



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2017 00737**

(22) Data de depozit: **27/09/2017**

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

(71) Solicitant:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
FIZICA LASERILOR,
PLASMEI ȘI RADIAȚIEI,
STR.ATOMIȘTILOR NR.409, MĂGURELE,
IF, RO**

(72) Inventatori:
• **DINCĂ VALENTINA, STR.MĂRĂȘEȘTI,
NR.22, BL.B4, AP.22, MĂGURELE, IF, RO;**
• **DINESCU MARIA, STR. BĂRCA NR.17,
BL.M8, SC.A, ET.2, AP.17, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO;**

• **SCĂRIȘOREANU NICU, STR.VOINICULUI,
NR.5, MĂGURELE, IF, RO;**
• **ANDREI ANDREEA, STR. PANSELELOR,
NR.1, BL. B 8, AP.18, MĂGURELE, ILFOV,
RO;**
• **VALENTIN ION, STR. FIZICIENILOR,
NR.19, BL.M2, SC..A, ET.1, AP.5,
MĂGURELE, IF, RO;**
• **RUSEN LAURENȚIU, STR. MĂRĂȘEȘTI,
NR.22, BL.B4, AP.22, MĂGURELE, IF, RO;**
• **BONCIU ANCA, STR. TINERETULUI,
BL. D3, SC.A, AP.10, ET.2, DRĂGĂȘANI,
VL, RO;**
• **BRAJNICOV SIMONA, I.L. CARAGIALE,
NR.2, ISARCEA, TL, RO**

(54) **ACOPERIRI COMPOZITE DE GRAFENE-SERICINĂ MEDIATE
PRIN POLIDOPAMINĂ PE SUPORTURI PLANE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui biomaterial compozit, utilizat ca material biologic activ de fixare și sutură osoasă, pentru implanturi ortopedice. Procedeu conform invenției constă în depunerea unui amestec de grafene și sericină peste un strat intermediar de polidopamină depus pe o plachetă de

siliciu, prin tehnica laser MAPLE, rezultând o acoperire compozită compactă și omogenă, și cu o topologie controlată.

Revendicări: 6
Figuri: 7

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



a) **Titlul invenției**

**"ACOPERIRI COMPOZITE DE GRAFENE-SERICINĂ
MEDIATE PRIN POLIDOPAMINĂ PE SUPORTURI PLANE"**

b) **Domeniul de aplicare a invenției**

Invenția se referă la obținerea unui nou material compozit pe baza de grafene și sericina cu o aderență îmbunătățită pe suporturi plane folosind un strat intermediar de polidopamina, obținut prin tehnica laser MAPLE.

Biomaterialul compozit, conform invenției, prezintă următoarele avantaje în viitoare aplicații biomedicale:

-compoziția chimică asigură o biocompatibilitate corespunzătoare și o rezistență mecanică superioară structurii osoase

-manifestă adezivitate crescută față de o gamă de tipuri de celule din cadrul ingineriei tisulare

-induce formarea de țesut osos nou, datorită acțiunii biostimulatoare și regeneratoare a sericinei

-nu prezintă citotoxicitate

-nu constituie mediu de dezvoltare a microorganismelor

-constituie un compozit biologic activ de fixare și sutură osoasă util pentru implanturile ortopedice

-utilizarea biocompozitului, conform invenției, înlătură necesitatea reintervențiilor în practica chirurgiei ortopedice

Aplicațiile includ functionalizarea de implanturi dentare, ortopedice, obținerea de materiale active pentru biosenzori, etc.

c) **Prezentarea stadiului actual al tehnicii mondiale**

Biomaterialele oferă proprietăți fizico-chimice și biologice interesante pentru aplicațiile medicale datorită dimensiunii lor mici, suprafeței mari și capacității de a interfața / interacționa cu celulele / țesuturile. Tendințele de cercetare din ultima perioadă arată că proprietățile lor excepționale pot fi exploatate în special pentru aplicațiile biomedicale în livrarea de medicamente și ingineria tisulară.

Este cunoscut faptul că în domeniul ingineriei tisulare se folosesc materiale precum: diamantul ca carbon (DLC) și carbonul tetraedric (ta-C) [Handbook of Nanostructured Thin Films and Coatings, Sam Zang, Ed., CRC Press (2010). H O Pierson, Handbook of Carbon, Graphite, diamond and Fullerenes, Noyes (1993); Handbook of Hard Coatings, Rointan F Bunshah, Ed., William Andrew (2001).], nitrura de titan (TiN), carbură de titan (TiC), dioxid de titan (TiO₂) [Handbook of Hard Coatings, Rointan F Bunshah, Ed., William Andrew (2001)]. Alte materiale evaluate sunt nitrura de titan niobiu (TiNbN), nitrură de crom (CrN), nitrură de carbon de titan (TiCN),

nitruură de titaniu (TiAlN), carbură de siliciu (SiC) și zirconiu (ZrN) [R Fellenberg, Society of Vacuum Coaters 50th Annual Technical Conference Proceedings (2007) 107]. Folosirea acestor materiale pentru acoperiri prezintă următoarele dezavantaje: reacția imunoalergică la material, modificări reacționale la material, biocompatibilitate redusă, rezorbția produșilor degradați din implant, crearea zonelor de stres la interfața dintre implant și os, apariția fenomenelor de separare de fază la începutul proliferării celulare și inhibarea activității factorilor de creștere.

Grafenele au excelente proprietăți mecanice (elasticitate ridicată, rezistență, flexibilitate) și capacitatea de a se adapta la diverse funcționalități pe suprafețe plane. Prin urmare, pot fi utilizate ca material de întărire în, filme biodegradabile și schelete de inginerie tisulară.

Versatilitatea suprafețelor de grafene și oxid de grafene oferă posibilități multiple pentru legarea covalentă chimică a diverselor biomolecule. Astfel, acoperirea cu grafene a fost îmbunătățită cu ajutorul sericinei.

Studiile privind biocompatibilitatea și potențialul antioxidant, atât *in vitro*, cât și *in vivo*, au demonstrat că sericina este inertă din punct de vedere imunologic și a demonstrat siguranța și deschiderea unei largi posibilități de aplicare a sericinei în biomedicină și indică utilizarea în ingineria tisulară și ca vehicul pentru eliberarea de medicamente. Multe studii oferă dovezi ale proprietăților de vindecare ale sericinei, deoarece aceasta stimulează migrația, proliferarea și producția de colagen.

Pentru prepararea filmelor subțiri de grafene se utilizează procedee precum sintezele top-down (exfoliere mecanică, chimică) și sintezele bottom-up (piroliza etoxidului de sodiu).

Se cunoaște un procedeu de obținere a straturilor de grafene, prin depunerea chimică de vapori (CVD) [Graphene synthesis by chemical vapor deposition and transfer by a roll-to-roll process, Zhen-Yu Juang, 2010]. Aceasta este o tehnică de „creștere” a grafenelor pe substrat dintr-un amestec de gaze precursorare (acetilenă sau metan și hidrogen). Depunerea are loc la temperaturi înalte în condiții controlate. Parametrii și condițiile de lucru, precum și substratul metalic (catalizator) pe care are loc formarea grafenei sunt cruciale în determinarea calității grafenei rezultate. Brevetele existente pe piață [Brevet WO2011072213A3, US20120003438] se referă la metode de obținere ale grafenei și nu tratează funcționalizarea unei suprafețe cu filme omogene pe baza de grafene și alți compusi, cum ar fi proteinele. Dezavantajele metodei constau în consumul mare energetic, necesitatea utilizării metodei repetitiv pentru depunerea unui film de sericină peste stratul de grafene, imposibilitatea sintetizării dintr-un amestec gazos precursor a unui biocompozit.

Tehnicile laser au fost folosite cu succes în funcționalizarea de suprafețe cu diverși compusi organici și anorganici. Recent, Rusen et al. (2017- Surface Coating and technology) a demonstrat obținerea de compusi compoziți prin includerea într-un strat copolimeric (PEG-PCL-Me) de proteine (Lactoferina) și nanoparticule ceramice (HA) pentru îmbunătățirea răspunsului osteoblastelor în studii *in vitro*.

d) Descriere patent

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția de fata se refera la posibilitatea obtinerii unui nou material compozit pe baza de grafene si sericina cu o aderenta imbunatatita pe suporturi plane folosind un strat intermediar de polidopamina. Distributia de grafene in compozit va fi controlata prin parametrii de depunere MAPLE (compozitia tinteii, concentratie, fluenta si numar de pulsuri), iar aderenta fata de un substrat plan cu rugozitate foarte mica va fi realizata prin folosirea unui strat intermediar de dopamina.

Patentul intitulat " ACOPERIRI COMPOZITE DE GRAFENE-SERICINĂ MEDIATE PRIN POLIDOPAMINĂ PE SUPORTURI PLANE" propune obtinerea de noi materiale compozite bazate pe grafene si sericina sub forma de filme subtiri a caror aderenta pe substrat a fost imbunatatita prin folosirea de polidopamina si parametrii caracteristici de MAPLE. Prin alegerea și optimizarea fluenței laser, a numărului de pulsuri laser, a distanței țintă-substrat și a compoziției țintei înghețate, caracteristicile straturilor depuse pot fi ajustate corespunzător, în vederea obținerii unor acoperiri omogene, aderente și cu topografie controlată. În schita-schema 2 este prezentată schema set-up-ului Maple. Grafena aflată în amestec cu sericina (în proporție de 0.1 - 1 %) a fost dizolvată în apă (matrice). Alegerea solventului este foarte importantă: materialul de depus/transferat (grafene) trebuie sa se poată "suspenda" în mod uniform în matrice și în același timp solventul trebuie să fie capabil să absoarbă energia laserului la lungimea de undă folosită. Amestecul obținut a fost înghețat într-un suport de țintă (în aceste experimente s-a utilizat un "vas" de cupru), folosindu-se azot lichid. Suportul țintei a fost răcit continuu în timpul depunerii, pentru a menține ținta înghețată, folosindu-se azot lichid. În urma iradierii cu fasciculul laser, focalizat pe țintă, materialul este evaporat; matricea este cea care absoarbe energia de la fascicolul laser, materialul dizolvat neinteracționând cu radiația. Vaporii matricei antrenează moleculele de grafenă către substratul aflat paralel, la câțiva centimetri de țintă. Moleculele de grafenă se depun pe substrat, în timp ce moleculele volatile ale solventului sunt evacuate din incinta de depunere prin sistemul de pompaj. Problema pe care o rezolvă invenția constă compoziția acoperirilor de grafene-sericină funcționalizate cu ușurință cu polidopamină pentru filme stabil aderente necesare implanturilor ortopedice. Conform invenției, substratul (1) (plachetă de siliciu, sticlă etc) a fost curățat cu alcool etilic și apoi uscat prin suflare cu gaz N₂. Acesta a fost funcționalizat, etalând un strat de polidopamină (2) prin drop-cast. Peste placheta astfel configurată se depune un film subțire de grafene-sericină (3) prin intermediul tehnicii MAPLE.

Filmele compozite de grafene-sericină propuse in acest brevet sunt compacte, omogene, cu o distribuție uniformă a grafenelor. Această observație este confirmată și de imaginile SEM ale probelor obținute. Schita (figura) 3 prezinta imagini SEM ale acoperirilor cu grafene-sericină obținute prin MAPLE (266 nm, 600 mJ/cm²)

Caracterizarea interfețelor între substrat și acoperirile de grafene a fost realizată prin spectroelipsometrie (SE). Examinarea microstructurală a acoperirilor a urmărit observarea compactității și omogenității acoperirilor, a morfologiei și distribuției grafenelor pe suport. Micrografiile SEM ale acoperirilor de grafene sunt prezentate în schita 3. Analiza imaginilor obținute indică faptul că prin MAPLE, în funcție de caracteristicile de depunere, acoperirile pot fi compacte (Schita 3) sau caracterizate prin existența unor conglomerate de dimensiuni submicronice și micronice.

Pentru a determina caracteristicile interfeței acoperirilor de grafene cu substratul, au fost folosite măsuratori optice cu un sistem Woollam VASE (Variable Angle Spectroscopic Ellipsometer – Spectro-Elipsometru cu Unghi Variabil), echipat cu lampa Xe, care generează radiație în intervalul spectral 250 nm-1700nm.

Măsurătorile au fost făcute în domeniul vizibil și UV-apropiat, la energii între 0.7 și 2.5 eV cu un pas de 0,01 eV, la unghi de incidență fix de 70°.

Pentru un film subțire de grafene depus pe substrat de Si, sistemul optic se consideră a fi format din 4 straturi: suportul de siliciu, stratul nativ de SiO₂ (~ 3 nm), stratul de grafene și stratul rugos. Stratul rugos a fost aproximat ca fiind compus din 50% aer și 50% grafene în aproximația Bruggeman. Indicii de refracție (n) și coeficienții de extincție (k) rezultați din fitarea gaussiană (fig 4) demonstrează o interfață foarte bună, trecerea de la stratul de SiO₂ nativ la grafene făcându-se brusc.

Grosimea stratului de grafene obținută din procesul de fitare este de aproximativ 412 nm, iar a stratului rugos de 27 nm, o mediere pe suprafața măsurată (~10 mm²) (Schita.5-Fitarea gaussiană pentru acoperirile de grafene pe suport de siliciu).

Utilizarea sericinei, conform invenției, duce nu numai la o scădere a rugozității superficiale cu aproximativ 10%, dar și la o îmbunătățire a omogenității filmelor. Compozitul grafene-sericină cuprinde foi de grafene „prinse” în filmul de sericină cu o rezistență mecanică îmbunătățită.

Procentele de masă și cele atomice ale elementelor prezente în films au fost determinate folosind Spectroscopia de raze X cu dispersie după energie (EDAX, EDS sau EDX) cuplata la microscopul electronic de baleiaj (SEM). Conform analizei EDAX raportul atomic C/O pentru proba de grafene analizată a fost de 1.62, în timp ce datorită prezentei sericinei, valoarea a crescut la 2.68.

Testarea aderenței acoperirilor depuse pe substrat (scratch test, test cu banda adeziva).

Filmele subțiri au fost depuse atât pe substraturi de sticlă cât și pe substraturi de aliaj și s-au efectuat teste simple de verificare a aderenței acoperirilor prin zgarieturi efectuate cu varful unui ac, precum și prin aplicarea de bandă adezivă pe suprafața depusă și ulterior zgariată. (Fig. 7 -Reprezentarea schematică a testării aderenței filmelor depuse prin MAPLE (600 mJ/cm², 40 kpulsuri) pe substrat de sticlă (a), imagini AFM înainte și după aplicarea de bandă adezivă pe suprafața filmelor de grafene

(b) si grafene-sericina (c) si histograma cu modificarile de grosime masurate inainte si dupa aplicarea de banda adeziva.)

Datorita rugozitatii mari a aliajului, a fost dificil de observat efectul zgarieturilor si a aplicarii de banda adeziva pe filmele depuse pe aliaj. Pentru a evidentia modificarile cauzate de banda adeziva si de zgariere, observatiile au fost facute in continuare pe filme depuse pe sticla.

Se poate observa faptul ca desi ambele tipuri de filme pot fi zgariate cand se foloseste un ac sau o lama, filmele de grafene cu sericina prezinta o stabilitate mai buna decat cea a filmelor de grafene simple, grosimea modificandu-se cu 6 procente comparativ cu cele 16 procente la filmele de grafene.

ACOPERIRI COMPOZITE DE GRAFENE-SERICINĂ MEDIATE PRIN POLIDOPAMINĂ PE SUPORTURI PLANE

Revendicari:

- obtinerea unui nou material compozit pe baza de grafene si sericina cu o aderenta imbunatatita pe suporturi plane folosind un strat intermediar de polidopamina, obtinut prin tehnica laser MAPLE.

- Filmele compozite de grafene-sericină propuse in acest brevet sunt compacte, omogene, cu o distribuție uniformă a grafenelor.

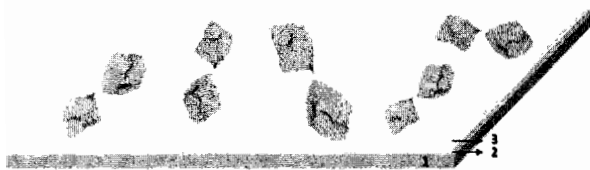
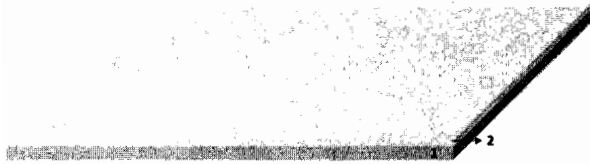
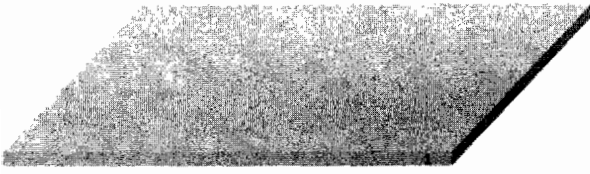
-Filmele de grafene demonstrează o interfață foarte bună, trecerea de la stratul de SiO₂ nativ la grafene făcându-se brusc(demonstrat prin SE- Indicii de refracție (n) și coeficienții de extincție (k) rezultați din fitarea gaussiană).

- Utilizarea sericinei, conform invenției, duce nu numai la o scădere a rugozității superficiale cu aproximativ 10%, dar și la o îmbunătățire a omogenității filmelor. Compozitul grafene-sericină cuprinde foi de grafene „prinse” în filmul de sericină cu o rezistență mecanică îmbunătățită.

- Filmele de grafene cu sericina prezinta o stabilitate mai buna decat cea a filmelor de grafene simple, grosimea modificandu-se cu 6 procente comparativ cu cele 16 procente la filmele de grafene.

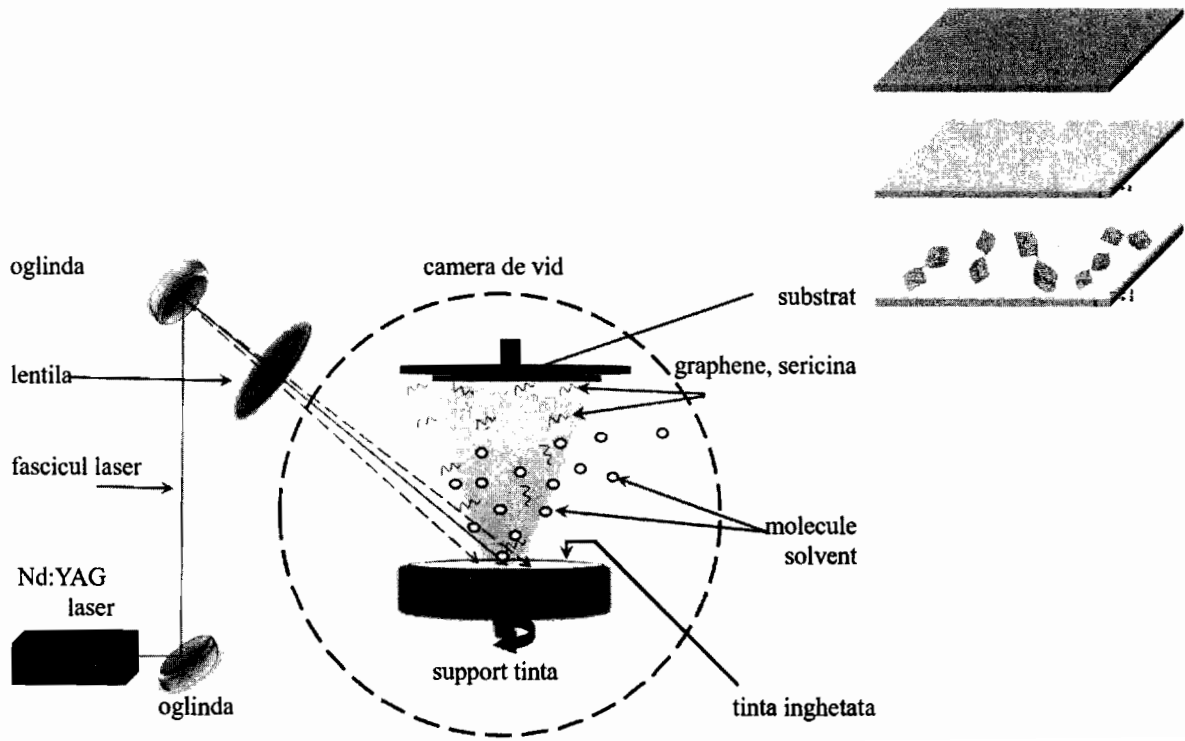
-Biomaterialul compozit poate fi folosit in aplicații ce vizeaza functionalizarea de implanturi dentare, ortopedice, obtinerea de materiale active pentru biosenzori, etc.

Schita 1_reprezentarea dispunerii filmelor compozite pe un suport plan prin medierea cu polidopamina

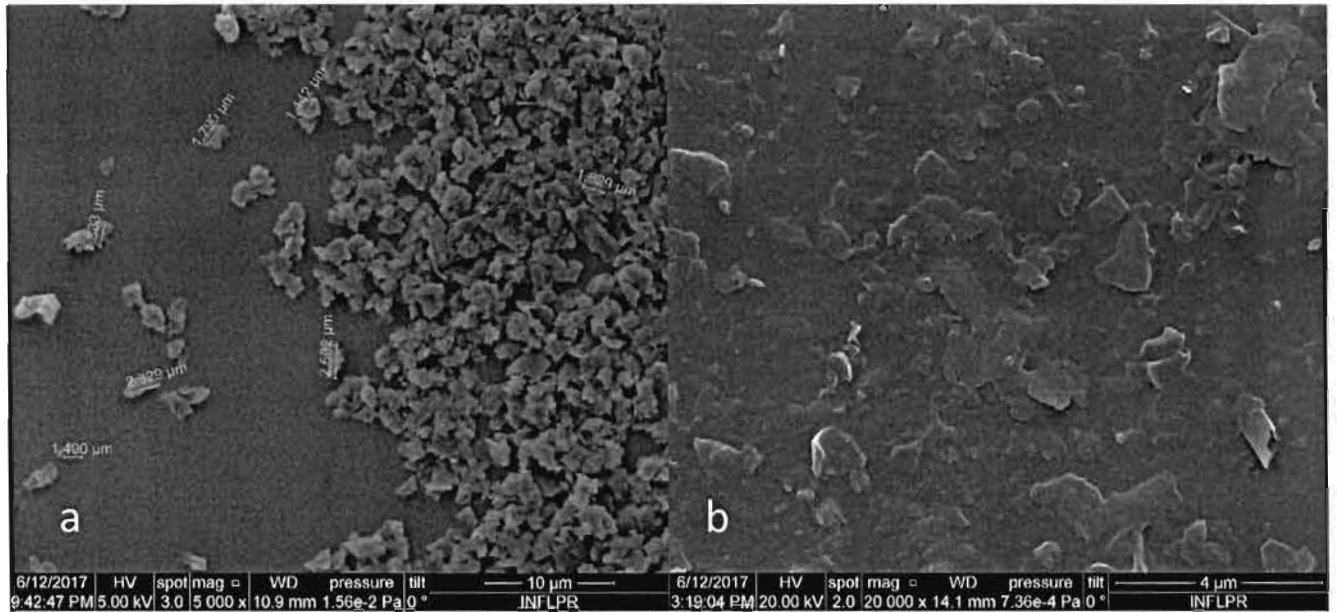




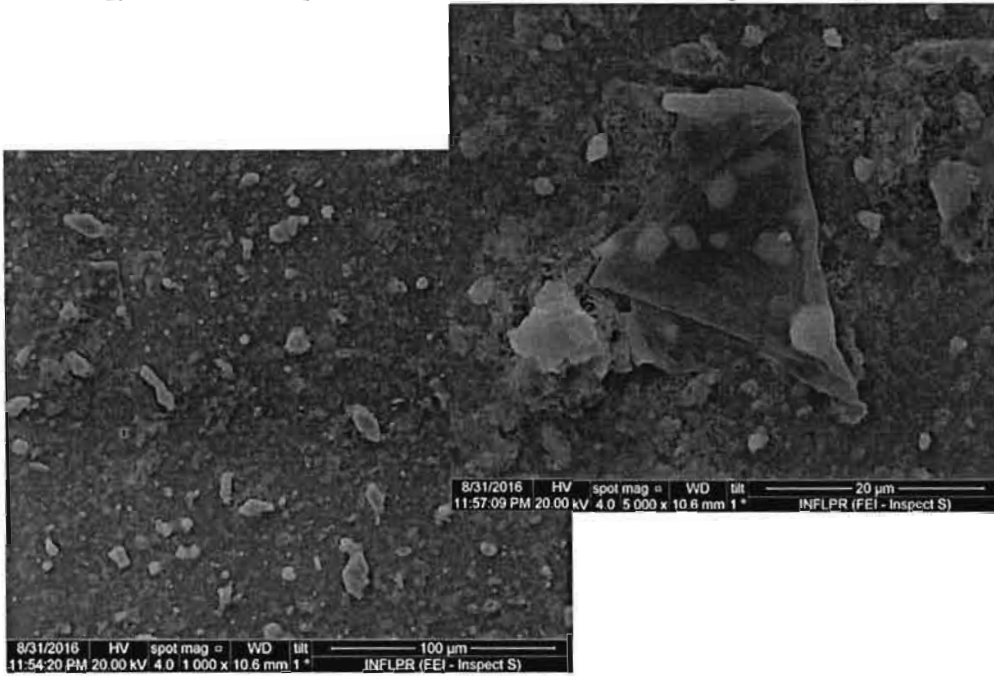
Schita 2_reprezentarea sistemului de obtinere de filme compozite prin MAPLE



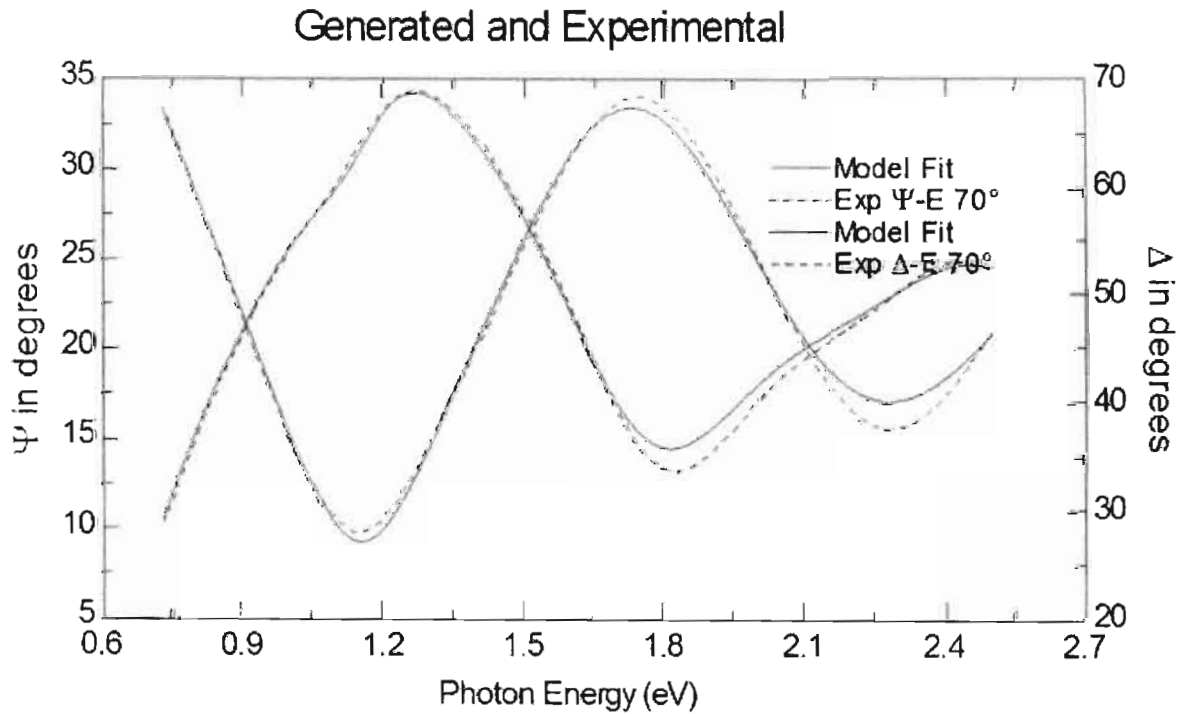
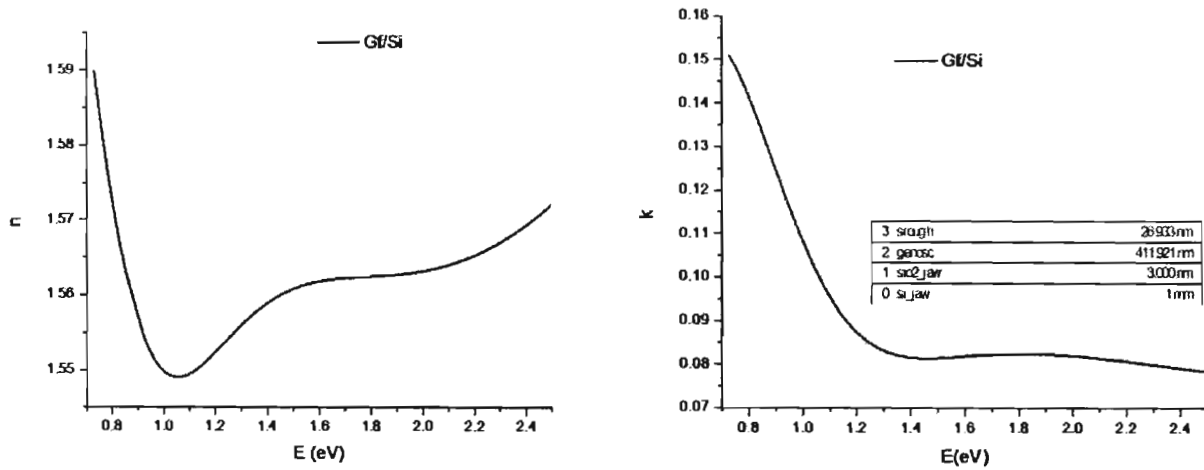
Schita 3 _demonstrarea prin imagini SEM a distributiei omogene a grafenei prin MAPLE -b in comparatie cu o alta metoda (drop cast-a)



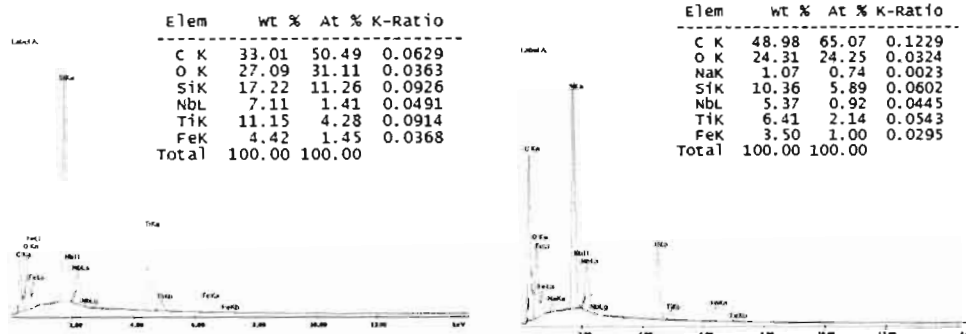
Schita 4 _demonstrarea prin imagini SEM a filmelor compozite de grafene-sericina prin MAPLE



Schita 5. Indicii de refracție (n) și coeficienții de extincție (k) rezultați din fitarea gaussiană pentru acoperirile de grafene pe suport de siliciu Grosimea stratului de grafene obținută din procesul de fitare este de aproximativ 412 nm, iar a stratului rugos de 27 nm, o mediere pe suprafața măsurată (~10 mm²)



Schita 6. Procentele de masă (wt%) si procentele atomice (at %) ale elementelor chimice din filmele de grafene depuse pe un suport din aliaj metalic (stanga) si grafene-sericina (dreapta)



Schita_7 Reprezentarea schematica a testatii aderentei filmelor depuse prin MAPLE (600 mJ/cm², 40 kpulsuri) pe substrat de sticla (a), imagini AFM inainte si dupa aplicarea de banda adeziva pe suprafata filmelor de grafene (b) si grafene-sericina (c) si histograma cu modificarile de grosime masurate inainte si dupa aplicarea de banda adeziva.

