



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2022 00127

(22) Data de depozit: 16/03/2022

(41) Data publicării cererii:
29/09/2023 BOPI nr. 9/2023

(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;
• MARIN MARIA- MINODORA,
STR.VALEA PIETRĂREȘTILOI, NR.64,
SAT PĂUȘEȘTI OTĂȘĂU, VL, RO;
• LEU ALEXA REBECA, STR.NICOLAE
ONCESCU, NR.9, BL.111, SC.1, AP.23,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• GÎFU 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) COMPOZIȚII ȘI PROCEDEU DE OBȚINERE A UNOR
HIDROGELURI COMPOZITE PE BAZĂ DE POLIZAHARIDE
NATURALE ȘI APLICAREA ACESTORA ÎN PROCESUL
DE IMPRIMARE TRIDIMENSIONALĂ

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor structuri 3D reticulate cu aplicații în medicina regenerativă personalizată. Procedeu, conform invenției, constă în etapele de: preparare a unui amestec solid de biopolimeri conținând în procente masice 5...12% alginat și 5...12% salean, hidratarea amestecului solid în apă ultrapură, la temperatura de 25...40°C, timp de 12...16 h, rezultând o compoziție inițială de hidrogel nereticulat, care este supusă procesului de imprimare tridimensională a unor structuri 3D cu formă precisă, la

parametri de printare specifici modelului: presiune de 150...500 kPa și viteze de 4...10 mm/s, reticularea structurilor printate 3D, prin introducerea în soluție apoasă de 1...2% clorură de calciu, eventual în combinație cu soluție de acid citric de concentrație 5...15%, rezultând structuri 3D reticulate cu 1...10 straturi, cu stabilitate ridicată și proprietăți de degradare reglabile.

Revendicări: 3

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).



**COMPOZIȚII ȘI PROCEDUL DE OBTINERE A UNOR HIDROGELURI
COMPOZITE PE BAZĂ DE POLIZAHARIDE NATURALE ȘI APLICAREA
ACESTORA ÎN PROCESUL DE IMPRIMARE TRIDIMENSIONALĂ**

Invenția se referă la compoziții și la procedeul de obținere al unor hidrogeluri bicomponente ce conțin alginat și salecan cu aplicabilitate în procesul de imprimare tridimensională pentru aplicații din domeniul biomedical. Hidrogelurile compozite de tip hidrogel-hidrogel obținute sub formă de pastă sunt folosite ulterior ca cerneluri în procesul de manufacturare aditivă, obținându-se mai departe, structuri 3D reticulate recomandate pentru aplicații în medicina regenerativă personalizată.

Descrierea stadiului actual

Imprimarea tridimensională (3D) sau manufacturarea aditivă, este o metodă rapidă de producere a unor obiecte complexe 3D având diferite forme și dimensiuni. Imprimarea 3D este utilizată în prezent pe scară largă în diferite industrii și anume: industria medicală, alimentară, aerospațială, auto, cât și industria de construcții.

Hidrogelurile sunt considerate materiale adecvate pentru imprimarea 3D, fiind unele dintre cele mai bune biomateriale în obținerea de cerneluri pentru (bio)printare. Studiile de cercetare atestă faptul că, proprietățile morfostructurale ale hidrogelurilor se aseamănă apreciabil cu cele ale țesuturilor umane, dovedind astfel, potențialul imens al acestora pentru dezvoltarea de implanturi destinate reconstrucției sau regenerării tisulare [1, 2].

Cu toate că numărul de studii privind construcția de obiecte 3D prin tehnica de manufacturare aditivă este în continuă creștere, obținerea unor cerneluri pe bază de hidrogel cu proprietăți satisfăcătoare pentru imprimarea acestora în construcții 3D cu formă predefinită, ce dețin proprietăți fizico-chimice controlabile, biocompatibilitate dar și (bio)degradare reglabilă, este considerată în continuare o sarcină provocatoare pentru cercetătorii în domeniu.

Chiar dacă hidrogelurile constituie materiale excelente pentru imprimarea 3D și un mediu adecvat pentru proliferarea celulară, majoritatea hidrogelurilor nu posedă reologia potrivită procesării aditive sau o bună rezistența mecanică a structurii imprimate. Prin urmare, s-a studiat intens îmbunătățirea acestor proprietăți prin dezvoltarea unor sisteme compozite de tip hidrogel-hidrogel sau hidrogeluri ranforsate cu particule, ce îmbină diferitele funcții și proprietăți ale componentelor încorporate și stabilizate prin legături fizice și/sau chimice în matricea polimeră.

În acest sens, s-au înregistrat progrese semnificative în dezvoltarea unor sisteme compozite pentru imprimare 3D cu performanțe mecanice și biofuncționalitate îmbunătățite.

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr.	a 2022 00127
Data depozit	16-03-2022

Dintre formulările proiectate pentru manufacturare aditivă, amintim cele pe bază de hidrogeluri obținute din polimeri naturali precum gelatina, colagen, alginat. În acest sens, cernelurile care au în componență alginatul dețin avantajul bicompatibilității dar și reticulării ionice cu randament crescut. Alginatul sau sarea de sodiu a acidului alginic este o polizaharidă anionică utilizată în mod curent pentru ingineria tisulară, fiind considerată un candidat ideal pentru imitarea morfologiei matricei extracelulare fiziologice. Cu toate acestea, reologia pastelor de alginat este inadecvată iar structurile printate 3D prezintă o fidelitate scăzută a formei, sunt instabile în condiții fiziologice iar creșterea concentrației de alginat nu are efect benefic asupra celulelor. Considerând cauzele menționate, alginatul s-a utilizat împreună cu diverși biopolimeri mai stabili, într-o multitudine de formulări destinate aplicațiilor biomedicale, dintre care și imprimarea 3D.

Sunt brevetate compoziții, procedee de obținere a pastelor, tehnici și metode de manufacturare aditivă dar și de aplicare în medicina regenerativă a structurilor 3D rezultate.

Brevetul **CN107139447A**, prezintă o metodă de obținere și de imprimare 3D a unui hidrogel de alginat de sodiu. Conform metodei, alginatul de sodiu este reticulat cu o soluție de ioni de calciu, iar anumite forme tridimensionale sunt obținute prin imprimarea 3D. Metoda este simplă, ecologică dar și necostisitoare fiind indicată pentru domenii de cercetare precum ingineria tisulară, roboți de simulare și biosenzori.

Vizând tot ingineria tisulară, brevetul **CN104399119A** prezintă o metodă de preparare a cartilajului prin tehnologia de bioprintare 3D a unui material constituit din alginat de sodiu, gelatină și anhidrida metacrilică, reticulat dual prin legături ionice și legături covalente. Se obține astfel, un cartilaj rezistent, cu proprietăți mecanice bune, biocompatibil și degradabil, ce posedă bioactivitate și este potrivit pentru creșterea celulelor, diferențierea acestora și realizarea funcțiilor celulare.

Metoda de reticulare duală este utilizată și în brevetul **CN108276522A**. În acest caz, fotoreticularea și reticularea ionică în prezența ionilor de fier, sunt aplicate unui hidrogel multicomponent constituit din alginat de sodiu, acrilamidă și acid acrilic. Astfel, se obțin diferite structuri complexe poroase, folosind tehnologia de imprimare 3D.

Hidrogeluri multicomponente având rețea duală sunt prezentate și în brevetele **CN109627842A**, **WO2020103918A1** și **CN107537064A**, unde alginatul este folosit alături de acid hialuronic acidizat cu acid metacrilic, polilizină, respectiv chitosan, obținându-se structuri 3D biocompatibile și stabile în mediul fiziologic.

Invenția **CN106421900A** prezintă o pastă de imprimare 3D cât și suportul 3D imprimat folosit pentru repararea țesuturilor. Materialul conține o soluție apoasă de alginat de sodiu și microsferă încărcate cu medicament dispersate uniform pentru eliberare controlată.

Inventatorii susțin faptul că, activitatea medicamentului nu este influențată de procesul de imprimare iar viteza de eliberare a medicamentului în suportul de reparare a țesuturilor este relativ mare. O invenție asemănătoare este prezentată în **CN109432505A**, ce descrie realizarea unui stent cu gel medical compozit poros imprimat 3D și încărcat cu medicament. Stent-ul de gel cuprinde, hidroxiapatită, silice mezoporoasă purtătoare de medicamente, glucolactonă și alginat de sodiu. Medicamentele încărcate se pot elibera încet iar stentul 3D posedă și funcții antibacteriene. De asemenea, brevetul **CN112898607A** revendică o schelă antibacteriană pentru inginerie tisulară obținută din alginat de sodiu, o metodă de preparare și aplicarea acesteia. Cerneala biologică cuprinde alginat de sodiu, antibiotice aminoglicozide și un solvent. Strategia este realizarea unei reacții de amidare între carboxilul din structura alginatului de sodiu și gruparea amino de pe antibioticele aminoglicozide. Astfel, suportul cu alginat de sodiu antibacterian poate elibera lent antibioticele aminoglicozide în timpul procesului de degradare.

O strategie asemănătoare este utilizată și în brevetul **CN111363168A** care propune realizarea unui hidrogel pentru printare 3D ce posedă și proprietăți de anticoagulare. Hidrogelul constituit din gelatină metacrilată, heparină și alginat, este supus procesului de fotopolimerizare dar și de reticulare covalentă prin reacția de amidare.

Invenția **CN108543116A** descrie imprimarea un suport 3D pentru altă aplicație si anume, regenerarea pancreatică. Suportul este constituit dintr-un hidrogel compozit cu alginat de sodiu și gelatină. Prin imprimarea 3D se obține un suport cu schelet mai fin, de dimensiuni mai mici ce asigură ulterior, un micromediu potrivit pentru transportul de substanțe nutritive, oxigen și substanțe bioactive la celulele pancreatice.

Brevetul **WO2017210663A1**, se referă la o nouă cerneală biologică pentru bioimprimarea 3D a pielii umane, în special a dermei, obținută prin utilizarea unui hidrogel pe bază de alginat conjugat cu RGD cu/fără nanoceluloză și/sau fibrină. În această invenție, biocerneala de alginat modificat cu RGD este printată împreună cu fibroblastele umane, suportul rezultat prezentând viabilitate celulară ridicată, proliferare celulară ridicată, grad ridicat de întindere a fibroblastelor și productivitate ridicată a colagenului de tip I. Inventatorii recomandă biocerneala fabricată în această invenție ca fiind ideală pentru testarea produselor cosmetice și a ingredientelor active ale produselor de îngrijire a pielii, în special cele utilizate pentru regenerarea pielii. De asemenea, este indicată pentru repararea pielii rănite sau arse. În aceeași direcție vine și brevetul **CN112206358A** ce se referă la fabricarea aditivă a unui stent biologic pentru repararea pielii și este constituit din straturi epidermice, straturi dermice și straturi de țesut subcutanat, care sunt plasate aditiv sub formă de hidrogel. Hidrogelul este preparat din alginat de sodiu, gelatină, colagen, acid hialuronic, elastina,

laminină, glicerol și altele asemenea. Conform cu invenția, prin reglarea compoziției straturilor de hidrogel se poate imita structura pielii favorizând o reparare eficientă.

Tot pentru terapia rănilor, brevetul **CN110694102A**, folosește alginatul împreună cu nanoargint și nitrat de argint pentru realizarea unui pansament pentru plăgi cu hidrogel imprimat 3D cu efect antibacterian cu acțiune prelungită. Materiile prime pentru construcția hidrogelului includ alcool polivinilic, carboximetil chitosan/chitosan, alginat de sodiu și apă deionizată iar proba 3D imprimată este reticulată prin îngheț-dezgheț și reticulare ionică.

De asemenea, brevetul **CN108144129A** propune o folie imprimată 3D obținută din material conductiv sintetizat împreună cu alginat, ca pansament pentru tratarea rănilor. Prin utilizarea tehnologiei de imprimare 3D, preparatul sintetizat poate furniza nutrienți pentru celulele pielii afectate, dar, în același timp, poate promova vindecarea rănilor, astfel încât să restabilească conexiunile nervilor, obținând astfel efecte curative duble.

Brevetul **CN112915264A** face cunoscută prepararea unui înlocuitor de piele obținut din gelatină, alginat și PRP (platelet rich plasma). Prin urmare, prin prezența PRP-ului, cerneala biopolimerică este modificată, compatibilitatea celulară și capacitatea de reparare a țesuturilor sunt îmbunătățite iar aplicarea clinică este facilitată.

Numeroase brevete prezintă dezvoltarea de hidrogeluri printabile ce conțin alginat de sodiu oxidat precum, **WO2020144713A**, **CN106039410A**, **WO2020094776A1** și alginat modificat cu grupe fotopolimerizabile - **CN112661983A**, **CN110962340A**, **CN108187145A**, **CN107744602A**, **CN105936674A**.

Au fost revendicate și metode de preparare și imprimare 3D a unor hidrogeluri cu alginat, gelatină și particule anorganice, precum brevetele **WO2015173020A1**, **CN110721346A** și **CN110755691A**, care utilizează biosticla. Prin aceste formulări se urmărește îmbunătățirea activității morfogenetice pentru implanturile osoase. Asemenea, alături de gelatină și alginat, brevetele **CN111808474A** și **CN110124105A** revendică o metodă de preparare folosind și nanoceluloză, tot cu scopul dezvoltării unor cerneluri biologice pentru imprimare 3D.

Brevetul **CN112480746A** descrie obținerea unei paste pentru imprimare 3D constituită din colagen din piele de pește, hidrogel de alginat și oxid de grafenă amestecate împreună cu un agent de reticulare și agent de dispersie. Cernelurile au prezentat viscozitate adecvată, biocompatibilitate și proprietăți mecanice îmbunătățite.

De asemenea, brevetul **CN107376017A** revendică o structură compozită imprimată 3D, aplicarea acesteia și metoda de preparare a materialului pentru printare. Astfel, construcția compozită este obținută din hidrogel de alginat amestecat cu colagen tip 1 și silicat

de magneziu și calciu. Suportul compozit a dovedit activitate biologică excelentă având posibilitate de aplicare în ingineria țesuturilor.

Dintre polizaharidele utilizate pentru dezvoltarea de hidrogeluri pentru aplicații biomedicale, se evidențiază și polizaharida salecan. Salecanul este o polizaharidă microbială extrasă de tulpina *Agrobacterium* sp. ZX09 din solul de pe coasta Chinei. Există studii de cercetare ce prezintă posibilități de utilizare ale salecanului ca rețea de hidrogel principală sau secundară, alături de alți polimeri, sintetici sau naturali [3]. Datorită retenției ridicate de apă, hidrogelurile sintetizate cu salecan prezintă interes pentru aplicații în domeniul trătării apelor uzate, industria farmaceutică-pentru eliberarea controlată de substanțe bioactive dar și în ingineria tisulară. Astfel, brevetul **CN108623821A**, face cunoscută metoda de obținere a unui hidrogel cationic cu structură reticulată folosind salecan și clorură de N,N,N-trimetil-3-(2-methacriloilamino)-1-propilamoniu. Acest hidrogel prezintă porozitate ridicată, biocompatibilitate și poate fi folosit la eliberarea de medicamente. Tot în acest sens, cererea de brevet **RO133753A2** prezintă un procedeu de preparare a unor hidrogeluri compozite pe bază de acid polimetacrilic cu salecan și argilă organomodificată, cu proprietăți absorbante îmbunătățite, fiind recomandate pentru aplicații farmaceutice și de reținere a ionilor toxici din apele uzate.

Brevetul **CN113248742A** descrie obținerea unui hidrogel polizaharidic natural ce combină salecanul cu ioni de fier și acid citric, rezultând prin menținerea la loc ferit de lumină timp de 2-5 ore, un hidrogel cu caracteristici de răspuns dublu la lumină și pH. Hidrogelul polizaharidic natural, obținut printr-o metoda simplă și ecologică, este propus pentru aplicații în domeniul materialelor inteligente. O nouă metodă de preparare a unui hidrogel sensibil la temperatură și pH pe baza de poli(N-izopropilacrilamidă-co-acid metacrilic) și salecan, este revendicat în brevetul **RS20190959A2**.

Brevetele **CN107048045A** și **CN107410733A** fac cunoscute aspecte referitoare la dieta animalelor unde prezența salecanului în hrană mărește performanța de creștere a porcilor de îngrășat și îmbunătățește calitatea cărnii acestora prin creșterea cantității de flore benefice a tractului intestinal. De asemenea, studiile prezentate în brevetul **CN102058616A** dovedesc faptul că, salecanul poate stimula eficient peristaltismul gastrointestinal și poate combate fenomenul de constipație. Brevetul **CN112773813A** aduce noi informații despre efectul benefic al salecanului în leziunile hepatice acute induse de medicamente. Salecanul are efect benefic și în tratamentul rănilor cutanate promovând proliferarea fibroblastelor și sinteza de colagen tip 1, așa cum demonstrează brevetele **CN104116756A** și **CN103735566A**.

Considerând aceste aspecte, studiile întreprinse referitoare la hidrogelurile ce au în componență salecan au dovedit că acesta posedă caracteristici potrivite pentru a fi folosite în

domeniul biomedical. De asemenea, numeroasele rezultate științifice referitoare la materiale proiectate pentru medicina regenerativă indică faptul că, dezvoltarea acestora se situează pe o pantă ascendentă, existând încă multe probleme și aspecte demne de clarificat, mai ales în direcția aplicării biomaterialelor pentru fabricarea de implanturi personalizate cu diferite caracteristici morfo-structurale prin tehnica de imprimare 3D, aspecte absolut necesare în terapia regenerativă.

Noutatea invenției constă în prepararea în premieră, a unor compoziții de hidrogel ce conțin două polizaharide naturale, salean și alginat, care înlătură dezavantajele formulărilor pe bază de alginat și anume, proprietățile reologice și mecanice scăzute. De asemenea, este stabilit și un procedeu de obținere al unor materiale compozite noi și ulterior, structuri imprimate 3D reticulate cu proprietăți adecvate. Suplimentar, prezenta invenția se aliniază tendințelor actuale de proiectare și dezvoltare a unor biomateriale obținute din resurse naturale.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în producerea unor compoziții ce stau la baza obținerii unor paste de printare și a unor structuri 3D reticulate cu caracteristici morfologice și de structură ajustabile, în urma definirii unui raport optim între componenți și a stabilirii procedurii de obținere al unui suport 3D reticulat.

Soluția tehnică descrisă în invenție se referă la dezvoltarea unor paste de printare pe bază de hidrogeluri compozite ce îmbină armonios proprietățile componentelor pentru imprimarea de schele 3D multistratificate, cu formă precisă, reticulate și stabile în mediu fiziologic. În consecință, invenția propusă dezvoltă formulări de tip hidrogel-hidrogel, din resurse naturale, utile pentru fabricarea aditivă a unor implanturi versatile bioresorbabile, cu formă predefinită. Invenția de față descrie obținerea de formulări de printare apoase pe bază de alginat prin introducerea unei alte polizaharide ce deține rol principal de modificador de reologie, rezolvând astfel problema reologiei slabe a alginatului. Această cerneală compozită prezintă un răspuns viscoelastic adecvat pentru imprimarea 3D prin extrudarea materialului: se comportă asemănător unui lichid sub efort de forfecare și ca solid în repaus, generând cu succes structuri 3D stabile. Preferabil biomaterialul pe bază de alginat și salean deține proprietăți fizico-chimice ajustabile în funcție de raportul dintre componenți, timpul de reticulare dar și concentrația și tipul de agent de reticulare, folosite în sinteză.

Astfel, prezenta invenție reprezintă o soluție simplă pentru obținerea unor cerneluri derivate din resurse naturale și ulterior implanturi 3D cu fidelitate ridicată a formei, cu aplicații în medicina regenerativă personalizată.

Descrierea invenției

Invenția prezintă compozite pe bază de polizaharide naturale și procedeul de obținere al acestora, cu reologie corespunzătoare procesului de imprimare tridimensională a unor construcții 3D cu formă precisă, reticulate și cu caracteristici morfo-structurale variabile în funcție de compoziția stabilită inițial. Astfel, invenția descrie compozițiile pe bază de alginat și salean, procedeul de obținere al pastelor de printare și procedeul de fabricare al unor construcții 3D reticulate. Compozițiile sunt constituite, conform prezentei invenții, din polizaharida alginat și polizaharida salean, amândouă având concentrația cuprinsă între 5 ... 12% în apă ultrapură, procente gravimetrice în raport cu cantitatea totală a compoziției.

Raportul între componenții polizaharidici, concentrația și tipul agentului de reticulare pot fi ajustate prin optimizarea cantităților utilizate în prepararea compoziției inițiale de hidrogel nereticulat, pentru obținerea unor implanturi 3D cu caracteristici morfostructurale adecvate. Prin urmare, o concentrație inadecvată de alginat conduce la forme printate cu geometrie nedefinită, instabile și care colapsează, în timp ce, un conținut necorespunzător de salean duce la reducerea densității de reticulare și implicit, a rezistenței mecanice, ale implanturilor printate.

Schelele 3D compozite reticulate prezintă stabilitate în timp și degradare variabilă ca urmare a procesului de reticulare ionică și/sau covalentă dar și în funcție de timpul de reticulare, concentrația de reticulant dar mai ales, de compoziția de hidrogel definită inițial. De asemenea, viscozitatea cernelurilor de printare este ajustabilă conform compoziției fapt ce determină fidelitatea formei printate. Suplimentar, procesul de fabricare aditivă implică selectarea condițiilor de printare favorabile în vederea producerii unor implanturi 3D multistratificate corespunzătoare, stabile și cu formă bine definită.

Procedeul de obținere al compozițiilor de hidrogel bicomponent precum și procedeul de fabricare al structurilor 3D reticulate, a constat în următoarele ***etape experimentale***:

I. obținerea unui amestec solid ce conține cantitățile corespunzătoare ale celor două polizaharide și anume, 5-12% alginat și 5-12% salean, procente gravimetrice în raport cu cantitatea totală a compoziției;

II. hidratarea amestecului solid în apă ultrapură la o temperatură de 25-40 °C, timp de 12-16 ore;

III. proiectarea modelului de printare prin utilizarea unui program dedicat;

IV. plasarea probelor de hidrogel în cartușe de printare 5-15 mL și selectarea duzei de printare corespunzătoare \varnothing interior de 0.3-0.5 mm;

V. stabilirea parametrilor de printare corespunzători: presiune = 150-500 kPa; viteze de imprimare = 4-10 mm/s.

VI. imprimarea tridimensională prin generarea de construcții 3D multistratificate prin procesul de extrudare al pastelor pe bază de hidrogel compozit, la temperaturi de 25-30 °C;

VII. reticularea structurilor printate 3D prin introducerea acestora în soluție de agent de reticulare;

VIII. spălarea structurilor 3D printate cu apă ultrapură;

IX. uscarea structurilor 3D printate prin liofilizare.

Hidrogelurile bicomponente pe bază de alginat și salean au reologie diferită în funcție de compoziția definită inițial și pot asigura imprimarea unor construcții 3D cu varierea numărului de straturi de 1 până la 10.

Avantajele invenției în raport cu stadiul tehnicii:

Hidrogelurile neretificate precum și formele printate 3D reticulate obținute prin fabricare aditivă sintetizate conform invenției prezintă următoarele **avantaje**:

- se obțin materiale compozite sustenabile folosind resurse naturale, saleanul și alginatul fiind compuși netoxici și biodegradabili.
- se obțin paste de printare cu reologie controlabilă, dependentă de compoziția inițială;
- structura și morfologia hidrogelurilor compozite reticulate poate fi ajustată în funcție de cantitățile de biopolimeri, concentrația și tipul de agent de reticulare și timpul de reticulare, acestea având un efect determinant în modelarea proprietăților vizate pentru aplicații specifice;
- structurile bicomponente reticulate au stabilitate ridicată și proprietăți de degradare reglabile;
- comparativ cu tehnicile clasice, schelele 3D sunt realizate prin procedeul rapid de imprimare folosind cantități optime, cu consum redus de material;
- prin imprimarea 3D se asigură manufacturarea unor forme 3D cu formă precisă având posibilitatea extraordinară de generare a unor implanturi personalizate pentru terapia regenerativă.
- materialele pot fi utilizate pentru doparea și ulterior eliberarea unor compuși, de exemplu: factori de creștere, medicamente, coloranți, etc.

În continuare sunt prezentate 3 exemple de realizare a hidrogelurilor compozite conform invenției:

Exemplul 1

Pentru obținerea hidrogelurilor reticulate pe bază de alginat și salean se procedează în felul următor:

În primă fază, se prepară un amestec solid de biopolimeri procedându-se la amestecarea manuală a cantităților corespunzătoare celor două pulberi și anume, 5-12% alginat și 5-12% salean (procente gravimetrice în raport cu cantitatea totală a compoziției). Amestecul solid este adăugat atent în apă ultrapură sub agitare manuală continuă, rezultând o pastă neuniformă. Proba se păstrează la etuva la 25-40 °C, timp de 10-20 ore cu scopul hidratării polizaharidelor, amestecându-se manual în aceasta de mai multe ori. Probele de hidrogel bicomponent astfel obținute sunt încărcate în cartușe de 5-15 ml. Prin utilizarea unui program IT dedicat, se proiectează modelul 3D dorit iar apoi se stabilesc parametrii de printare corespunzători, presiune = 150-500 kPa; viteze de imprimare = 4-10 mm/s dar și diametrul duzei de printare \varnothing 0.3-0.5 mm. În continuare, se desfășoară procedeul de printare a construcțiilor 3D multistratificate prin procesul de extrudare al pastelor preparate, la temperaturi cuprinse între 25-30 °C. Construcțiile printate 3D se introduc imediat în soluție de agent de reticulare, soluție de 1-2% clorură de calciu în apă distilată, timp de 15 minute - 1h pentru reticularea ionică a alginatului și formarea unor structuri reticulate semi-interpenetrate. Probele se spală apoi cu apă ultrapură pentru îndepărtarea agentului de reticulare nereacționat, se congelează și se usucă prin liofilizare.

Exemplul 2

Se prepară compozițiile pe bază de alginat și salean în mod similar cu exemplul 1, exceptând faptul că reticularea ionică se realizează după uscarea formelor printate. Astfel, probele 3D liofilizate, se introduc în soluție apoasă de 1-2% clorură de calciu, timpul de reticulare fiind în acest caz de 12-24 h.

Exemplul 3

Se prepară compozițiile pe bază de alginat și salean în mod similar cu exemplul 2 exceptând faptul că agentul de reticulare folosit în acest caz este o soluție combinată de 1-2% clorură de calciu în apă distilată și soluție de acid citric de concentrație 5-15%.

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.

FIȘĂ BIBLIOGRAFICĂ

1. Danek, C. Recent Advances and Future Challenges in the Additive Manufacturing of Hydrogels. *Polymers* 2022, 14, 494, doi:10.3390/polym14030494.
2. Bakhtiari, S.S.E; Bakhsheshi-Rad, H.R.; Karbasi, S.; Razzaghi, M.; Tavakoli, M.; Ismail, A.F.; Sharif, S.; Krishna, S.R.; Chen, X.; Berto, F. 3-Dimensional Printing of Hydrogel-Based Nanocomposites: A Comprehensive Review on the Technology Description, Properties, and Applications; *Adv.Eng.Mat.* 2021, 23, 2100477 <https://doi.org/10.1002/adem.202100477>
3. Qi, X.; Wei, W.; Shen, J.; Dong, W. Salecan Polysaccharide-Based Hydrogels and Their Applications: A Review. *J.Mater.Chem. B* 2019, 7, 2577, doi:10.1039/C8TB03312A.

**COMPOZIȚII ȘI PROCEDEU DE OBTINERE A UNOR HIDROGELURI
COMPOZITE PE BAZĂ DE POLIZAHARIDE NATURALE ȘI APLICAREA
ACESTORA ÎN PROCESUL DE IMPRIMARE TRIDIMENSIONALĂ**

REVENDICĂRI

1. Compoziție pe bază de compozit tip hidrogel-hidrogel *caracterizată prin aceea* că este constituită din polizaharida alginat și polizaharida salean, amândouă având concentrația cuprinsă între 5 și 12% în apă ultrapură, procente gravimetrice în raport cu cantitatea totală a compoziției.

2. Procedeu de obținere al unor paste pentru printare pe bază de hidrogeluri bicomponente ce conțin alginat și salean, conform revendicării 1, *caracterizat prin aceea că* implică următoarele etape principale: obținerea unui amestec solid ce conține cantitățile corespunzătoare ale celor două polizaharide și anume, 5-12% alginat și 5-12% salean (procente gravimetrice în raport cu cantitatea totală a compoziției); hidratarea amestecului solid în apă ultrapură la o temperatură de 25-40 °C, timp de 10- 20 ore.

2. Procedeu de aplicare al compozițiilor pe bază de hidrogeluri compozite preparate conform revendicării 1, în fabricarea unor structuri 3D compozite reticulate, *caracterizat prin aceea că* implică următoarele etape principale: proiectarea modelului de printare prin utilizarea unui program IT dedicat; plasarea probelor de hidrogel compozit în cartușe de printare 5-15 mL și selectarea duzei de printare corespunzătoare \varnothing interior de 0.3-0.5 mm; stabilirea parametrilor de printare corespunzători: presiune = 150-500 kPa; viteze de imprimare = 4-10 mm/s; imprimarea tridimensională prin generarea de construcții 3D multistratificate prin procesul de extrudare al pastelor pe bază de hidrogel compozit, la temperaturi de 25-30 °C; reticularea schelelor printate 3D prin introducerea acestora în soluție de agent de reticulare; spălarea structurilor 3D printate cu apă ultrapură; uscarea structurilor 3D printate prin liofilizare.