



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2018 00726**

(22) Data de depozit: **27/09/2018**

(41) Data publicării cererii:  
**30/03/2020** BOPI nr. **3/2020**

(71) Solicitant:  
• UNIVERSITATEA "BABEȘ- BOLYAI" DIN  
CLUJ-NAPOCA, STR.MIHAIL  
KOGĂLNICEANU NR.1, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;  
• UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE  
ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ DIN  
CLUJ-NAPOCA, CALEA MĂNĂȘTUR  
NR.3-5, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;  
• EMBRYOM CAPITAL INVESTMENT  
S.R.L., NR.171, LOCALITATEA DECEBAL,  
SM, RO

(72) Inventatori:  
• MOLDOVAN MARIOARA,  
STR. VIILE NADAȘEL NR. 52,  
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;  
• MARCUS IOAN, STR.TĂȘNAD NR.17,  
BL.P6, SC.II, ET.I, AP.19, CLUJ-NAPOCA,  
CJ, RO;

• PREJMEREAN CRISTINA ALEXANDRA,  
BD. 1 DECEMBRIE 1918 NR. 24,  
CLUJ- NAPOCA, CJ, RO;  
• SAROȘI LIANA CODRUȚA,  
STR. GURGHIU NR. 4, AP. 25,  
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;  
• PRODAN DOINA, STR. PROFESOR  
CIORTEA NR. 5, SC, 2, AP, 44,  
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;  
• SILAGHI DUMITRESCU LAURA,  
STR. FLORILOR NR. 101,  
COMUNA FLOREȘTI, CJ, RO;  
• DREANCĂ ALEXANDRA IULIA,  
STR.BIZUȘA NR.4, SC.1, AP.1,  
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;  
• SEVASTRE BOGDAN,  
STR. POET GRIGORE ALEXANDRESCU  
NR. 7, BL. E13, SC. 1, ET. 2, AP.11,  
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;  
• SARPATAKI ORSOLYA, STR. OLARILOR  
NR.12, ZALĂU, SJ, RO

(54) **COMPOZIȚIE BIODEGRADABILĂ DESTINATĂ  
REGENERĂRII DEFECTELOR OSOASE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o compoziție biodegradabilă pentru regenerarea defectelor osoase. Procedeu conform invenției constă în polimerizarea chimică și fotochimică în UV înaintea utilizării a unui amestec format din 35...65% o fază organică constituită din 30...60% 2-hidroxietilmetacrilat, 10...50% policaprolactonă diol,

5...10% monomer uretanic, 10...30% polietilen glicol și 35...65% o fază anorganică, constituită din nanocapsule cu hidroxiapatită și/sau trifosfat de calciu, în prezență de aditivi uzuali de polimerizare.

Revendicări: 2

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).



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MARCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr. ....	a 2018 oc 726
Data depozit	27-09-2018

## Descriere

Obiectivul actualului brevet îl constituie elaborarea unei compoziții biodegradabile destinată regenerării defectelor osoase cu proprietăți corespunzătoare utilizării lor în medicină. Cercetările din ultimul deceniu s-au focalizat spre găsirea unor soluții mai eficiente, care țin de domeniul ingineriei țesuturilor ce au drept scop regenerarea țesuturilor deteriorate în locul grefelor, prin dezvoltarea de înlocuitori biologici cu scopul de a restabili, menține sau îmbunătăți funcția de țesut și care să depășească constrângerile și neajunsurile materialelor individuale utilizate pentru implante. În țesutul nativ, celulele sunt ținute într-o matrice extracelulară, care direcționează dezvoltarea și regenerarea țesuturilor, servește pentru organizarea celulelor în spațiu și le furnizează semnale de mediu pentru comportamentul celular.

Scopul ingineriei tisulare este de a sintetiza înlocuitori care imită matrice extracelulară naturală, pentru a ajuta la creșterea de țesut nou funcțional in vitro sau in vivo. La un nivel simplist, țesuturile biologice constau din *celule*, *mecanisme de semnalizare* și *matrice extracelulară*. O condiție esențială, comună tuturor tipurilor de materiale utilizate pentru ingineria țesuturilor în general și a "scaffoldurilor" în special, este asigurarea unei bune biocompatibilități. Proprietățile mecanice și de acomodare ale scaffoldurilor cu țesutul osos gazdă, ulterior și cu țesutul osos regenerat, trebuie să fie capabile să suporte stresul provenit de la activitățile zilnice

Se sugerează de către unii autori că matricea extracelulară acidică care se atașează la colagen joacă un rol important în formarea și inhibarea procesului de mineralizare. Probabil, grupările de acid servesc drept locuri de legare a ionilor de calciu și alinierea acestora la o orientare care se potrivește cu cea a rețelelor cristalelor de apatită și ca aceasta este o caracteristică critică pe care osul artificial ar trebui să o imite [1,2].

Dezvoltarea unor noi generații de materiale compozite asemănătoare osului cu proprietăți mecanice și biocompatibilitate îmbunătățită necesită o abordare sintetică folosind osul natural ca și ghid. Osul natural este el însuși un nanocompozit compus în principal din nanocristalitele de HA în colagen care constituie matricea organică [3,4].

Hidroxiapatita (HA) și Tri-fosfatul de calciu (TCP) sunt două dintre cele mai frecvente bioceramici utilizate în aplicații de inginerie de țesut. TCP este folosit ca schelet degradabil, în timp ce HA, care este non-resorbabilă și are avantajul de a fi osteoinductivă fiind utilizată de obicei pentru acoperirea implanturilor biomedicale și de a induce regenerarea osoasă, să permită implantului să se integreze în țesutul din jur [5,6,7].

Proprietățile mecanice, fizice și biologice ale polimerilor sintetici pot fi adaptate pentru a oferi o gamă largă de proprietăți controlabile, care sunt mai previzibile decât la materialele obținute din surse naturale. Printre multitudinea de polimeri sintetici biodegradabili utilizați pentru aplicații de inginerie tisulară, există numeroase rapoarte privind utilizarea acidului polilactic (PLA), acid poliglicolic (PGA) și copolimerii lor de poli (DL-lactic-co-acid glicolic) (PLGA), care sunt aprobați de către Drug Administration (FDA). Acești polimeri se degradează prin mecanisme hidrolitice și sunt utilizați în mod obișnuit, deoarece produșii de degradare ai acestora pot fi eliminați din organism ca dioxid de carbon și apă [8,9]. Cu toate acestea, prezintă un dezavantaj generat de o scădere a pH-ului în regiunea localizată ca răspuns inflamator, prin urmare atunci când o fac se degradează. Polietilenglicolul [PEG] este un polimer biocompatibil netoxic, solubil în apă, care este un lichid la temperaturi scăzute și gel elastic la 37°C [10]. Copolimerii pe bază de PEG au fost folosiți ca și construcții injectabile pentru oase precum și pentru dispozitivele de eliberare controlată a medicamentelor [11]. De asemenea, copolimeri de

PEG și PLA au fost creați pentru a regla rata de degradare și hidrofilicitate prin ajustarea raportului dintre grupările hidrofile (PEG) și cele hidrofobe (PLA).

Schimbarea treptată de la dispozitive polimerice neresorbabile la cele biodegradabile și bioresorbabile reprezintă una dintre cele mai semnificative tendințe în cercetarea biomedicală.

Aceste considerente au stat la baza abordării (construirii) unor noi biomateriale pentru regenerarea defectelor osoase”. Actualul material este prevăzut a se realiza în două componente, componenta (A) conține acceleratorul de polimerizare chimic și sistemul fotochimic (accelerator și inițiator), respectiv componenta B catalizatorul chimic de polimerizare, urmând a fi amestecate în momentul utilizării în vederea generării de radicali liberi.

Biomaterialul realizat conform actualei cereri de brevet a fost conceput în două componente, polimerizabil în *sistem dual* de polimerizare chimică și *fotochimic în UV*, prin ranforsarea nanocapsulelor cu hidroxiapatită (HA) și trifosfat de calciu (TCP) (35-65)% în (35-65)% fază organică. Componentele materialului conform actualului brevet sunt formate dintr-o fază organică formată din HEMA (30 - 70)%, policaprolactonă (30 - 70)%, polietilen glicol (0,5 - 3)% în care a fost dispersată umplutura anorganică formată din nanocapsule cu (35 - 65)% HAP și fosfat tricalcic.

Faza organică a componentei A conform brevetului conține, în plus, următorii aditivi: acceleratori de polimerizare de tip amină (N,N-dihidroxietil-p-toluidină (DHEPT) în proporție de (0,5 - 1,5)% și dimetilaminoetil metacrilat (DMAEM) în proporție de (0,5 - 1,5)%, fotoinițiatorul de polimerizare UV: p-metoxibenzoil difenilfosfinoxid în concentrație de (0,1 - 1,5)% și inhibitorul de polimerizare (butilat hidroxitoluen BHT) în concentrație de (0,05 - 0,1)%.

Faza organică a componentei B conține peroxidul de benzoil (POB) în proporție de 1 - 3 % și inhibitorul de polimerizare (butilat hidroxitoluen BHT) în concentrație de 0,05 - 0,1%.

### Exemplul 1

#### Prepararea HA-Poliacrilic PAA

S-a folosit o soluție de PAA 2,5% în scopul tratării hidroxiapatitei a cărei pH-ul a fost ajustat la 7 folosind o soluție de NaOH 10 %. Particulele de HA au fost suspendate în soluția PAA 2,5%, iar suspensia a fost agitată timp de 20 ore la temperatura camerei, după care particulele au fost separate prin centrifugare. După ce particulele au fost re-suspendate și spălate de trei ori în apă distilată, au fost introduse în cuptor 120 ore la 110 °C după care au fost uscate într-un cuptor în vid la 80 °C timp de cel puțin 72 ore.

### Exemplul 2

Sinteza acidului polilactic a fost preparată pornind de la 1150–1300 ml ZONAR (SC Embriom Capital Investment SRL, Satu Mare), filtrat (păstrat la frigider) și 4-4,5% din total materii prime melasă (Tereos Romania, Ludus) în prealabil cântărite, se pornește agitarea mecanică (cca.50 *rot/min*) apoi se încălzește pe baia de apă până la 44 – 45 °C și se însămânțează cu 2,5% *Activit probiotic*, pH-ul fiind menținut la 5,0-6,0 prin adăugare de NaOH 10N. Procesul de fermentare prin care se obține lactatul de sodiu se continuă timp de 24–48 ore, sub agitare continuă, în condițiile amintite. Apoi se realizează coagularea proteinelor, concomitent cu concentrarea soluției la temperatura 95–100 °C, proteinele coagulate fiind filtrate, dacă se poate în flux continuu, cu recircularea soluției până la atingerea densității de 1,35 g/cm<sup>3</sup>, când este tratată cu acid clorhidric concentrat, echivalentă cu NaOH consumat pentru menținerea pH-lui. În

urma tratamentului cu HCl, se obține acidul lactic liber. Separarea acidului lactic din masa de reacție rezultată neutralizat cu HCl se toarnă într-o pâlnie de separare de formă cilindrică. Se adaugă peste el, 150 ml n-hexan p.a.(densitate  $d = 0,66$  g/ml). Se agită bine și se lasă în repaus 24 ore pentru separarea fazelor. Se separă 2 faze, una brun-închis, în partea de jos și o a doua brun-deschis, de consistența mierii, în partea de sus; deasupra există cca 1 cm strat limpede de n-hexan. Cele două faze se colectează în doua vase, separate. Faza de deasupra, dispersată în n-hexan, conține acid lactic. Acesta se transforma în acid polilactic printr-o reacție de policondensare în solvent nepolar (n-hexan), catalizată de silicagel. Vasul de reacție este scufundat într-o baie de apă cu termostat, fixată la temperatura de 37 °C. Se pornește agitarea, 150 rot/min și se lasă să se perfecteze reacția de policondensare timp de 140 ore (~6 zile). S-a obținut un lichid vâcos, de culoare brun-închis. S-a scos din vasul de reacție și s-a pus într-o capsula de sticlă, care s-a introdus într-un exicator și totul s-a păstrat în frigider la 4°C, timp de mai multe zile. Produsul cristalin de culoare ușor galbuie s-a utilizat în formularea de ciment compozit.

### Exemplul 3

Se realizează nanocapsule care constau în obținerea a două faze nemiscibile, o fază organică și una apoasă. Acestea se amestecă obținându-se o suspensie coloidală, iar în final după eliminarea solventului și a apei prin liofilizare, se obține produsul final sub forma nanocapsulelor.

Faza organică s-a obținut amestecând la temperatura de 50 °C și 500-700 rpm, acetat de etil 2 % și apă. După 20 minute s-a adăugat în vasul de amestecare, un amestec format în prealabil, din *uleiul de arnică*, PLA sintetizat ca la Exemplul 2, hidroxiapatită realizată ca la Exemplul 1 (HA) și trifosfat de calciu (TCP). S-a menținut agitarea încă 20 minute.

Faza apoasă s-a obținut prin agitarea mecanică la 700 rpm, adăugând acetat de etil 2% în apă timp de 20 minute, după care s-a adăugat soluție de 5% acool polivinilic. Etapa următoare este cea în care faza organică este adăugată foarte încet și sub agitare fazei apoase, obținându-se o suspensie coloidală care se diluează cu un volum triplu de apă distilată. Suspensia obținută se agită timp de 10 minute la 11000 rpm, după care se trece la eliminarea solventului cu ajutorul rotavaporului. Soluția obținută se îngheață, după care se elimină apa prin liofilizare.

### Exemplul 4

Se realizează un material bidegradabil în două componente cu următoarea compoziție:

#### Componenta A

Într-un recipient se cântăresc 30 g HEMA (hidroxietilmetacrilat), în care se dizolvă 0,046 g p-metoxibenzoil difenilfosfinoxid, CQ, 0,184 g DHEPT, respectiv 0,092 g DMAEM. Soluția obținută se amestecă cu 21 g policaprolactonă-diol, 2 g UDMA (uretan dimetacrilat), 12 g PEG (poietilen glicol) pentru a forma amestecul final lichid. În acest amestec a fost dispersat uniform un amestec de 5 g hidroxilapatită tratată în prealabil conform exemplului 1, 5 g TCP (trifosfat de calciu) și 25 g nanocapsule obținute conform exemplului 3.

Pasta se poate întări prin expunerea la UV timp de 5 min.

#### Componenta B

Într-un recipient se cântăresc 30 g HEMA în care se dizolvă 1 % POB (peroxid de benzoil). Soluția obținută se amestecă cu 21 g policaprolactonă-diol, 2 g UDMA (uretan dimetacrilat), 12 g PEG (poietilen glicol) pentru a forma amestecul final lichid. În acest amestec au fost dispersate uniform 35 g nanocapsule obținute conform exemplului 3.

**Exemplul 5**

Se amestecă părți egale de pastă A și B obținute conform exemplului 4 care se întăresc prin expunere la UV.

**Exemplul 6**

Se realizează un material bidegradabil în două componente cu următoarea compoziție:

*Componenta A*

Într-un recipient se cântăresc 25 g HEMA, 0,2 g dietilenglicoldimetacrilat în care se dizolvă 0,046 g p-metoxibenzoil difenilfosfinoxid, CQ, 0,184 g DHEPT, respectiv 0,092 g DMAEM. Soluția obținută se amestecă cu 23 g policaprolactonă diol 3 g UDMA (uretan dimetacrilat), 12 g PEG (poietilen glicol) pentru a forma amestecul final lichid. În acest amestec a fost dispersat uniform un amestec de 35 g fosfat tricalcic.

Pasta se poate întări prin aplicarea / expunerea la UV timp de 10 min.

*Componenta B*

Într-un recipient se cântăresc 25 g HEMA în care se dizolvă 0,2 g POB, 21 g policaprolactonă-dioli, 2 g UDMA (uretan dimetacrilat), 12 g PEG (poietilen glicol) pentru a forma amestecul final lichid. În acest amestec au fost dispersate uniform 35 g nanocapsule cu trifosfat de calciu obținute conform exemplului 3.

**Exemplul 7**

Se amestecă părți egale de pastă A și B obținute conform exemplului 3 care se întăresc prin expunere la UV.



## Revendicări

1. Compoziție, biodegradabilă destinată a fi utilizată la regenerarea defectelor osoase caracterizată prin aceea că este formată dintr-o fază organică formată din HEMA ( 30 - 70) %, PCLdiol (30 - 70) %, polietilen glicol (0,5 - 3) % în care a fost dispersată (40 - 60) % nanocapsule cu HAP sau fosfat tricalcic. Compoziție biodegradabilă destinată a fi utilizată la regenerarea defectelor osoase, caracterizată prin aceea că este formulată a fi întărită cu sistem dual de polimerizare chimică și fotochimică în UV, în două componente care se vor amesteca înaintea utilizării.

2. Compoziția materialului de regenerarea defectelor osoase, conform actualului brevet, este formată din fază organică și fază anorganică. Faza organică este constituită din 2-hidroxiethylmetacrilat (HEMA) (30-60) %, policaprolactonă diol (10-50) %, monomer uretanic (5-10) %, polietilen glicol (10-30) %. Faza anorganică este constituită din nanoparticule, sau combinații de nanocapsule și /sau hidroxiapatita și/sau trifosfat de calciu.

