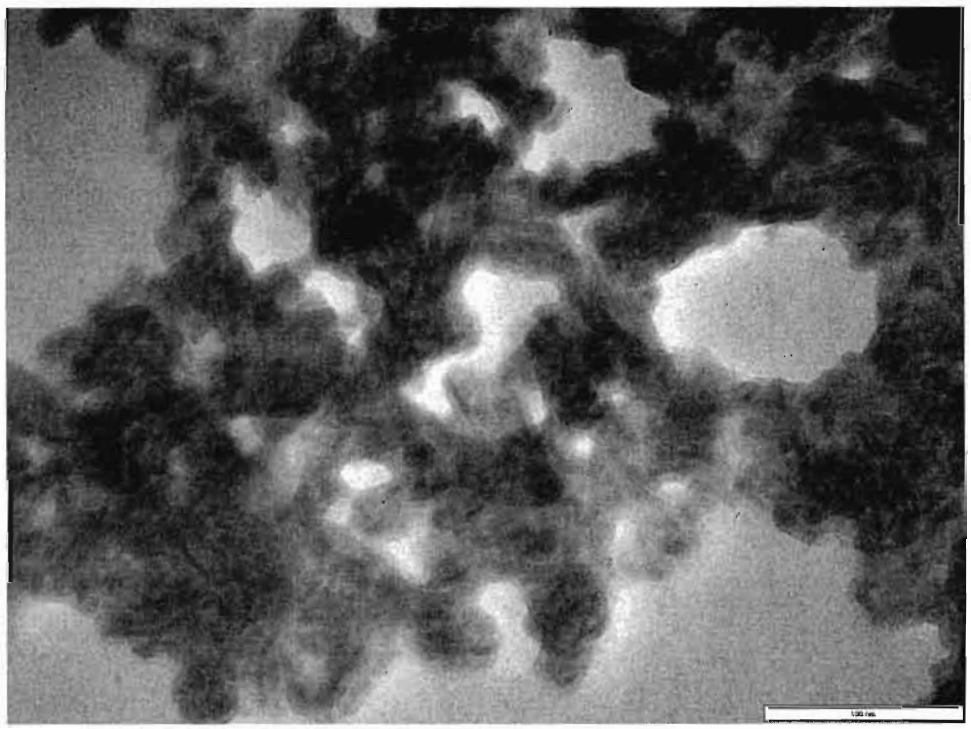


Fig. 10. TEM – exemplul 4

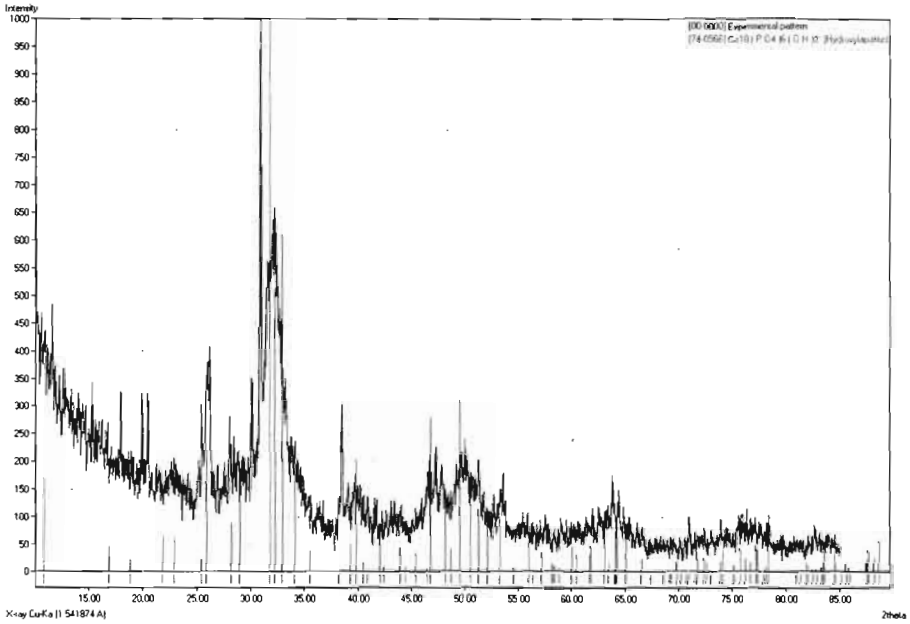


Fig. 11. Spectrul XRD - Exemplul 4

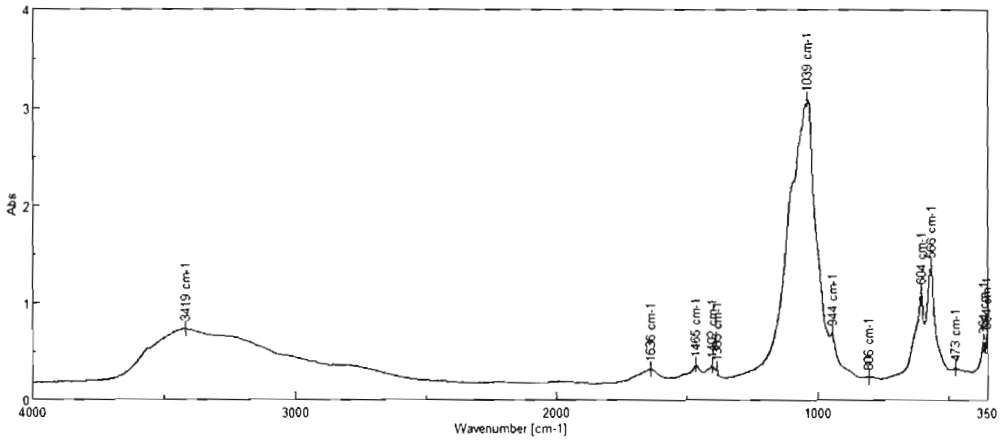



Fig. 12. Spectrul FTIR - Exemplul 4

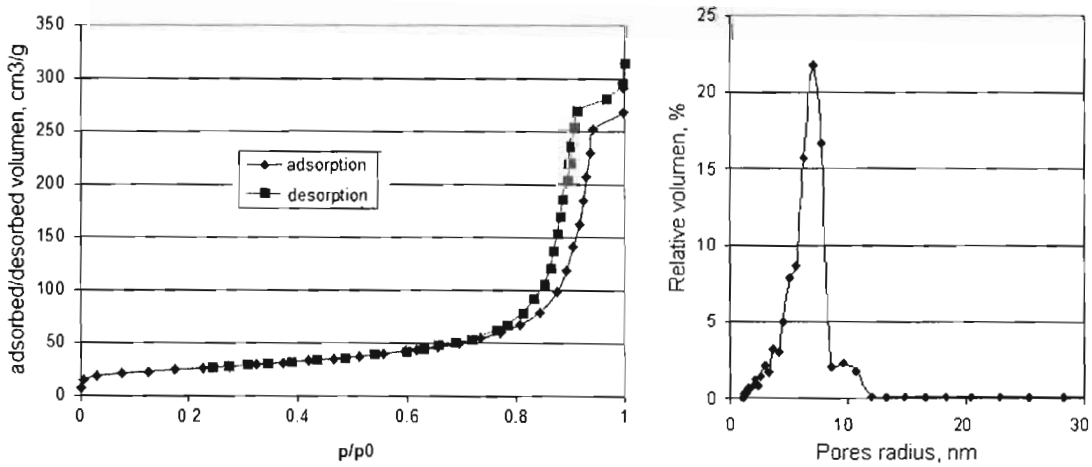



Fig 13. Izotermele de adsorbție-desorbție și distribuția porilor– Exemplul 4

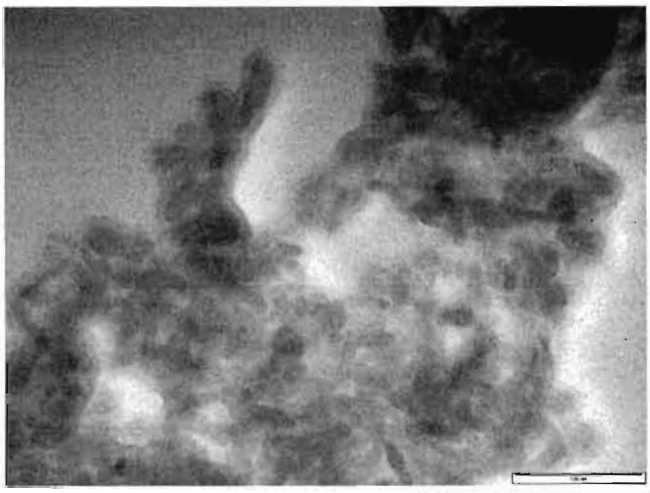


Fig. 14. TEM – exemplul 5

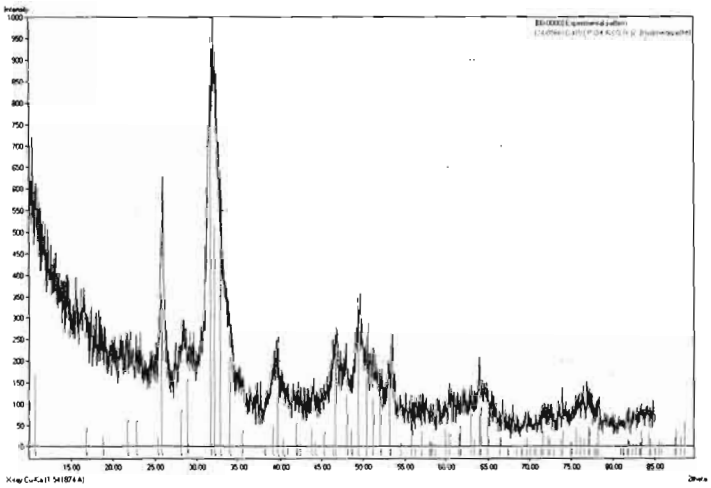


Fig. 15. Spectrul XRD - Exemplul 5

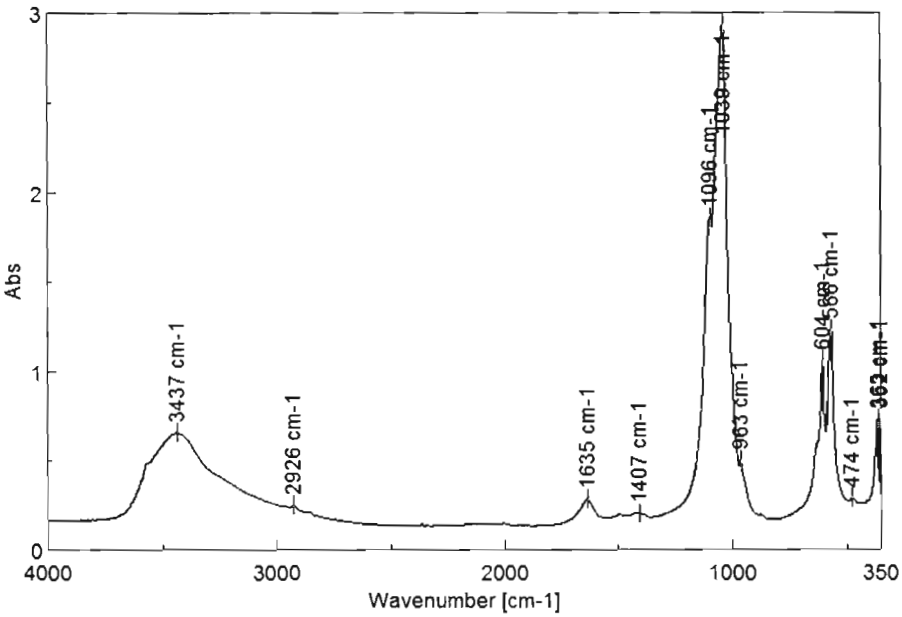
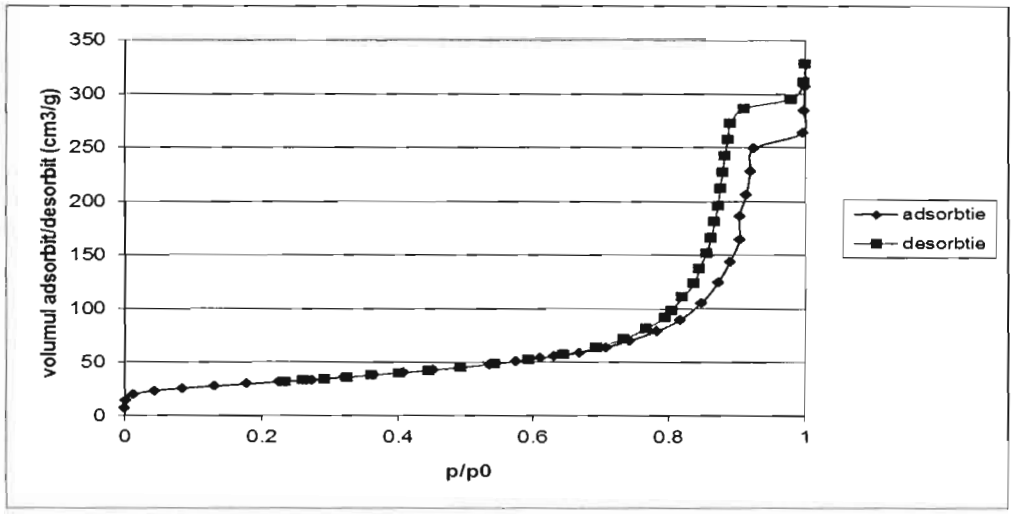


Fig. 16. Spectrul FTIR - Exemplul 5



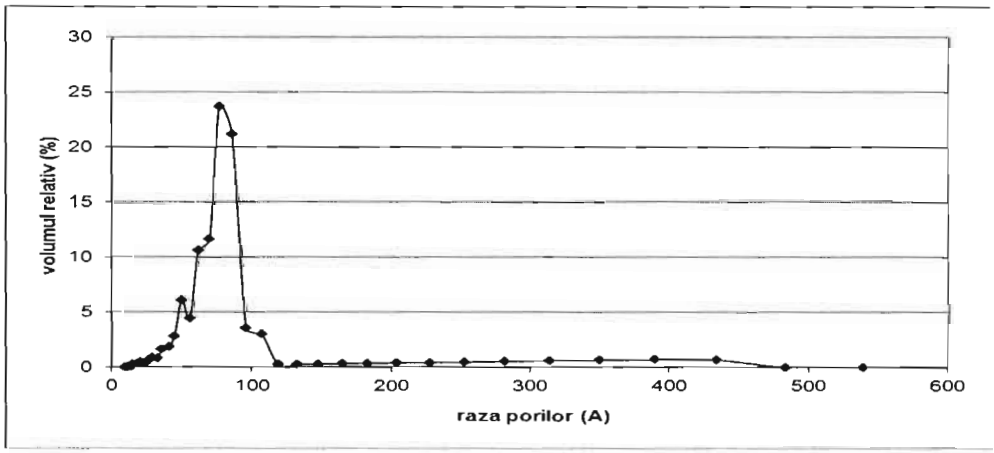




Fig 17. Izotermele de adsorbție-desorbție şi distribuția porilor– Exemplul 5

**Bibliografie**


1. M. Frache-Botton, Z. Hatim, M. Lacout, Brev. **EP 0984902 B1 / 2002**, "Procédé de préparation d'un biomatériau à base d'hydroxyapatite, biomatériau obtenu et application chirurgicale ou dentaire"

2. H. Aoki, M. Aoki, H. Aoki, Brev. **U.S 6358494 B1 / 2002**, "Composite toothpaste products"

3. R. Riman, W. Suchanek, P. Shuk, K.TenHuisen, C. Chen, Brev. **U.S 20050186249 A1 / 2005**, "Magnesium-substituted hydroxypatites"

4. P. Li, Brev **U.S 8067069 B2 / 2011**, "Strontium-substituted apatite coating"