



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2021 00643**

(22) Data de depozit: **25/10/2021**

(41) Data publicării cererii:  
**28/04/2023** BOPI nr. **4/2023**

(71) Solicitant:  
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU  
CHIMIE ȘI PETROCHIMIE - ICECHIM,  
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.202,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:  
• **IANCHIȘ RALUCA, STR. COPȘA MICĂ  
NR. 24A, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **LEU ALEXA REBECA,  
STR. NICOLAE ONCESCU, NR.9, BL.111,  
SC.1, AP.23, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,  
RO;**  
• **MARIN MARIA- MINODORA,  
STR.VALEA PIETRĂREȘTILOI, NR.64,  
SAT PĂUȘEȘTI OTĂȘĂU, VL, RO;**  
• **GIȚU IOANA CĂTĂLINA,  
STR.TINERETULUI, NR.15, BL.26, SC.B,  
AP.38, MORENI, DB, RO;**

• **NINCIULEANU CLAUDIA MIHAELA,  
STR.ZORILOR NR.1, BL.P3, SC.A, ET.4,  
AP.28, RÂMNICU VÂLCEA, VL, RO;**  
• **ALEXANDRESCU ELVIRA,  
STR.ALEXANDRU LĂPUȘNEANU NR.77,  
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **SCOMOROSCENCO CRISTINA,  
BD.METALURGIEI, NR.468-472, BL.C7,  
AP.28, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **BURLACU SABINA GEORGIANA,  
STR.RAHOVEI, NR.24-26, SC.B, E.2, AP.12,  
BRAGADIRU, IF, RO;**  
• **MIHĂESCU CĂTĂLIN IONUȚ,  
BD.TRAIAN VUIA, NR.20, BL.Y19, SC.2,  
ET.3, AP.35, GALAȚI, GL, RO;**  
• **NISTOR CRISTINA LAVINIA,  
ȘOS. ALEXANDRIA NR. 16, BL. L4, ET. 1,  
AP. 41, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **PETCU CRISTIAN, B-DUL 1 MAI NR. 15  
BL. C3, SC. 3, AP.104, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **IOVU HORIA, STR.MARIA TĂNASE NR.3,  
BL.13, SC.B, ET.4, AP.49, SECTOR 4,  
BUCUREȘTI, B, RO**

(54) **COMPOZIȚIE ȘI PROCEDEU DE OBȚINERE A UNOR  
HIDROGELURI PE BAZĂ DE SALECAN ȘI DE UTILIZARE  
A ACESTORA PENTRU MANUFACTURARE ADITIVĂ**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor hidrogeluri utilizate pentru fabricarea unor structuri reticulate printate 3D. Procedeu, conform invenției, constă în etapele: preparare a unor soluții de 5...15% acid citric în apă ultrapură, hidratare a 1...10% polizaharidă salean în soluția de acid citric sub agitare mecanică de 600...800 rpm și temperatura de 25...40°C timp de 4...6h, creșterea temperaturii și menținerea compozițiilor de hidrogel la 50°C timp de 10...20 h, omogenizarea cu ajutorul unei sonde de ultraomogenizare timp de 2...5 min, centrifugare timp de 10...20

min la 7000...9000 rpm, formarea în matriță de teflon, uscarea prin liofilizare și tratament termic al xerogelurilor la temperatura de 40...60°C timp de 20...30 h și la 100...150°C timp de 5...30 min, rezultând hidrogeluri reticulate cu structuri spongioase cu pori interconectați care permit încapsularea de agenți bioactivi, precum și adeziunea și proliferarea celulară.

Revendicări: 3  
Figuri: 3

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, 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).



## COMPOZIȚIE ȘI PROCEDEU DE OBTINERE A UNOR HIDROGELURI PE BAZĂ DE SALECAN ȘI DE UTILIZARE A ACESTORA PENTRU MANUFACTURARE ADITIVĂ

Prezenta invenție se referă la compoziții și la procedeul de obținere al unor hidrogeluri pe bază de Salecan și la utilizarea acestora în procesul de manufacturare aditivă a unor construcții 3D cu posibilă utilizare în medicină regenerativă.

### *Descrierea stadiului actual*

Imprimarea 3D sau procesul de manufacturare aditivă este o tehnologie emergentă implementată în diferite domenii, cum ar fi cercetarea, industria auto, aerospațială, medicală și biomedicală, arhitectură și construcții, industria modei și industria alimentară.

În mod special, imprimarea 3D s-a remarcat pe scena medicinei regenerative și aceasta datorită potențialului său de a crea rapid structuri 3D complexe specifice pacientului dar și posibilității de a biofabrica implanturi prin includerea celulelor pacientului direct în formulările de printare, reducând astfel riscul de respingere a implanturilor de către pacient[1,2].

În prezent, hidrogelurile sunt considerate unele dintre cele mai bune biomateriale pentru formularea cernelurilor de printare, deoarece se aseamănă evident cu structura țesuturilor umane, oferind un micro mediu viabil pentru aderența, creșterea și proliferarea celulelor[3,4]. Astfel, s-a constatat un interes extraordinar pentru dezvoltarea de materiale pe bază de hidrogel utilizabile în procesul de manufacturare aditivă a unor implanturi destinate regenerării sau înlocuirii unor părți ale corpului omenesc cum ar fi cartilaj, os, organe[5–8].

În pofida efortului susținut al cercetătorilor și a creșterii numărului de studii științifice în domeniul manufacturării aditive de implanturi, sinteza unor formulări potrivite și procesarea aditivă a acestora în arhitecturi 3D stabile, cu proprietăți mecanice, de biodegradare și bioactivitate reglabile, constituie încă o reală provocare pentru comunitatea științifică.

Imprimarea 3D de materiale pe bază de hidrogel întâmpină o serie de provocări, în special din cauza reologiei și rezistenței mecanice slabe a acestor materiale moi. În acest sens, cernelurile pe bază de hidrogeluri reticulate sunt materiale promițătoare pentru ingineria țesuturilor îndeplinind diversele cerințe, inclusiv bioactivitatea, rezistența mecanică sporită, proprietăți de degradare controlabile și procedeul ușor de obținere. Astfel, se cunosc hidrogeluri care se au fost utilizate pentru prepararea unor cerneluri de printare. În continuare,

se vor prezenta o selecție de brevete referitoare la câteva din metodele și materialele utilizate pentru imprimarea 3D a obiectelor pe bază de hidrogel.

Brevetul **WO2017132464A1** descrie sisteme de imprimare 3D, metode și materiale pentru imprimarea 3D a obiectelor pe bază de hidrogel pentru organe sau alte structuri biologice. Hidrogelul poate fi fibrilină, elastină sau PEG-alginat. Odată ce imprimarea 3D s-a finalizat, hidrogelul poate fi îndepărtat și materialul suport poate fi topit sau dizolvat lăsând un implant pe bază de hidrogel care poate fi infuzat cu celule vii ale organului sau structurii biologice dorite. Astfel, așa cum este specificat într-un alt brevet referitor la compoziții pe bază de hidrogel **US2017198252A**, implantul 3D rezultat trebuie să fie biocompatibil cu celulele, să nu fie toxic, să producă un răspuns imun scăzut, să favorizeze proliferarea celulară și să fie biodegradabil. Totodată, printarea 3D este utilizată și pentru generarea unor modele de organe sau organoizi, metode prezentate în multiple brevete, dintre care menționăm **US10513691B2**, **CN103996219A**, **CN105096715A**, **CN104123752A**,

Brevetul **WO2021186335A1** descrie o cerneală pentru imprimare 3D pe bază de hidrogel, conjugatul aferent și procesul de preparare a unui intermediar constând dintr-un reticulant fotoreactiv bifuncțional. În **WO2021183092A1** sunt brevetate truse de printare tridimensională de hidrogel, metodele și sistemele de printare ale hidrogelurilor. Trusele de printare cu hidrogel pot include un material de printare care poate fi un polimer polihidroxilat, un agent de reticulare reactiv cu grupările hidroxil ale polimerului și un agent de detectare a aminei care poate fi un compus reactiv la amină. De asemenea, în brevetul **WO2021174008A1** sunt făcute cunoscute compoziții, metode, truse și sisteme referitoare la microgeluri neutre. Microgelurile preparate sunt indicate pentru culturi de celule, utilizarea în bioreactoare și/sau imprimarea 3D folosind celule.

Invenția **KR20210078793A** se referă la o compoziție de printare pe bază de hidrogel și o metodă pentru fabricarea unui implant tridimensional biodegradabil care poate fi utilizat pentru regenerarea țesuturilor moi. De asemenea, brevetul **WO2021123344A1** descrie compoziții multicomponente bazate pe combinații inovatoare de fibrinogen, trombină, hidrogeluri și săruri de calciu/fosfor. Aceste compoziții sunt capabile să fie folosite în procesul de imprimare 3D pentru a produce construcții osoase precise cu geometrie predefinită.

Invenția din brevetul **WO2018122424A1** se referă la producerea de biomateriale compozite nanostructurate și bioactive pentru imprimarea 3D a dispozitivelor medicale, formate din amestecuri biocompatibile de polimeri derivați de dimetacrilat uretan, metacrilat de tetrahidrofurfuril, metacrilat de metil, polimetilmetacrilat, 2-hidroxietil metacrilat, alcool

vinilic, alcool polivinilic, acid polilactic, acid poliglicolic, acetat de vinil și acetat de polivinil, combinate cu fotoinițiatori și amestecuri de nano- și micro-particule de compozite anorganice de fosfați de hidroxicarbonat de oxid de calciu și titan dopat cu nanotuburi de carbon multistrat și grafenă. Amestecurile rezultate sunt printabile, permițând reproducerea exactă a imaginilor solide virtuale ale părților de țesuturi și organe. Polimerii dețin proprietăți mecanice adecvate, fiind biocompatibili, ceea ce permite utilizarea acestora la producerea implanturilor.

Brevetul **CN112516330A** propune o metodă de preparare ușor de utilizat și fezabilă a unui hidrogel cu aplicație în imprimarea 3D de implanturi poroase destinate leziunilor osteocondrale. Brevetul prezintă metoda de obținere a hidrogelului prin cuplarea fibroinei de mătase cu un hormon paratiroidian în prezența unui agent de reticulare. Hidrogelul propus este indicat ca având un impact social și economic semnificativ.

Printre numeroșii biopolimeri care pot fi utilizați pentru obținerea hidrogelurilor, polizaharidele prezintă un interes deosebit datorită proprietăților lor excelente și unice, precum natura hidrofilă, biodegradabilitatea și biocompatibilitatea ridicată. Mai mult, polizaharidele pot fi obținute din surse regenerabile, prezentând avantaje economice în comparație cu polimerii sintetici tradiționali. Dintre polizaharidele folosite pentru dezvoltarea de materiale pentru aplicații biomedicale, se numără și o polizaharidă descoperită destul de recent și anume, polizaharida microbială cu denumirea comercială de salecan. Salecanul este obținut din substanțele polimerice extracelulare extrase din solul de pe coasta oceanului Dongying cu ajutorul unei noi tulpini rezistentă la sare intitulată *Agrobacterium sp. ZX09*[9].

Până în prezent, există doar câteva brevete cu referire la salecan și majoritatea aparțin grupului din China care a descoperit polizaharida. Aceste brevete fac cunoscute aspecte ale utilizării salecanului ca ingredient principal sau secundar în diverse compoziții pentru diferite aplicații în medicină. Datorită capacității de absorbție ridicate, polizaharida a fost utilizată în combinație cu polimeri sintetici la obținerea unor hidrogeluri semi-sintetice, având perspective de aplicare în domeniile eliberării de medicamente, ingineria țesuturilor, știința materialelor. Astfel, invenția prezentată în patentul **CN108623821A**, se referă la o metodă de grefare a salecanului cu clorură de N,N,N-trimetil-3-(2-metacrililamino)-1-propilamoniu pentru obținerea unui hidrogel cationic superporos cu structură reticulată. Acest hidrogel semi-sintetic a dovedit o bună biocompatibilitate precum și o capacitate mare de absorbție a apei și implicit de medicamente. De asemenea, cererea de brevet **RO133753A2** se referă la un procedeu de preparare a unor hidrogeluri compozite semi-sintetice pe bază de acid

polimetacrilic cu salean și argilă naturală destinată fabricării de produse cu proprietăți absorbante îmbunătățite.

Patentele **CN107048045A** și **CN102058616A** prezintă utilizarea saleanului în nutriție, polizaharida fiind capabilă să îmbunătățească sănătatea tractul gastro-intestinal și să prevină constipația. Patentul **CN104116756A** prezintă efectele benefice ale saleanului în vindecarea rănilor cutanate. Astfel, rezultatele testelor *in vivo* realizate pe model animal-șoarece, au evidențiat faptul că răspunsul inflamator și riscul de infecție sunt reduse iar procesul de vindecare al plăgii este accelerat ca urmare a tratamentului inventiv cu salean. De asemenea, patentul **CN103735566A** brevetează aplicarea saleanului în prevenirea unor leziuni provocate de razele ultraviolete UVA. Conform acestei invenții, polizaharida poate fi utilizată pentru prepararea de medicamente și produse cosmetice anti-ultraviolete.

Totodată, cererea de brevet **CN113248742A** expune o metodă de preparare de hidrogeluri pe bază de salean cu ioni de fier și acid citric. Aceste hidrogeluri prezintă caracteristici de răspuns dublu la lumină și pH, oferind avantaje în domeniul materialelor biomedicale inteligente.

Studiile anterioare demonstrează faptul că hidrogelurile pe bază de salean sunt materiale potrivite pentru aplicații în domeniul medicinei și implicit și pentru manufacturarea aditivă de implanturi proiectate pentru regenerarea tisulară.

Rezultatele obținute până în prezent în domeniul biomaterialelor sunt promițătoare, dar există încă multe aspecte care trebuie explorate și studiate pentru dezvoltarea și utilizarea biomaterialelor în procesul de manufacturare aditivă pentru fabricarea unor implanturi tridimensionale personalizate destinate regenerării diverselor țesuturi.

**Noutatea invenției** constă în producerea, pentru prima dată, a unor compoziții de hidrogel ce conțin polizaharidă salean și acid citric și în stabilirea unui procedeu de obținere al unor materiale noi și al unor structuri imprimate 3D reticulate prin reacția de policondensare a saleanului cu acid citric, în anumite condiții de temperatură. Menționăm faptul că, invenția răspunde provocărilor actuale de a dezvolta și utiliza biomateriale pe bază de hidrogel folosind derivate din resurse naturale ce conferă proprietăți adecvate pentru imprimarea unor arhitecturi 3D având fidelitate ridicată a formei printate.

**Problema tehnică pe care o rezolvă invenția** constă în obținerea unor compoziții ce stau la baza producerii unui hidrogel reticulat de salean cu proprietăți morfo-structurale reglabile, în urma determinării unui raport optim între componenți și a stabilirii procedeuului de obținere al unui suport 3D reticulat, stabil în mediu fiziologic. Invenția de față reprezintă o soluție simplă și economică pentru obținerea de materiale noi de printare și implanturi 3D

bioresorbabile pe baza de hidrogel, derivate din resurse naturale, cu aplicații în ingineria tisulară și implicit medicina regenerativă, pentru producerea de dispozitive medicale personalizate. Procedul descris conduce la obținerea printr-o metoda simplă de sinteză a unor materiale inovatoare și a unor construcții 3D stabile în mediu fiziologic reprodus (soluție tampon, PBS, pH=7.4), cu proprietăți morfostructurale reglabile în funcție de compoziție. Preferabil materialul pe bază de salean are caracteristici fizico-chimice dependente de cantitatea de biopolimer folosite în sinteză.

**Soluția tehnică** propusă în invenție se referă la dezvoltarea unor compoziții inovatoare pe bază de hidrogel de polizaharidă microbială cu un acid organic natural și la un procedeu de obținere al hidrogelurilor reticulate. Aceste hidrogeluri sunt folosite ulterior ca paste de printare pentru fabricarea aditivă de implanturi 3D multistratificate reticulate și cu formă precisă. Astfel, invenția dezvoltă formulări pentru printarea unor implanturi versatile bioresorbabile, capabile să satisfacă o multitudine de forme și dimensiuni și un spectru larg de texturi tisulare.

#### **Descrierea invenției**

Invenția constă într-un procedeu de obținere a unor materiale pe bază de hidrogel de salean adecvate pentru procesul de fabricare aditivă a unor arhitecturi 3D cu formă bine definită, reticulate și cu proprietăți morfo-structurale variabile. De asemenea, un aspect important în dezvoltarea materialelor îl constituie utilizarea unor componenți derivați din resurse naturale și anume, polizaharida microbială salean extrasă din sol și acidul citric extras din citrice prin fermentare. Astfel, prin folosirea acestor ingrediente derivate din resurse naturale se propune o alternativă sustenabilă și accesibilă comparativ cu alți componenți sintetici. Materialele pe bază de hidrogel reticulat de salean dezvoltate în cadrul acestei invenții au fost sintetizate prin reacția de policondensare cu acid organic natural clasificat ca aditiv alimentar sigur.

Astfel, invenția se referă la procedeu de obținere al hidrogelurilor reticulate, la compozițiile pe bază de salean și acid citric și la aplicarea compozițiilor ca formulări de printare pentru generarea unor construcții 3D prin fabricare aditivă. Cantitatea de polizaharidă dar și de agent de reticulare conținute în compozițiile de hidrogel pot fi ajustate, selectând cantitățile dorite în pregătirea compoziției inițiale de hidrogel nereticulat, în funcție de proprietățile morfostructurale vizate ale implanturile 3D finale. O concentrație prea mică de polizaharidă conduce la forme printate cu geometrie nedefinită care colapsează, iar un conținut prea mare de salean duce la creșterea densității de reticulare și rigidității implanturilor printate.

Alături de fidelitatea ridicată a formei, speci­menele printate reticulate finale prezintă foarte bună stabilitate în timp și degradare reglabilă în mediu acid (pH=5.5) și mediu neutru (pH=7.4) la 37 °C datorită reticulării durabile a rețelelor de biopolimer în funcție de compoziția pastei de printare stabilită inițial. De asemenea, creșterea preciziei fomei printate este datorată utilizării unei cantități variate de salecan în etapa inițială de preparare a compozițiilor cernelurilor de printare, cantități care determină viscozități reglabile. De asemenea, un aspect foarte important în procesul de printare 3D îl constituie selectarea parametrilor de printare și a acului pentru printare în vederea generării unor implanturi multistratificate stabile în timp și cu precizie ridicată a formei.

Procedeul de obținere al hidrogelurilor reticulate pe bază de Salecan și acid citric implică următoarele *etape experimentale*:

- I. prepararea unor soluții de 5-15% acid citric în apă ultrapură;
- II. hidratarea a 1-10% polizaharidă în soluțiile de 5-15% acid citric sub agitare mecanică asigurată de un termomixer cu mișcare orbitală la 600...800 rpm și temperatură de 25-40 °C, timp de 4-6 ore;
- III. creșterea temperaturii și menținerea compozițiilor de hidrogel la 50 °C timp de 10-20 ore;
- IV. ultraomogenizarea hidrogelurilor cu ajutorul unei sonde de ultraomogenizare, timp de 2-5 min;
- V. centrifugarea probelor timp de 10-20 min la 7000-9000 rpm;
- VI. plasarea atentă a hidrogelurilor într-o matriță de teflon de construcție proprie;
- VII. uscarea probelor prin liofilizare;
- VIII. efectuarea tratamentului termic asupra xerogelurilor prin introducerea probelor în etuvă și menținerea acestora la 40-60 °C timp de 20-30h și ulterior, aplicarea unui șoc termic prin menținerea pastilelor la 100-150 °C timp de 5-30 min.

Hidrogelurile reticulate rezultate prezintă grade de reticulare dependente de cantitatea de polizaharidă utilizată în sinteză. De asemenea, gradele de gonflare în mediu acid și mediu fiziologic mimat sunt dependente de cantitățile de agent de reticulare și biopolimer utilizate la prepararea compozițiile inițiale ce determină caracteristici morfostructurale variate.

Procedeul de obținere al unor structuri printate 3D reticulate, a constat în următoarele *etape experimentale*:

- I. prepararea unei soluții de 5-15% acid citric în apă ultrapură;

II. hidratarea a 1-10% polizaharidă în soluția de 5-15% acid citric sub agitare mecanică asigurată de un termomixer cu mișcare orbitală la 600...800 rpm și temperatură de 25-40 °C, timp de 4-6 ore;

III. creșterea temperaturii și menținerea compozițiilor de hidrogel la 50 °C timp de 10-20h;

IV. ultraomogenizarea hidrogelurilor cu ajutorul unei sonde de ultraomogenizare, timp de 2-5 min;

V. centrifugarea probelor timp de 10-20 min;

VI. proiectarea modelului de printare prin utilizare unui program dedicat;

VII. plasarea probelor în cartușe de printare 5-15 ml și selectarea duzei de printare corespunzătoare ( $\varnothing$  0.1-0.5 mm);

VIII. stabilirea parametrilor de printare corespunzători: presiune = 50-150 kPa; viteze de imprimare = 1-15 mm/s.

IX. fabricarea aditivă cu ajutorul unei imprimante 3D de ultimă generație prin realizarea de construcții 3D multistratificate prin procesul de extrudare al pastelor pe bază de hidrogel, la temperaturi de 25-30 °C;

X. uscarea structurilor 3D printate prin liofilizare;

XI. efectuarea unui tratament termic prin introducerea structurilor 3D în etuvă și menținerea acestora la 40-60 °C timp de 20-30h și ulterior aplicarea unui șoc termic prin menținerea formelor printate la 100-150 °C timp de 5-30 min.

Hidrogelurile pe bază de salean și acid citric au reologie diferită în funcție de compoziție și pot asigura fabricarea aditivă a unor construcții 3D cu varierea straturilor de 1 până la 30.

#### ***Avantajele invenției în raport cu stadiul tehnicii:***

Materialele reticulate sub formă de pastilă precum și formele printate 3D reticulate obținute prin fabricare aditivă sintetizate conform invenției prezintă următoarele **avantaje**:

- se obțin hidrogeluri reticulate sustenabile folosind derivate din resurse naturale, saleanul și acidul citric fiind compuși prietenoși cu mediul, netoxici, biodegradabili.
- morfologia hidrogelurilor reticulate poate fi controlată în funcție de cantitățile de biopolimer și agent de reticulare, acestea având un efect major în modelarea proprietăților specifice țesutului vizat;
- hidrogelurile obținute au stabilitate ridicată și proprietăți de degradare reglabile în urma stabilirii unor tratamente termice și procedee de reticulare eficiente;



- materialele permit încapsularea și ulterior eliberarea unor agenți bioactivi prin controlarea morfologiei cu ajutorul stabilirii unor compoziții corespunzătoare;
- construcțiile 3D sunt realizate prin procedeul rapid de fabricare aditivă prin extrudare cu consum redus de material, în comparație cu tehnicile convenționale;
- prin folosirea procesului de manufacturare aditivă se asigură imprimarea unor forme bine definite și se facilitează personalizarea implanturilor.

În continuare sunt prezentate 2 exemple de realizare a hidrogelurilor reticulate conform invenției:

### ***Exemplul 1***

Pentru obținerea hidrogelurilor reticulate sub formă de pastilă pe bază de ***salecan și acid citric*** se procedează în felul următor:

Într-o fiolă de sticlă prevăzută cu bară magnetică se introduc 5-15 g de acid citric. Se adaugă apă ultrapură pentru obținerea concentrației dorite iar soluția se menține sub agitare magnetică la temperatura camerei până la dizolvarea completă a acidului citric. Se adaugă apoi 1-10 g polizaharidă iar amestecul obținut se menține sub agitare mecanică asigurată de un termomixer cu mișcare orbitală la 600...800 rpm și temperatură de 25-40 °C, timp de 4-6 ore, până la hidratarea completă a salecanului.

Pentru obținerea unor probe reticulate pe bază de salecan și acid citric, obținute ca urmare a reacțiilor de policondensare dintre componenți, probele se supun unui tratament termic în două etape. Prima etapă constă în plasarea probelor de hidrogel în etuvă și menținerea acestora la o temperatură de 50 °C timp de 10-20 ore. Probele se răcesc și se ultraomogenizează cu ajutorul unei sonde de ultraomogenizare, timp de 2-5 min. Pentru îndepărtarea bulelor de aer, probele se centrifughează timp de 10-20 min la 7000-9000 rpm. Se realizează plasarea atentă a hidrogelurilor într-o matriță de teflon de construcție proprie, probele urmând să fie uscate prin liofilizare. Probele liofilizate obținute se supun etapei a doua de tratament termic, ce constă în menținerea probelor uscate la 40-60 °C timp de 20-30 h și ulterior, aplicarea unui șoc termic la 100-150 °C timp de 5-30 min. După obținere, probele sunt spălate cu apă distilată pentru îndepărtarea compușilor nereacționați timp de trei zile, apa schimbându-se în fiecare zi.

De-a lungul procesului de spălare s-au determinat fracțiile de gel aferente fiecărei probe. S-au calculat astfel fracții de gel mai mari la probele cu concentrație de salecan mai mare, fracția de gel fiind slab modificată pentru probele cu concentrație fixă de salecan și concentrație variabilă de acid citric. Hidrogelurile reticulate rezultate prezintă grade de gonflare la echilibru în mediu acid și mediu neutru, dependente de cantitățile de salecan și

acid citric folosite în sinteză. Astfel, rezultatele obținute indică obținerea unor probe de hidrogel mai reticulate la concentrații mai mari de salean și probe mai slab reticulate obținute la concentrații mai mici de polizaharidă.

Analiza morfologică prin SEM a probelor liofilizate evidențiază formarea unor structuri spongioase cu pori interconectați (**Figura 1**). Acest lucru este benefic pentru încapsularea de agenți bioactivi precum și pentru adeziunea și proliferarea celulară. S-a observat faptul că dimensiunea porilor variază în funcție de compoziția hidrogelurilor.

### **Exemplul 2**

Se prepară compozițiile pe bază de salean și acid citric în mod similar cu exemplul 1 exceptând a doua etapă de tratament termic.

### **Exemplul 3**

Pentru obținerea structurilor printate 3D pe bază de **salecan și acid citric** se procedează în felul următor:

Se prepară compozițiile pe bază de salean și acid citric și se aplică prima etapă de tratament termic în mod similar cu exemplul 1. Înainte de etapa a doua de tratament termic specificată în exemplul 1, probele de hidrogel se ultrasonează și se centrifughează conform exemplului 1. Ulterior, probele de hidrogel sunt încărcate în cartușe de printare de 5-15 ml pentru realizarea modelelor 3D printate cu ajutorul unei imprimante 3D de ultimă generație. Așadar, se proiectează modelul de printare prin utilizarea unui program dedicat iar apoi se stabilesc parametrii de printare corespunzători, presiune = 50-150 kPa; viteze de imprimare = 1-15 mm/s cât și diametrul duzei de printare  $\varnothing$  0.1-0.5 mm. În continuare, se procedează la fabricarea aditivă prin realizarea de construcții 3D multistratificate prin procesul de extrudare al pastelor pe bază de hidrogel, la temperaturi cuprinse între 25-30 °C (**Figura 2**). Construcțiile printate 3D se congelează imediat după fabricare și se usucă prin liofilizare. Se efectuează apoi a doua etapă de tratament termic a structurilor 3D în mod similar cu cel descris la exemplul 1.

Probele astfel obținute se analizează din punct de vedere al fidelității printării prin analiza de microscopie electronică SEM (**Figura 3**). Astfel, prin calcularea circularității folosind imaginile SEM și ecuația Wadell[10] se evidențiază dependența preciziei formei printate 3D în funcție de compozițiile utilizate în procesul de fabricare aditivă fiind posibilă printarea unor construcții de 1 până la 30 straturi.

*Această lucrare a fost realizată în cadrul proiectului PN-III-P2-2.1-PED-2019-4216, contract nr. 332PED/2020, derulat cu sprijinul Ministerului Cercetării, Inovării și Digitalizării din România, CNCS/CCCDI – UEFISCDI.*

## COMPOZIȚIE ȘI PROCEDEU DE OBTINERE A UNOR HIDROGELURI PE BAZĂ DE SALECAN ȘI DE UTILIZARE A ACESTORA PENTRU MANUFACTURARE ADITIVĂ

### REVENDICĂRI

**1. Compoziție pe bază de hidrogeluri caracterizată prin aceea** că este constituită din polizaharida salecan, având concentrația cuprinsă între 1 și 10% gravimetric și din acid citric, având concentrația de 5 până la 10%, în apă ultrapură, procente gravimetrice în raport cu cantitatea totală a compoziției hidrogelului.

**2. Procedeu de obținere** al unor a unor hidrogeluri reticulate pe bază de salecan și acid citric, *caracterizat prin aceea că* implică următoarele etape principale:

I. prepararea unor soluții de 5-15% acid citric în apă ultrapură;

II. hidratarea a 1-10% polizaharidă în soluțiile de 5-15% acid citric sub agitare mecanică asigurată de un termomixer cu mișcare orbitală la 600...800 rpm și temperatură de 25-40 °C, timp de 4-6 ore;

III. creșterea temperaturii și menținerea compozițiilor de hidrogel la 50 °C timp de 10-20 ore;

IV. ultraomogenizarea hidrogelurilor cu ajutorul unei sonde de ultraomogenizare, timp de 2-5 min;

V. centrifugarea probelor timp de 10-20 min la 7000-9000 rpm;

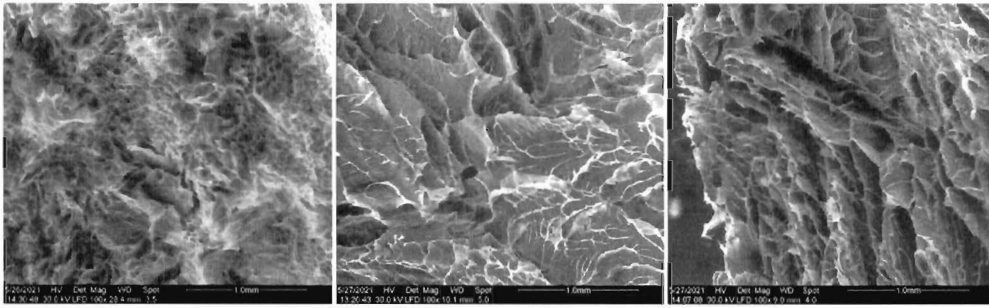
VI. plasarea atentă a hidrogelurilor într-o matriță de teflon de construcție proprie;

VII. uscarea probelor prin liofilizare;

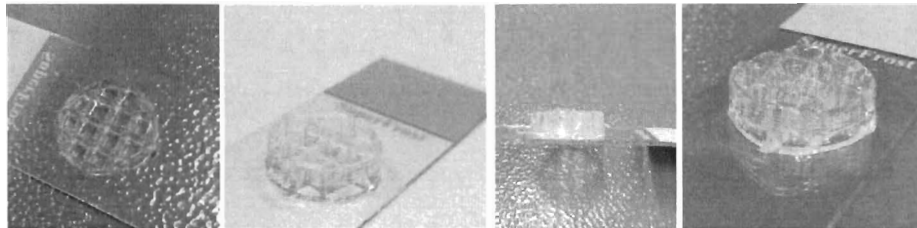
VIII. efectuarea tratamentului termic asupra xerogelurilor prin introducerea probelor în etuvă și menținerea acestora la 40-60 °C timp de 20-30h și ulterior, aplicarea unui șoc termic prin menținerea pastilelor la 100-150 °C timp de 5-30 min.

**3. Procedeu de obținere** al unor structuri reticulate printate 3D pe bază de salecan și acid citric, *caracterizat prin aceea că* respectă succesiunea operațiilor procedului menționat în revendicarea 2 dar cu introducerea pasului de fabricație aditivă între cele două etape de tratament termic, și anume, proiectarea modelului de printare prin utilizare unui program dedicat; plasarea probelor în cartușe de printare 5-15 ml și selectarea duzei de printare corespunzătoare ( $\varnothing$  0.1-0.5 mm); stabilirea parametrilor de printare corespunzători: presiune = 50-150 kPa; viteze de imprimare = 1-15 mm/s; realizarea de construcții 3D multistratificate prin procesul de extrudare al pastelor pe bază de hidrogel, la temperaturi de 25-30 °C.

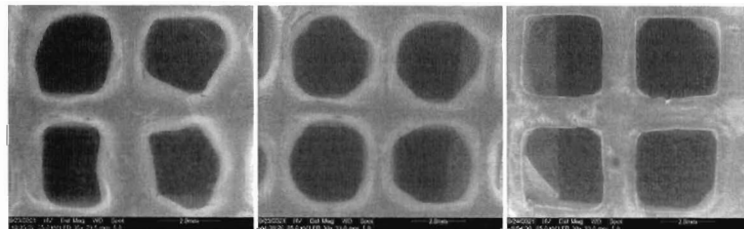
## FIGURI EXPLICATIVE



*Figura 1. Imagini obținute prin microscopie electronică de baleiaj pentru probele reticulate pe bază de salecian uscate prin liofilizare*



*Figura 2. Fotografii realizate ulterior procesului de manufacturare aditivă a structurilor 3D folosind cerneluri pe bază de hidrogel de salecian*



*Figura 3. Imagini SEM obținute pentru probele printate 3D pe bază de salecian*