



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2021 00258

(22) Data de depozit: 17/05/2021

(41) Data publicării cererii:
30/06/2022 BOPi nr. 6/2022

(71) Solicitant:
• UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN
BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI
NR.313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• MICULESCU FLORIN,
ALEEA MASA TĂCERII NR. 2, BL. A, SC. 2,
ET. 3, AP. 55, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;
• MOCANU AURA CĂTĂLINA,
STR.MILCOV, NR.2, BL. C1, SC.1, ET.2,
AP.8, BRĂILA, BR, RO;
• STAN GEORGE, CALEA 13 SEPTEMBRIE
NR. 216, SC.1, BL. V46, ET. 2, AP. 12,
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;

• ANTONIAC VASILE IULIAN,
ALEEA MARIUS EMANOIL BUTEICA NR. 2,
BL. 68, SC. 2, ET.2, AP. 64, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;
• COSTOIU MIHNEA COSMIN,
STR.LONDRA NR.18, ET.4, AP.24,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
• VOICU ȘTEFAN IOAN, STR. BODEȘTI
NR.9, BL.29A, SC.B, ET.4, AP.64,
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
• MICULESCU MARIAN, STR. HOTARULUI
NR. 12D, CLINCENI, IF, RO;
• MATEȘ ILEANA MARIANA,
STR. GLADIOLELOR NR. 9, BL. 2, ET. 5,
AP. 26, SAT ROȘU, COMUNA CHIAJNA, IF,
RO;
• SEMENESCU AUGUSTIN,
ȘOS.BUCUREȘTI - TÎRGOVIȘTE 22T, A14,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A UNUI PRODUS
PENTRU RECONSTRUCȚIA DEFECTELOR OSOASE,
PE BAZĂ DE HIDROXIAPATITĂ ȘI FOSFAT DE CALCIU
BIFAZIC BIOGEN**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui produs pentru reconstrucția defectelor osoase pe bază de hidroxiapatită și fosfor tricalcic bifazic biogen. Procedeu conform invenției include o fază preliminară de disociere termică a carbonatului de calciu sub formă de marmură dolomitică și scoici marine în cuptor electric la o temperatură de 1300°C, timp de 6 ore în aer, oxidul de Ca rezultat fiind hidratat cu apă distilată iar soluția rezultată este tratată cu acid fosforic 85% pipetat la o rată de 1 ml/min. pornind de la calculul cantităților determinate conform reacțiilor stoechiometrice, cantitatea de acid fosforic fiind crescută la 110...130% x cantitatea stoechiometrică calculată, soluția se agită timp de 2 ore la o temperatură de 25°C, produsul rezultat se usucă prin tratament termic final la 120°C timp de 24 ore, după care se macină în moară cu bile de agregat timp de 2 ore, se sortează granulometric prin vibrare pe site succesive cu dimensiuni ale ochiurilor cuprinse între 100...20 μm, pulberile obținute sunt amestecate cu fascicule de fibre de cânepă

secționare la dimensiuni de 10...50 mm lungime și împletite/răsucite sub formă de fascicul cu grosimea de 0,5...1,5 mm și apoi îmbibate în soluție de amidon și biosticlă 0,1...2% din masa de amidon, realizată prin amestecarea a 1/5...1/20 părți volumice de amidon și biosticlă/apă distilată în baie termostată la 70...80°C, raportul pulbere ceramică/masă fibre de cânepă fiind prestabilit în funcție de gradul de porozitate cuprins între 10...50%, amestecul rezultat este compactat prin presare izostatică la rece în matrițe cu diametrul de 10...50 mm cu forțe de apăsare cuprinse între 10...25 MPa, urmată de sinterizarea la 900...1300°C timp de 1...12 ore în aer, porozitatea produsului final rezultând în urma arderii complete, iar reducerea dimensională a probelor cilindrice și a canalelor rezultate este cuprinsă între 20...35%.

Revendicări: 2
Figuri: 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).



PROCEDEU DE OBTINERE A UNUI PRODUS PENTRU RECONSTRUCȚIA DEFECTELOR OSOASE, PE BAZĂ DE HIDROXIAPATITĂ ȘI FOSFAT DE CALCIU BIFAZIC BIOGEN

Florin MICULESCU, Aura-Cătălina MOCANU, George STAN, Iulian Vasile ANTONIAC, Mihnea Cosmin COSTOIU, Ștefan Ioan VOICU, Marian MICULESCU, Ileana Mariana MATEȘ, Augustin SEMENESCU


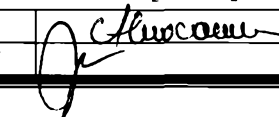
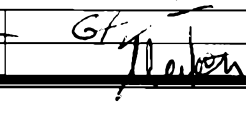
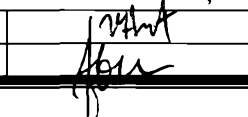
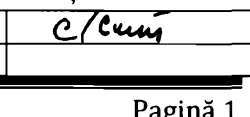
Invenția vizează obținerea unui produs biomimetic de tip scaffold pe bază de pulberi de tip hidroxiapatită/ β -fosfat tricalcic derivate din resurse naturale marine și terestre, pentru reconstrucția osoasă a defectelor osoase cu dimensiuni variabile. Proprietățile fizico-chimice ale acestuia sunt modulate prin controlul parametrilor de prelucrare pe parcursul etapelor intermediare.

Ingineria tisulară și medicina regenerativă se concentrează asupra restaurării formei și funcției în caz de insuficiență tisulară, care la nivelul osului se traduce prin discontinuități ale integrității acestuia datorate traumelor, malformațiilor congenitale sau a rezecțiilor chirurgicale. Regenerarea osoasă este un proces complex, temporal și dimensional, menit să reconstruiască osul într-o formă greu diferențiable de starea inițială, intactă [1]. În acest sens se discută despre un *biomodel*, o entitate capabilă să reproducă geometria și morfologia structurii biologice [2]. Aparte de obiectivul obținerii acestor implanturi, se află fabricarea și dezvoltarea materialelor de interes biologic regenerativ, care pot contribui la restaurarea sau conservarea funcțiilor fiziologice la nivelul unor zone accidentate [1, 3, 4].

Date fiind limitările metodelor actuale de reconstrucție, autogrefa și alogrefa, care mai bine de un deceniu au constituit standardul de aur în domeniu, s-au dezvoltat scaffold-urile osoase realizate din materiale biocompatibile și celule osoase [5]. În lumina complexității proprietăților țesutului osos, realizarea unui scaffold ideal poate fi privită ca un proces etapizat: *i*) fabricarea materialului biocompatibil, nontoxic, nonimunogenic și bioresorbabil cu o rată de degradare potrivită pentru creșterea celulelor/ țesuturilor *in vitro* sau *in vivo*, *ii*) construirea structurii 3D cadru pentru migrația, specializarea, proliferarea și diferențierea populației de celule regenerative, *iii*) asigurarea unei structuri interne poroase cu o rețea de pori interconectați pentru creșterea celulară și transportul substanțelor nutritive la interiorul scaffold-ului și în mediul local nativ și *iv*) îmbunătățirea proprietăților mecanice optime pentru fiecare aplicație în parte [1, 6-10]. Dimensiunea minimă a porilor pentru atingerea unei porozități corespunzătoare este considerată 100 μm ajungând până la 1000 μm pentru regenerarea osului *in vivo*, pe când osteogeneza *in vitro* necesită un ordin inferior de magnitudine a acestora [6, 11, 12]. Mai mult, dimensiunea interconexiunilor variază în domeniul 15-50 μm , putând asigura vascularizarea structurii [6, 7, 10].

Materialele sintetice sau artificiale sunt preferate ca opțiune rezonabilă în această perspectivă, dar nu și integrată [5, 13, 14]. Adițional acestor aspecte, factorul socio-economic înclină balanța în favoarea unor produse biomimetice obținute din resurse naturale [15], capabile să reproducă fidel formațiunea osoasă în care vor fi implantate. Necesitatea din punct de vedere economic poate fi privită și prin prisma aspectelor tehnice privind remedierea defectelor osoase de dimensiuni mari, mai exact a cantității extinse de material necesar pentru atingerea acestui obiectiv [16].

Natura oferă o gamă largă de materiale cu potențial deosebit pentru acest domeniu, printre care și resurse sustenabile de carbonat de calciu, larg răspândite geografic [7]. Acesta acoperă mai mult de 4% din suprafața totală a pământului, regăsindu-se sub trei forme polimorfe atât în mediul terestru, în componența marmurei, cât și marin la nivelul scoicilor și a alor asemenea cochilii [3, 17]. În mod curent, se resimte o tendință de obținere a unui

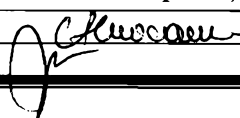
				
---	---	---	--	---

material de substituție de tip fosfat de calciu biogen pornind de la astfel de resurse, îmbinând caracterul environmentally-friendly cu cel socio-economic. Mai mult decât atât, se poate evidenția astfel o reducere a reziduurilor bogate în calciu rezultate în industria alimentară după procesarea scoicilor [18, 19]. Premisa conversiei carbonatului de calciu s-a stabilit în 1947 [20], însă de atunci metodele de procesare chimică s-au diversificat fără a conferi o metodologie complet reproductibilă [21]. Studii recente [22, 23] au încercat rezolvarea acestei problematici, obținând cu succes o rută adaptată de sinteză a fosfaților de calciu (hidroxiapatită, fosfat tricalcic, fosfat de calciu bifazic) pornind de la metoda indirectă Rathje [24] și utilizând resurse de tip marmură dolomitică și midii. Cercetările din domeniu s-au axat în principal pe conservarea structurii poroase a precursorilor naturali pe bază de carbonat de calciu, deci pe conversia pe cale directă a acestuia cu agenți pe bază de fosfor [25, 26].

Prin modularea parametrilor de sinteză și a tratamentului termic ulterior se asigură un risc scăzut de contaminare cu reziduuri (urme de oxid de calciu) provenite în urma reacției dintre hidroxidul de calciu (obținut prin transformarea termică a carbonatului de calciu natural) și acidul fosforic [27, 28]. Se poate obține astfel un material bifazic de tip hidroxiapatită și brushite, datorită formei dolomitice a marmurei, sau hidroxiapatită pură nestoechiometrică, amândouă fiind transformate în fosfat de calciu bifazic prin tratament termic în atmosferă controlată [22]. Raționamentul dezvoltării unor astfel de materiale are la bază similitudinea compozițională a acestora cu componenta minerală a osului natural, precum și proprietăți bine cunoscute de biodegradabilitate, bioactivitate, osteoconductivitate și osteointegrare care asigură remodelarea țesutului osos [29-32].

Materialul ceramic obținut în urma sintezei chimice se procesează ulterior prin măcinare până la stadiul de pulbere cu granulație nanometrică. Tot din perspectiva contaminării, se aleg pentru această etapă mori cu bile de agat, indicate pentru materialele ceramice. Sortarea granulometrică este o altă etapă logică, dat fiind că sinterizarea ceramicelor este influențată de dimensiunea particulelor [33]. Ulterior, materialele pot fi implicate în procese convenționale sau solid freeform de obținere a structurilor 3D de tip scaffold. Independent de metodă, cerințele impuse produsului final vizează o porozitate interconectată (40-60%) și un volum al porilor adecvate pentru fiecare aplicație în parte [34], care să permită dezvoltarea rețelei vasculare prin care se asigură transportul oxigenului și al nutrienților, decisive pentru viabilitatea celulară [35]. La nivelul țesutului natural, aceste funcții se asigură printr-un sistem foarte ramificat de vase de sânge mai mari, care este subdivizat în capilare mici. Distanța maximă dintre acestea este de ~ 200 μm, în concordanță cu limita de difuzie a oxigenului [29, 36].

O modalitate de abordare a acestui aspect constă în realizarea scaffold-urilor cu canale, prin amestecarea materialelor ceramice cu materiale volatile (naftalină, peroxid de hidrogen) ori agenți porogeni polimerici [29, 37]. Macroporozitatea și formarea microcanalelor este asigurată prin degradarea termică a acestor agenți, iar microporozitatea este o consecință a temperaturii și a duratei sinterizării [38]. Același concept poate fi aplicat și prin utilizarea unor fibre naturale vegetale de tipul cânepii. Proprietăți precum disponibilitate, regenerare, cost scăzut și biodegradabilitate le recomandă ca și metodă alternativă ecologică și sustenabilă [39]. Principala componentă structurală care asigură rezistența și stabilitatea pereților vegetali este celuloza, abundant răspândită, iar diametrul fibrelor de cânepă variază în intervalul 15 – 50 μm, situat sub minimul necesar interconexiunii porilor [34, 40]. Compozitele obținute prin ranforsarea cu astfel de fibre sunt și ele de asemenea o alternativă imaginabilă la materialele tradiționale de umplere [41]. Mai mult, dat fiind caracterul bioactiv al biosticlelor [42], acestea pot fi utilizate ca și adjuvant al procesului de regenerare osoasă, conducând caracterul compozitelor din osteoconductiv în osteoinductiv. Distribuită la suprafața interioară a microcanalelor, biosticla va fi implicată în

				
---	---	---	--	---

desfășurarea reacțiilor de suprafață prin care se formează o apatită carbonată ce va asigura suportul și va favoriza adeziunea, proliferarea și diferențierea celulelor osoase [43]. Aparte de avantajele biologice, concentrații mici de biosticlă înlesnesc procesul de sinterizare, facilitând densificarea [44]. Proprietățile mecanice (rezistență la compresiune) sunt de asemenea îmbunătățite prin substituția parțială a fosforului cu siliciu în structura hidroxiapatitei, generatoare de tensiuni care împiedică propagarea fisurilor [45, 46].

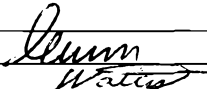
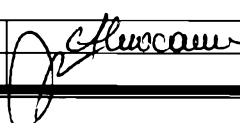
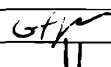
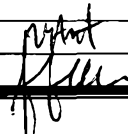
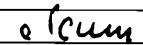
Deși unele metode de obținere a compozitelor cu fibre naturale/colagen și hidroxiapatită au fost deja brevetate [47-49] domeniul se confruntă încă cu neajunsuri în privința accesibilității și a regenerării resurselor naturale și a anizotropiei proprietăților produselor rezultate.

Principali parametri de interes pentru obținerea acestor materiale sunt legați de disocierea termică a carbonatului de calciu, parametrizarea cât mai precisă a sintezei umede, raportul material ceramic/ agent porogen și tratamentul termic final care induce de fapt proprietățile de material de interes.

Descompunerea termică a carbonatului de calciu a fost explicată utilizând o sferă de carbonat de calciu: inițial reacția se produce mai rapid la exteriorul sferei, formându-se un strat de oxid de calciu, care în urma contracției produce fisuri în stratul exterior al sferei. Se expune astfel o nouă sferă de carbonat, iar descompunerea se produce în continuare. Disocierea se bazează pe reacția chimică la temperatură ridicată (600 – 1200°C) în urma căreia se produce degajarea dioxidului de carbon și formarea oxidului de calciu (în proporție de 43 wt.%) [50, 51]. Deși dolomitul este considerat mai degrabă un material independent decât o combinație între carbonatul de calciu și cel de magneziu, descompunerea termică indică formarea inițial a oxidului de magneziu concomitent cu carbonatul de calciu, urmată de disocierea celui din urmă conform teoriei de mai sus [52].

Amestecul soluțiilor de oxid de calciu hidratat și acid fosforic (calculat stoechiometric) poate conduce la precipitarea unor faze diferite de fosfați de calciu, dependent de cantitatea de reactiv utilizată și a pH-ului soluției rezultate [53]. Reacția cadru se produce exoterm, odată cu eliberarea controlată a anionilor fosfat în apă, în trei etape (dizolvarea reactanților, nucleația fazei noi și cristalizarea produșilor de reacție); soluția se transformă într-un gel cu molecule slab interconectate. Rapiditatea reacției poate fi controlată doar prin gradul de pipetare al reactivului și agitare magnetică. Densificarea gelului se produce gradual până în punctul în care amestecarea devine dificil de realizat. Acest moment corespunde etapei de cristalizare a gelului în jurul particulelor de oxid de calciu nereacționate [23].

Tendința generală a transformărilor care se produc la temperatură ambiantă este următoarea: fosfat de calciu amorf → brushite → fosfat octacalcic → hidroxiapatită. Din punct de vedere termodinamic, brushite-ul format ca produs primar sau secundar în urma precipitării din soluții cu aciditate moderată sau neutră, prezintă un caracter metastabil (poate rămâne stabil, reprecipita sau dizolva) fiind considerat drept precursor al hidroxiapatitei [22]. Forma anhidră a brushite-ului – monetite – poate precipita la începutul sintezei în condiții de aciditate crescută sau în urma altor etape de procesare [13]. Un substrat magnezic (prezent de la începutul reacției) influențează fenomenele de cristalizare astfel: ionii de magneziu care se formează după hidroliza hidroxidului de magneziu ocupă mai mult spațiu în rețeaua cristalină a fosfatului de calciu și deci scade gradul de cristalinitate al acestuia [54, 55]. Se observă astfel efectul inhibitor al magneziului asupra creșterii cristalelor de hidroxiapatită, dar și posibilitatea sintezei unui fosfat de calciu bifazic derivat din marmură [56]. Se

				
---	---	---	--	---


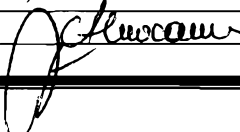
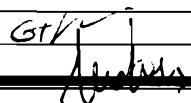
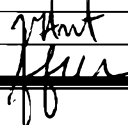
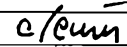
consideră că în cazul materialelor cu ioni de magneziu încorporați, comportamentul *in vivo* al acestora este foarte asemănător cu cel al mineralului osos [57].

Realizarea structurilor 3D cu ajutorul fibrelor de cânepă îmbibate în soluție de amidon și biosticlă (pulbere), începe prin obținerea gelului pe bază de amidon. Utilizarea amidonului ca agent porigen, singur sau în combinație cu alți aditivi, poate defini o structură poroasă fără a îi afecta biocompatibilitatea, deoarece amidonul este biodegradabil. Interacțiunea amidonului cu apa determină gelatinizarea/topirea amidonului. Desfășurarea fenomenului de îngroșare și gelifiere se produce la temperaturi cuprinse între 60 – 80° și depinde de cantitatea de apă disponibilă în vecinătatea granulelor de amidon: o cantitate redusă de apă nu asigură expandarea suficientă pentru formarea unui gel, în vreme ce excesul de apă poate duce la separarea cristalitelor de gel, fenomen asociat cu lipsa topirii. Consolidarea fibrelor de cânepă și a particulelor ceramice este înlesnită de absorbția zonelor cristaline ale amidonului la suprafața particulelor, acționând astfel ca un liant [58].

Sinterizarea este fundamentală, deoarece asigură proiectarea finală a microstructurii (dimensiunea și forma granulelor, raportul de porozitate, dimensiunea porilor și a canalelor) și poate fi urmărită pentru fiecare tip de material în parte. Degradarea termică a amidonului începe cu evaporarea apei neînglobate în structură, urmată de eliberarea apei înglobate în structură și pierderea maleabilității materialului. Evaporarea apei se încheie în jurul temperaturii de 120°, iar degradarea termică a amidonului continuă cu formarea unui reziduu cărbunos în intervalul 350 – 800°, după care este așteptată oxidarea reziduuului [58]. Concomitent, descompunerea fibrelor de cânepă prezintă o pierdere masică minoră sub 200°C, care poate fi atribuită eliberării apei. Între 200 – 500° are loc descompunerea biopolimerilor majori de la nivelul fibrei, urmată de degradarea materiei volatile stabile, la temperaturi peste 500°. Pierderea masică principală are loc între 300 – 400°C și reprezintă 60% din masa fibrelor de cânepă, corespunzătoare cantității de celuloză [59]. Dată fiind compoziția chimică modulată a materialelor ceramice, descompunerea acestora în fosfați de calciu bifazici (hidroxiapatită/ β -fosfat tricalcic) sau doar β -fosfat tricalcic are loc la temperaturi de 1200°C. Până la 750°C, are loc o expansiune intrinsecă a comprimatului, iar la temperaturi mai mari începe densificarea prin eliminarea porilor inițiali. Proba se micșorează și atinge densitatea maximă în formă bulk. În stadiul final, la 1050 – 1200°C, porozitatea este diminuată, obținându-se un produs ceramic complet dens [60]. Pe parcursul procesului de sinterizare particulele de biosticlă vor peliculiza la interiorul microcanalelor generate de fibrele de cânepă și intergranular; formarea altor compuși, precum oxid de calciu nereacționat ori reziduuri ale materialelor naturale, nu a fost identificată prin studii de difracție cu radiații X [22].

Având în vedere macroporozitatea și microporozitatea, un alt factor important constă în menținerea și asigurarea unor caracteristici mecanice specifice segmentului de os supus remodelării. Deși microporozitatea este importantă pentru bioresorbabilitatea materialului, iar o macroporozitate ridicată facilitează revascularizarea și creșterea țesutului osos la interiorul scaffold-ului, dezavantajul major care apare în cazul unui volum prea mare de pori este reducerea rezistenței mecanice [9]. Prin urmare, este necesar un compromis avantajos al proprietăților structurale pentru asigurarea unei bune funcționări *in vivo*. Pornind de la această premiză, după obținerea structurilor 3D, se impune o continuă îmbunătățire a proprietăților acestora pentru a satisface cât mai fidel cerințele arhitecturale, biologice și mecanice specifice unei anume aplicații [6].

Obiectivul propunerii de brevet constă în obținerea unei structuri 3D (scaffold) destinată reconstrucției defectelor osoase de dimensiuni variabile, realizat din hidroxiapatită

				
---	---	---	--	---

și materiale bifazice (hidroxiapatită/ β -fosfat tricalcic) derivate din resurse biogene și fibre naturale (fascicule de cânepă îmbibate în soluție de amidon și biosticlă) cu compoziție prestabilită, capabilă să îndeplinească cerințele mecanice și de biocompatibilitate.


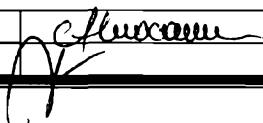
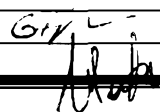
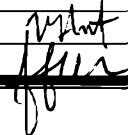
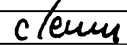
Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în posibilitatea modulării compoziționale și fazice a materialelor prin modificarea parametrilor în cadrul fiecărei etape de producere a structurii de tip scaffold, pentru a induce proprietățile necesare regenerării osoase. Structurile realizate din hidroxiapatită și fosfați de calciu bifazici ranforșați cu fascicule din fibre naturale de tip cânepă și biosticlă, cu compoziție și proprietăți arhitecturale prestabilite, permit un comportament predictibil atât *in vitro* cât și *in vivo*, asigurând și necesarul caracteristicilor de rezistență mecanică.

1. Procedul propus conform invenției, de obținere a unui produs pentru reconstrucția defectelor osoase, pe bază de hidroxiapatită și fosfat de calciu bifazic biogen, cu raport controlat între hidroxiapatită și fosfatul tricalcic, rezolvă această problemă tehnică, prin prisma faptului că, după o fază preliminară de disociere termică a carbonatului de calciu sub formă de marmură dolomitică și scoici marine în cuptor electric la temperatura de 1300°C cu menținere 6 ore în atmosferă de aer, realizează hidratarea oxidului de calciu rezultat cu apă distilată, soluția rezultată fiind tratată cu acid fosforic de concentrație 85% pipetat la o rată de 1 ml/min pornind de la calculul cantităților determinate conform reacțiilor stoechiometrice, pentru modularea compoziției cantitatea de acid fosforic fiind crescută la 110-130% x cantitatea stoechiometrică calculată, soluția fiind agitată magnetic 2 ore la 25°C, uscarea produsului rezultat fiind realizată prin tratament termic final la 120°C, 24 de ore, după care este realizată măcinarea acestuia în moară cu bile de agat timp de 2 ore și sortarea granulometrică prin vibrație în site succesive cu dimensiuni ale ochiurilor în intervalul 100-20 μ m. Pulberile obținute sunt amestecate cu fascicule de fibre de cânepă secționare la dimensiuni de 10 – 50 mm lungime și împletite/răsucite sub forma unui fascicol cu o grosime de 0.5 – 1.5 mm și apoi îmbibate în soluție de amidon și biosticlă – 0.1 – 2% din masa de amidon, realizată prin amestecarea a $\frac{1}{5}$ – $\frac{1}{20}$ părți volumetrice de amidon și biosticlă/apă distilată în baie termostată la 70 – 80°C, raportul de pulbere ceramică/ masă fibre de cânepă pentru obținerea amestecului compozit fiind prestabilit în corelație cu gradul de porozitate de 10 – 50%. Amestecul rezultat este compactat prin presare izostatică la rece în matrițe cu Φ 10 – 50 mm la forțe de apăsare cuprinse între 10 – 25 MPa în funcție de porozitatea și proprietățile mecanice dorite ale produsului final, care este obținut prin sinterizare în cuptor electric la 900 – 1300°C timp de 1 – 12 ore, în atmosferă de aer, porozitatea produsului rezultând în urma arderii complete a materialelor organice introduse, cu reducerea dimensională de 20 – 35% a probelor cilindrice și a canalelor rezultate, modularea caracteristicilor mecanice și biologice fiind obținută prin temperatura și timpul de menținere al sinterizării și peliculizarea particulelor de biosticlă.

Procedul conform invenției prezintă avantajul obținerii unei structuri 3D de tip scaffold cu compoziție, porozitate și proprietăți mecanice controlate obținute ca funcție de cantitatea de acid fosforic implicată în sinteză și a raportului între hidroxiapatită+fosfat tricalcic/cantitate de fibre de cânepă îmbibate în [REDACTED], aceste proprietăți fiind dependente de parametrii tratamentului termic final.

Invenția este prezentată pe larg în continuare în concordanță și cu figurile 1 și 2, reprezentând:

- Fig. 1,a,b: Reprezentarea grafică a scaffold-urilor prezentate în tabelul 1;
- Fig. 2: Exemplu concret de realizare a unui scaffold conform procedurii invenției.

				
---	---	---	--	---

Procedeul conform invenției, de obținere a unui produs pentru reconstrucția defectelor osoase, pe bază de hidroxiapatită și fosfat de calciu bifazic biogen, cu raport controlat între hidroxiapatită și fosfatul tricalcic, după disocierea termică a carbonatului de calciu sub formă de marmură și scoici marine la 1300°C, timp de 6 ore, pentru a obține un material bifazic cu raport prestabilit între hidroxiapatită și fosfatul tricalcic, realizează hidratarea oxidului de calciu rezultat, soluția rezultată fiind tratată cu acid fosforic pipetat la o rată de 1 ml/min pornind de la calculul cantităților determinate conform reacțiilor stoichiometrice. Prin adaos de +10 – 30% x cantitatea stoichiometrică de reactiv și agitare magnetică la temperatura camerei timp de 2 ore, se obține după sinteză și uscare la 120°C timp de 24 ore hidroxiapatită sau hidroxiapatită+brushite, în funcție de precursorul natural utilizat (marmură sau scoică). Materialul este ulterior măcinat în moară cu bile de agat timp de 2 ore și sortat granulometric prin vibrație în site succesive cu dimensiuni ale ochiurilor în intervalul 100 – 20 μm. În faza următoare, fibrele de cânepă sunt secționare la dimensiuni de 10 – 20 mm lungime, se împletesc/răsucesc pentru a se obține o grosime a fascicolului în intervalul 0.5 – 1.5 mm, care este ulterior îmbibat într-o soluție apoasă de amidon și biosticlă – 0.1 – 2% din masa de amidon, obținută prin amestecarea a $\frac{1}{5} - \frac{1}{20}$ părți volumetrice de amidon și biosticlă/apă distilată în baie termostată la 70 – 80°C, urmând a fi modelate sub diferite forme (vermiculare) și uscate la temperatura camerei. Ulterior se obține un amestec format din fibre îmbibate uscate, cu rezistență moderată la îndoire, și material bioceramic sintetizat care se compactează prin presare izostatică la rece, în matrițe cu diametrul Φ 10 – 50 mm, cu forțe de apăsare cuprinse între 10 – 25 MPa. Urmează tratamentul termic la 900 – 1300°C timp de 1 – 12 ore al comprimatelor, în urma căruia pulberea se transformă în material bifazic cu limitele 70 – 100% hidroxiapatită și 30 – 0% β -fosfat tricalcic, raportul de hidroxiapatită scăzând cu creșterea cantității de acid fosforic, iar porozitatea fiind un rezultat al arderii complete a materialelor organice introduse, obținută într-un interval de 10 – 50% prin utilizarea a 0.1 – 55 g de fibre de cânepă funcție de dimensiunile acestora, gradul de porozitate dorit și dimensiunile corpului cilindric. Reducerea dimensională a canalelor este direct proporțională cu reducerea dimensională a probelor cilindrice în intervalul 20 – 35%.


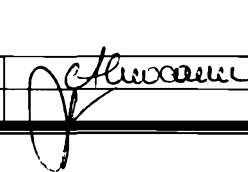
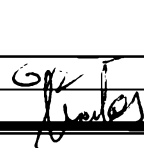
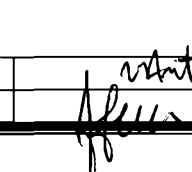
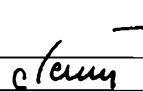
Conform invenției, **elementele de noutate**, raportate la articolele și brevetele publicate, constau din:

- Posibilitatea modulării compoziției și structurii cristalografice a materialelor sintetizate (raport hidroxiapatită/brushite variabil) pentru a obține un material bioceramic bifazic cu compoziție controlată post sinterizare (raport hidroxiapatită – fosfat tricalcic între limitele 70 – 30% și 100 – 0%);
- Metoda de obținere a structurilor 3D de tip scaffold cu porozitate sub formă de canale și proprietăți mecanice controlate.

În general, procesarea unor astfel de produse se realizează în trei etape succesive: sinteza biomaterialului pulverulent, formarea corpului tridimensional prin compactarea amestecului de pulberi și fascicule de fibre, respectiv și sinterizarea produsului.

Conform procedurii invenției, se obține inițial materialul bioceramic derivat din precursori naturali de tip marmură dolomitică și scoici marine, în două etape:

- Conversia carbonatului de calciu în oxid de calciu prin tratament termic:
 - Periaj mecanic pentru îndepărtarea impurităților provenite din mediul natural
 - Secționarea plăcilor de marmură pentru asigurarea unei difuzii termice optime
 - Calcinare în cuptor electric la 1300°C cu menținere 6 ore, în atmosferă de aer
 - Răcire lentă în cuptor
- Conversia oxidului de calciu în fosfat de calciu biogen:

				
---	---	---	--	---

- Hidratarea oxidului de calciu cu apă distilată pentru obținerea hidroxidului de calciu;
- Amestecarea a 10 g de hidroxid de calciu în 200 ml de apă distilată și tratarea suspensiei cu 5.5 ml acid fosforic de concentrație 85 % pipetat la o rată de adădire de 1 ml/min, cantitățile fiind determinate conform ecuațiilor stoechiometrice. Pentru modularea compoziției s-a crescut doar cantitatea de acid fosforic, valorile fiind determinate astfel: $110 - 130\% \times$ cantitatea stoechiometrică calculată.
- Agitare magnetică timp de 2 ore la 25°C
- Uscare preliminară timp de 24 de ore în aer la temperatura ambiantă urmat de tratament final de uscare la 120°C timp de 24 ore
- Măcinare în moară cu bile de agat timp de 2 ore și sortare granulometrică prin vibrare în site succesive cu dimensiuni ale ochiurilor în intervalul 100-20 μm.

Pulberile ceramice obținute se depozitează în cutii sterile Petri și se ermetizează imediat în exicator cu silica-gel pentru a preveni o ulterioară umidificare din aerul atmosferic.



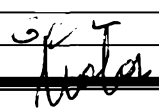
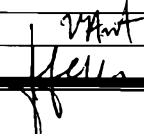
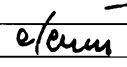
În etapa următoare, pentru realizarea structurilor 3D de tip scaffold:

- Se prepară inițial soluția apoasă de amidon și biosticlă – 0.1 – 2% din masa de amidon, prin amestecarea a $\frac{1}{5} - \frac{1}{20}$ părți volumetrice de amidon și biosticlă/apă distilată în baie termostată la o temperatură constantă între 70 – 80°C.
- Fibrele de cânepă se secționează la dimensiuni de 10 – 50 mm lungime, se împletesc/răsucesc pentru a se obține o grosime a fascicolului în intervalul 0.5 – 1.5 mm și se îmbibă în soluția apoasă de amidon, urmând a fi modelate sub diferite forme și uscate la temperatura camerei.
- În funcție de gradul de porozitate dorit 10 – 50% și de dimensiunile fascicolului de cânepă, se calculează raportul pulbere ceramică/ masă fibre de cânepă pentru obținerea amestecului compozit. Acesta este ulterior comprimat prin presare izostatică la rece în matrice cu Φ 10 – 50 mm la forțe de apăsare cuprinse între 10 – 25 Mpa (pentru 10 g de pulbere și dimensiuni de 10 x 10 mm ale corpului cilindric se poate utiliza o cantitate cuprinsă între 0.1 – 0.5 g fibre).
- Produsele cilindrice cu înălțimi între 10 – 50 mm se tratează termic în cuptor electric la 900 – 1300°C cu menținere de 1 – 12 ore, în atmosferă de aer. Răcirea se realizează lent în cuptor. Transformarea materialului ceramic conduce la obținerea unui fosfat bifazic cu limitele 70 – 100% hidroxiapatită și 30 – 0% β -fosfat tricalcic, raportul de hidroxiapatită scăzând cu creșterea cantității de acid fosforic utilizat în timpul sintezei. Porozitatea produsului rezultă în urma arderii complete a materialelor organice introduse. Reducerea dimensională a canalelor este direct proporțională cu reducerea dimensională a probelor cilindrice în intervalul 20 – 35%. Caracteristicile mecanice și biologice sunt modulate prin temperatura și timpul de menținere al sinterizării și prin peliculizarea particulelor de biosticlă la interiorul microcanalelor și intergranular.

După parcurgerea tuturor etapelor, în ordinea și cu parametrii prestabiliți mai sus, se obțin produse masive sub formă cilindrică cu canale interne interconectate, cu compoziție fazică, porozitate și caracteristici mecanice controlate în final prin tratament termic.

Pentru obținerea unor produse cu forme personalizate, în funcție de necesitatea în cadrul unei anume aplicații, structurile 3D de tip scaffold pot fi prelucrate mecanic intraoperator sau pre-operator, dacă există posibilitatea proiectării implantului prin reconstrucție tridimensională pe baza rezultatelor analizelor de imagistică medicală.

Caracteristicile biologice, arhitecturale și funcționale impuse pentru reconstrucția rapidă a defectelor osoase cu dimensiuni variabile au condus la alegerea dimensiunilor

				
---	---	---	--	---

prezentate în acest brevet. Porozitatea produsului final de tip scaffold este dependentă de parametrii de prelucrare a fibrelor de cânepă și a procesului de sinterizare.

Tabel 1: Corelație între caracteristicile fibrelor de cânepă și porozitatea produselor de tip scaffold

Exemplu	Dimensiuni ale scaffold-ului		Dimensiuni ale fibrelor		Porozitate teoretică
	Înălțime [mm]	Diametru [mm]	Lungime [mm]	Diametru [mm]	
1	10	10	30	1	15%
2	30	30	50	1	29%

Reprezentările grafice ale scaffold-urilor prezentate în Tabelul 1 sunt redată în fig.1:
Un exemplu concret de realizare a unui produs de tip scaffold conform procedurii invenției este prezentat în fig.2.

Exemplu

Într-un exemplu de realizare a invenției, plăcile de marmură secționare și scocile au fost periate mecanic pentru a îndepărta impuritățile provenite din mediul natural, după care au fost supuse unui tratament termic la 1300°C timp de 6 ore pentru a transforma carbonatul de calciu în oxid de calciu. Conversia acestuia în fosfat de calciu biogen se produce prin hidratare cu apă distilată și tratament cu acid fosforic de concentrație 85% pipetat la rată constantă de 1ml/min, astfel: la 10 g de hidroxid de calciu sunt necesari 200 ml apă distilată și 5.5 ml acid fosforic, cantitate calculată conform reacțiilor stoechiometrice. Reacția se produce prin agitare magnetică timp de 2 ore, la temperatura ambiantă.

Pulberile au fost uscate preliminar la temperatura camerei timp de 24 ore și ulterior la 120°C timp de 24 de ore, umând a fi măcinate în moară cu bile timp de 2 ore și sortate granulometric pentru a asigura dimensiuni ale particulelor între 100-40 μm.



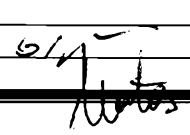
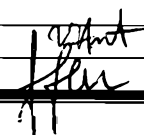
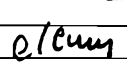
Soluția apoasă de amidon și biosticlă a fost preparată prin amestecarea a $\frac{1}{5}$ părți volumetrice de amidon și biosticlă/ apă distilată în baie termostată la o temperatură constantă de 75°C. Cantitatea de biosticlă a fost de 0.1% din masa de amidon. Fibrele de cânepă au fost secționare la dimensiuni de 30 mm lungime, împletite/răsucite pentru a se obține o grosime a fascicolului de 1 mm și s-au îmbibat în soluția apoasă de amidon și biosticlă, urmând a fi modelate sub diferite forme și uscate la temperatura camerei. Pulberea sintetizată s-a amestecat cu fibrele de cânepă îmbibate în soluția de amidon și biosticlă, iar amestecul a fost comprimat la presiune de 10 MPa pentru a se obține un corp cilindric cu diametrul de 30 mm și înălțimea de 30 mm. Raportul masic pulbere ceramică/fibre de cânepă a fost de: 30/1.8.

Corpul ceramic a fost supus unui tratament termic de sinterizare la 1200°C timp de 10 ore în cuptor electric și atmosferă de aer.

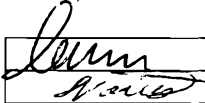
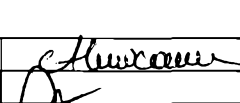
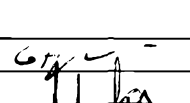
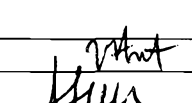
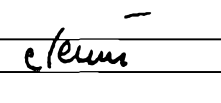
Prin procedeul descris mai sus a fost obținut un produs de tip scaffold cu compoziție bifazică de tipul 90% hidroxiapatită – 10% β-fosfat tricalcic, cu porozitate teoretică de 25%, dimensiuni ale porilor de 500-1000 μm și o reducere dimensională de 34%.

BIBLIOGRAFIE

- [1] Shrivats AR, McDermott MC, Hollinger JO. Bone tissue engineering: state of the union. *Drug discovery today* 2014;19:781-6.
- [2] Lohfeld S, Barron V, McHugh P. Biomodels of bone: a review. *Annals of Biomedical Engineering* 2005;33:1295-311.
- [3] Hoque ME, Shehryar M, Islam KMN. Processing and characterization of cockle shell calcium carbonate (CaCO₃) bioceramic for potential application in bone tissue engineering. *Journal of Material Sciences & Engineering* 2014;2013.
- [4] Fonseca R, Mafalda L, Ferreira JM, Botelho M. Cellular interactions of bone grafts based on calcium phosphates. *Proceedings Book* 2017;16:17.
- [5] Stevens B, Yang Y, Mohandas A, Stucker B, Nguyen KT. A review of materials, fabrication methods, and strategies used to enhance bone regeneration in engineered bone tissues. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 2008;85:573-82.
- [6] Butscher A, Bohner M, Hofmann S, Gauckler L, Müller R. Structural and material approaches to bone tissue engineering in powder-based three-dimensional printing. *Acta biomaterialia* 2011;7:907-20.
- [7] Costa-Pinto AR, Reis RL, Neves NM. Scaffolds based bone tissue engineering: the role of chitosan. *Tissue Engineering Part B: Reviews* 2011;17:331-47.
- [8] Karageorgiou V, Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials* 2005;26:5474-91.
- [9] Blokhuis TJ, Termaat MF, den Boer FC, Patka P, Bakker FC, Henk JTM. Properties of calcium phosphate ceramics in relation to their in vivo behavior. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery* 2000;48:179.
- [10] Best S, Porter A, Thian E, Huang J. Bioceramics: past, present and for the future. *Journal of the European Ceramic Society* 2008;28:1319-27.
- [11] Bohner M, Baroud G, Bernstein A, Döbelin N, Galea L, Hesse B, et al. Characterization and distribution of mechanically competent mineralized tissue in micropores of β -tricalcium phosphate bone substitutes. *Materials Today* 2017;20:106-15.
- [12] Lu J, Flautre B, Anselme K, Hardouin P, Gallur A, Descamps M, et al. Role of interconnections in porous bioceramics on bone recolonization in vitro and in vivo. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 1999;10:111-20.
- [13] Dorozhkin SV. Calcium orthophosphate-based bioceramics. *Materials* 2013;6:3840-942.
- [14] Park SH, Tofighi A, Wang X, Strunk M, Ricketts T, Chang J, et al. Calcium phosphate combination biomaterials as human mesenchymal stem cell delivery vehicles for bone repair. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 2011;97:235-44.
- [15] Wu S-C, Hsu H-C, Wu Y-N, Ho W-F. Hydroxyapatite synthesized from oyster shell powders by ball milling and heat treatment. *Materials Characterization* 2011;62:1180-7.
- [16] Jakus AE, Rutz AL, Jordan SW, Kannan A, Mitchell SM, Yun C, et al. Hyperelastic "bone": A highly versatile, growth factor-free, osteoregenerative, scalable, and surgically friendly biomaterial. *Science translational medicine* 2016;8:358ra127.
- [17] Zhang X, Vecchio KS. Conversion of natural marine skeletons as scaffolds for bone tissue engineering. *Frontiers of Materials Science* 2013;7:103-17.
- [18] Onoda H, Yamazaki S. Homogenous hydrothermal synthesis of calcium phosphate with calcium carbonate and corbicula shells. *Journal of Asian Ceramic Societies* 2016;4:403-6.
- [19] Akram M, Ahmed R, Shakir I, Ibrahim WAW, Hussain R. Extracting hydroxyapatite and its precursors from natural resources. *Journal of Materials Science* 2014;49:1461-75.
- [20] Roy DM, Linnehan SK. Hydroxyapatite formed from coral skeletal carbonate by hydrothermal exchange. *Nature* 1974;247:220.
- [21] Fadli A, Akbar F, Putri P, Pratiwi DI, Muhara I. Hydroxyapatite Powder Prepared by Low Temperature Hydrothermal Method from Sea Shells. *Science and Engineering* 2014.
- [22] Miculescu F, Mocanu A-C, Stan GE, Miculescu M, Maidaniuc A, Cîmpean A, et al. Influence of the modulated two-step synthesis of biogenic hydroxyapatite on biomimetic products' surface. *Applied Surface Science* 2017;438:147-57.
- [23] Miculescu F, Mocanu A-C, Dascălu CA, Maidaniuc A, Batalu D, Berbecaru A, et al. Facile synthesis and characterization of hydroxyapatite particles for high value nanocomposites and biomaterials. *Vacuum* 2017;146:614-22.
- [24] Rathje W. Zur Kenntnis der Phosphate I: Über Hydroxylapatit. *Bodenkunde und Pflanzenernährung* 1939;12:121-8.

				
---	---	---	--	---

- [25] Vecchio K. Conversion Of Sea-Shells And Other Calcite-Based And Aragonite-Based Materials With Dense Structures Into Synthetic Materials For Implants And Other Structures And Devices. Patent WO2006086783A2; 2007.
- [26] Ishikawa K, Matsuya S, Nakagawa M, Udou K. Medical bone prosthetic material and process for producing the same. Patent US8012218 B2; 2011.
- [27] COMMISSION REGULATION (EU) No 722/2012 of 8 August 2012 concerning particular requirements as regards the requirements laid down in Council Directives 90/385/EEC and 93/42/EEC with respect to active implantable medical devices and medical devices manufactured utilising tissues of animal origin.
- [28] ISO/TR 22442 Standard Series - Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives.
- [29] LeGeros RZ. Calcium phosphate-based osteoinductive materials. Chemical reviews 2008;108:4742-53.
- [30] Dorozhkin SV. Bioceramics of calcium orthophosphates. Biomaterials 2010;31:1465-85.
- [31] Dorozhkin SV. Calcium orthophosphates (CaPO₄): occurrence and properties. Progress in Biomaterials 2016;5:9-70.
- [32] Duan R, Barbieri D, Luo X, Weng J, Bao C, de Bruijn JD, et al. Variation of the bone forming ability with the physicochemical properties of calcium phosphate bone substitutes. Biomaterials science 2018;6:136-45.
- [33] Rahaman MN. Sintering of ceramics: CRC press; 2007.
- [34] Bohner M, Baumgart F. Theoretical model to determine the effects of geometrical factors on the resorption of calcium phosphate bone substitutes. Biomaterials 2004;25:3569-82.
- [35] Lombardi M, Palmero P, Haberkro K, Pyda W, Montanaro L. Processing of a natural hydroxyapatite powder: from powder optimization to porous bodies development. Journal of the European Ceramic Society 2011;31:2513-8.
- [36] Novosel EC, Kleinhans C, Kluger PJ. Vascularization is the key challenge in tissue engineering. Advanced drug delivery reviews 2011;63:300-11.
- [37] Rouwkema J, Rivron NC, van Blitterswijk CA. Vascularization in tissue engineering. Trends in biotechnology 2008;26:434-41.
- [38] Daculsi G, Miramond T. Calcium Phosphate-Derived Biomaterials. Encyclopedia of Biophysics: Springer; 2013. p. 206-11.
- [39] Lovett M, Lee K, Edwards A, Kaplan DL. Vascularization strategies for tissue engineering. Tissue Engineering Part B: Reviews 2009;15:353-70.
- [40] Chandramohan D, Marimuthu K. A review on natural fibers. International Journal of Research and Reviews in Applied Sciences 2011;8:194-206.
- [41] Hu R, Lim J-K. Fabrication and mechanical properties of completely biodegradable hemp fiber reinforced polylactic acid composites. Journal of Composite Materials 2007;41:1655-69.
- [42] Zhong J, Greenspan DC. Processing and properties of sol-gel bioactive glasses. Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials 2000;53:694-701.
- [43] Reffitt D, Ogston N, Jugdaohsingh R, Cheung H, Evans BAJ, Thompson R, et al. Orthosilicic acid stimulates collagen type I synthesis and osteoblastic differentiation in human osteoblast-like cells in vitro. Bone 2003;32:127-35.
- [44] Bellucci D, Sola A, Cannillo V. Hydroxyapatite and tricalcium phosphate composites with bioactive glass as second phase: state of the art and current applications. Journal of Biomedical Materials Research Part A 2016;104:1030-56.
- [45] Ravarian R, Moztarzadeh F, Hashjin MS, Rabiee S, Khoshakhlagh P, Tahriri M. Synthesis, characterization and bioactivity investigation of bioglass/hydroxyapatite composite. Ceramics International 2010;36:291-7.
- [46] Yazdanpanah Z, Bahrololoom M, Hashemi B. Evaluating morphology and mechanical properties of glass-reinforced natural hydroxyapatite composites. Journal of the mechanical behavior of biomedical materials 2015;41:36-42.
- [47] Pandey JK, Ahn S, Lee CS, Mohanty AK, Misra M. Recent advances in the application of natural fiber based composites. Macromolecular Materials and Engineering 2010;295:975-89.
- [48] Hirata H, Horii E, Nakao E, Takeuchi H, Takayama T, Nakasu M. Bone filling material and kit for the preparation of the same. Patent WO2008026596A1; 2010.
- [49] Peplow PV, Dias SNGPJ, Roddick-Lanzilotta AD, Kelly RJ. Orthopaedic materials derived from keratin. Patent WO2003103737A1; 2007.
- [50] Tong W, Salvati L. Methods and Devices for Bone Attachment. Patent US20100268227A1; 2010.
- [51] Faust GT. Thermal analysis studies on carbonates. I. Aragonite and calcite. American Mineralogist 1950;35:207-24.
- [52] Satterfield CN, Feakes F. Kinetics of the thermal decomposition of calcium carbonate. AIChE journal 1959;5:115-22.

				
---	---	---	--	---


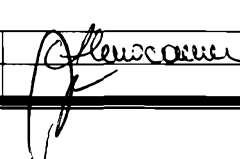
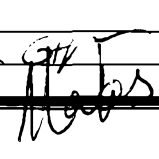
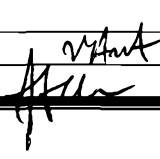

- [53] Wiedemann H-G, Bayer G. Note on the thermal decomposition of dolomite. *Thermochimica Acta* 1987;121:479-85.
- [54] Şahin E. Synthesis and characterization of calcium phosphate cement based macroporous scaffolds. 2012.
- [55] Rosa S, Madsen HEL. Influence of some foreign metal ions on crystal growth kinetics of brushite ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). *Journal of Crystal Growth* 2010;312:2983-8.
- [56] Yanovska A, Kuznetsov V, Stanislavov A, Danilchenko S, Sukhodub L. A study of brushite crystallization from calcium-phosphate solution in the presence of magnesium under the action of a low magnetic field. *Materials Science and Engineering: C* 2012;32:1883-7.
- [57] Boanini E, Gazzano M, Bigi A. Ionic substitutions in calcium phosphates synthesized at low temperature. *Acta biomaterialia* 2010;6:1882-94.
- [58] Marchi J, Dantas A, Greil P, Bressiani J, Bressiani A, Müller F. Influence of Mg-substitution on the physicochemical properties of calcium phosphate powders. *Materials research bulletin* 2007;42:1040-50.
- [59] Miculescu F, Maidaniuc A, Voicu SI, Thakur VK, Stan GE, Ciocan L. Progress in Hydroxyapatite–Starch Based Sustainable Biomaterials for Biomedical Bone Substitution Applications. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 2017;5:8491-512.
- [60] Miculescu F, Maidaniuc A, Miculescu M, Dan Batalu N, Cătălin Ciocoiu R, Voicu SI, et al. Synthesis and Characterization of Jellified Composites from Bovine Bone-Derived Hydroxyapatite and Starch as Precursors for Robocasting. *ACS Omega* 2018;3:1338-49.
- [61] Rosas J, Bedia J, Rodríguez-Mirasol J, Cordero T. HEMP-derived activated carbon fibers by chemical activation with phosphoric acid. *Fuel* 2009;88:19-26.
- [62] Champion E. Sintering of calcium phosphate bioceramics. *Acta biomaterialia* 2013;9:5855-75.

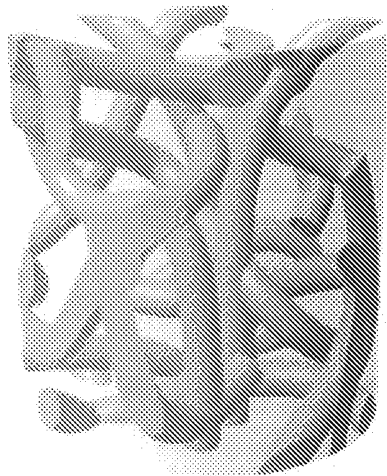
REVENDICĂRI

1. Procedeu de obținere a unui produs pentru reconstrucția defectelor osoase, pe bază de hidroxiapatită și fosfat de calciu bifazic biogen, cu raport controlat între hidroxiapatită și fosfatul tricalcic, incluzând o fază preliminară de disociere termică a carbonatului de calciu sub formă de marmură dolomitică și scoici marine în cuptor electric la temperatura de 1300°C cu menținere 6 ore în atmosferă de aer, **caracterizat prin aceea că**, oxidul de calciu rezultat în prima fază este hidratat cu apă distilată, soluția rezultată fiind tratată cu acid fosforic de concentrație 85% pipetat la o rată de 1 ml/min pornind de la calculul cantităților determinate conform reacțiilor stoechiometrice, pentru modularea compoziției cantitatea de acid fosforic fiind crescută la 110-130% x cantitatea stoechiometrică calculată, soluția fiind agitată magnetic 2 ore la 25°C, uscarea produsului rezultat fiind realizată prin tratament termic final la 120°C, 24 de ore după care este realizată măcinarea acestuia în moară cu bile de agat timp de 2 ore și sortarea granulometrică prin vibrație în site succesive cu dimensiuni ale ochiurilor în intervalul 100-20 μm, pulberile obținute fiind amestecate cu fascicule de fibre de cânepă secționare la dimensiuni de 10 – 50 mm lungime și împletite/răsucite sub forma unui fascicol cu o grosime de 0.5 – 1.5 mm și apoi îmbibate în soluție de amidon și biosticlă – 0.1 – 2% din masa de amidon, realizată prin amestecarea a $\frac{1}{5}$ – $\frac{1}{20}$ părți volumetrice de amidon și biosticlă/apă distilată în baie termostată la 70 – 80°C, raportul de pulbere ceramică/ masă fibre de cânepă pentru obținerea amestecului compozit fiind prestabilit în corelație cu gradul de porozitate de 10 – 50%, amestecul rezultat fiind compactat prin presare izostatică la rece în matrițe cu Φ 10 – 50 mm la forțe de apăsare cuprinse între 10 – 25 MPa în funcție de porozitatea și proprietățile mecanice dorite ale produsului final, care este obținut prin sinterizare în cuptor electric la 900 – 1300°C timp de 1 – 12 ore, în atmosferă de aer, porozitatea produsului rezultând în urma arderii complete a materialelor organice introduse, cu reducerea dimensională de 20 – 35% a probelor cilindrice și a canalelor rezultate, modularea caracteristicilor mecanice și biologice fiind obținută prin temperatura și timpul de menținere al sinterizării și prin peliculizarea particulelor de biosticlă la suprafața canalelor și intergranular.
2. Procedeu de producere a unui produs pentru reconstrucția defectelor osoase conform revendicării 1, caracterizat prin aceea că, modularea gradului de porozitate al produsului din fosfat de calciu bifazic biogen de tipul hidroxiapatită/fosfat tricalcic este realizată conform tabelului 1 în corelație cu raportul de pulbere ceramică/ masă fascicule de fibre de cânepă îmbibate în soluție de amidon și biosticlă și porozitatea produselor de tip scaffold:

Tabel 1: Corelație între caracteristicile fibrelor de cânepă și porozitatea produselor de tip scaffold

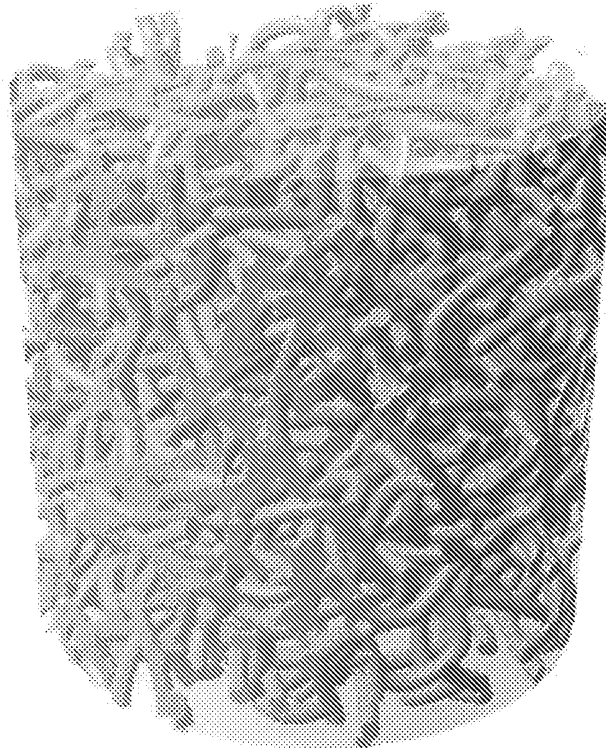
Exemplu	Dimensiuni ale scaffold-ului		Dimensiuni ale fibrelor		Porozitate teoretică
	Înălțime [mm]	Diametru [mm]	Lungime [mm]	Diametru [mm]	
1	10	10	30	1	15%
2	30	30	50	1	29%

				
---	---	---	--	---



$c = 10 \text{ mm}$
 $h = 10 \text{ mm}$
 $\varnothing_{\text{fibră}} = 1 \text{ mm}$
 $L_{\text{fibră}} = 30 \text{ mm}$

a)

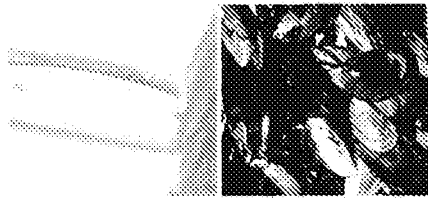


$c = 30 \text{ mm}$
 $h = 30 \text{ mm}$
 $\varnothing_{\text{fibră}} = 1 \text{ mm}$
 $L_{\text{fibră}} = 50 \text{ mm}$

b)

Fig. 1.a, b

<i>Alina</i>	<i>Alina</i>	<i>Alina</i>	<i>Alina</i>	<i>Alina</i>
--------------	--------------	--------------	--------------	--------------



DESCOMPUNERE TERMICĂ

Obținere oxid de calciu biogen

- Periaj mecanic
- Secționare plăci de marmură

Tratament termic în cuptor electric

- Temperatură: **1300°**
- Durată: **6 ore**
- Atmosferă: **aer**
- Răcire: **în cuptor**

SINTEZĂ UMEDĂ ADAPTATĂ

Obținere pulberi ceramice

- Hidratare oxid de calciu: **apă distilată**

Formare soluție de sinteză

- Apă distilată: **200 ml**
- Hidroxid de calciu: **10 g**
- Acid fosforic (85%): **5.5 ml**
- Rată de aditie acid: **1 ml/min**

Agitare magnetică

- Temperatură: **25°C**
- Durată: **2 ore**
- Rotații pe minut: **700 rpm**

Tratament termic de uscare

- Preliminar: **24 ore/ RT**
- Temperatură: **1300°**
- Durată: **6 ore**
- Atmosferă: **aer**

SINTERIZARE

Tratament termic în cuptor electric cu ventilație continuă

- Temperatură: **1200°**
- Durată: **10 ore**
- Atmosferă: **aer**
- Răcire: **în cuptor**

FORMARE PRODUSE 3D

Soluție apoasă de amidon și biosticlă

- Biosticlă: **0.1%** din masa de amidon
- Părți vol. amidon+biosticlă/apă distilată: **1/5**
- Mediu: **baie termostată**
- Temperatură: **75°C**

Fibre de cânepă îmbibate în soluție apoasă de amidon+biosticlă

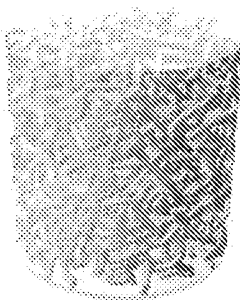
- Dimensiuni de secționare: **12 mm**
- Diametru fascicul prin răsucire: **1 mm**
- Modelare: **diferite forme**
- Uscare: **temperatura camerei (RT)**

Prelucrare mecanică

- Formare amestec – raport masic pulbere ceramică/ fibre cânepă îmbibate: **30/ 2**
- Presare: **10 MPa**
- Formă: **cilindrică**
- Dimensiuni cilindru:

$$h = 30 \text{ mm}; \varnothing = 30 \text{ mm}$$

Scaffold pentru reconstrucție osoasă



- Porozitate teoretică: **29%**
- Dimensiune pori: **500 – 1000 μm**
- Reducere dimensională (după sinterizare): **34%**
- Compoziție fazică: **90% hidroxiapatită – 10% β – fosfat tricalcic**

Fig. 2.

--	--	--	--	--