

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10) **PL 246598 B1**

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **447483**

(22) Data zgłoszenia: **2024.01.09**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2024.07.29 BUP 31/2024**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2025.02.17 WUP 07/2025**

(51) MKP:

A61L 27/04 (2006.01)

A61L 27/12 (2006.01)

A61L 27/20 (2006.01)

A61L 27/50 (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:

**AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA
IM. STANISŁAWA STASZICA W KRAKOWIE,
Kraków, PL**

(72) Twórca(-y) wynalazku:

**ANETA ZIMA, Kraków, PL
JOANNA CZECHOWSKA, Kraków, PL
PIOTR PAŃTAK, Kraków, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Katarzyna Nosalska, Kraków, PL

(54) Tytuł:

Sposób otrzymywania biomateriału kośćozastępczego w postaci hybrydowych granul

PL 246598 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania biomateriału kośćcozastępczego w postaci hybrydowych granul na bazie hydroksyapatytu. Sposób otrzymywania według wynalazku pozwoli na uzyskanie granul, które mogą być wykorzystane jako komponenty materiałów wiązanych chemicznie, które do procesu wiązania potrzebują wody lub roztworów wodnych, bądź samodzielnie jako wypełniacze ubytków kostnych.

Fosforany (V) wapnia stanowią grupę materiałów bioceramicznych, znajdującą szerokie zastosowanie w medycynie regeneracyjnej i inżynierii tkanki kostnej. Przykładowe zastosowania fosforanów (V) wapnia obejmują ceramikę spiekaną, cementy kostne, granule oraz powłoki na metalowych implantach. Są to materiały biozgodne i bioaktywne, wykazujące podobieństwo chemiczne do nieorganicznej fazy kości ludzkiej (apatytu kostnego). Granule bioceramiczne i kompozytowe, zawierające fosforany (V) wapnia mogą być wykorzystywane w medycynie, między innymi w inżynierii tkanek twardych, w sposób samodzielny, jako wypełniacze ubytków kostnych, lub jako składowe wiązanych chemicznie materiałów kompozytowych. W materiałach wiązanych chemicznie, typu biomikrobeton, granule pełnią rolę kruzywa. Granule mocowane są w matrycy kompozytu w procesie wiązania fazy cementowej. Parametry fizykochemiczne, głównie wytrzymałość mechaniczna materiału, warunkowane są procesami adhezji fizycznej lub chemicznej komponentów składowych. Adhezja na granicy faz osnowa-granula zazwyczaj jest niezadawalająca, co po implantacji może przekładać się na przyspieszoną degradację materiału.

Celem niniejszego wynalazku jest zatem dostarczenie granul hybrydowych, zmodyfikowanych silanowymi środkami sprzęgającymi, które eliminują wspomniane powyżej wady. Silanowe środki sprzęgające (SCA) to związki krzemooorganiczne posiadające zdolność łączenia materiałów o odmiennych strukturach. Mają one pełnić rolę czynnika pomostującego pomiędzy fazą granul i osnową, wspomagając proces adhezji.

Z publikacji Ghorbani i współpracownicy (*Ghorbani, F., Zamanian, A., Behnamghader, A., & Daliri Joupari, M., (2018). A novel pathway for in situ synthesis of modified gelatin microspheres by silane coupling agents as a bioactive platform. Journal of Applied Polymer Science, 135 (41), 46739*), znane są hybrydowe mikrosfery na bazie żelatyny i GPTMS (3-glicydyloksypropylotrimetoksyilanu), syntezowane przy użyciu metody jednofazowej emulsji W/O. W sposobie wg artykułu żelatyna została rozpuszczona w wodzie destylowanej (20% (W/V) i mieszana przez 12 godzin w temperaturze 40°C. Następnie do roztworu dodano GPTMS o stężeniu 20% wagowych i mieszano przez 2 godziny. Do 1 litra fazy olejowej (olej słonecznikowy, oliwa z oliwek) stopniowo dodano 20 ml roztworu wodnego za pomocą strzykawki o 27-calowej igle, z szybkością 40 kropli na minutę, przy mieszaniu fazy olejowej wirówką mechaniczną obracającą się z prędkością 2000 obr./min. W ten sposób uzyskano mikrosfery. W artykule opisane jest otrzymywanie mikrosfer żelatynowych przy użyciu techniki jednofazowej emulsji, a następnie sieciowanie ich za pomocą silanowych środków sprzęgających. W proponowanym sposobie wg wynalazku otrzymujemy hybrydowe granule modyfikowane środkami sprzęgającymi powierzchniowo. Wykorzystuje się tu modyfikację powierzchniową granul w celu uzyskania korzystnych właściwości powierzchniowych, umożliwiających sprzężenie z osnową materiałów wiązanych chemicznie.

Z polskiego opisu patentowego PL190486B1 znany jest sposób wytwarzania wysokoreaktywnych proszków fosforanów wapnia, który polega na tym, że wytrąca się jednostopniowo osady fosforanów wapnia, dodając powoli do zawiesiny Ca(OH)_2 roztwór H_3PO_4 , przy czym ilość wyjściowych reagentów jest taka, aby stosunek molowy $\text{CaO}:\text{P}_2\text{O}_5$ wynosił 1,55:1,66, pH środowiska reakcyjnego utrzymuje się w granicach 5–11, temperaturę w granicach 18–90°C. Równocześnie intensywnie miesza się zawiesinę reakcyjną. Fosforany wapnia wytrącają się w postaci amorficznych osadów, w których stosunek molowy Ca/P wynosi 1,50–1,66. Osady te poddaje się następnie procesowi dojrzewania przez kilkadziesiąt godzin, w następstwie czego ulegają przemianom w niestechiometryczny hydroksyapatyt, w którego strukturze obecne są jony HPO_4^{2-} . Po odfiltrowaniu, wysuszeniu, rozdrobnieniu, praży się je w temperaturze 700–900°C, uzyskując wysokoreaktywne proszki, będące mieszaniną HAp i TCP lub monofazowy proszek TCP.

Z pracy Rehman i współpracowników (*Rehman, S., Khan, K., Mujahid, M., & Nosheen, S. (2016). Synthesis of nano-hydroxyapatite and its rapid mediated surface functionalization by silane coupling agent. Materials Science and Engineering: C, 58, 675–681*), znana jest metoda otrzymywania nanorurek hydroksyapatytowych syntezowanych za pomocą jednoetapowego mokrego procesu sedymentacji, a następnie ich powierzchniowej funkcjonalizacji za pomocą aminopropylotrietoksyilanu (APTS).

Znane są również patenty oraz artykuły opisujące otrzymywanie granul bioceramicznych i kompozytowych, zawierających hydroksyapatyt.

Z polskiego opisu patentowego PL 194 711 B1 znany jest sposób otrzymywania materiału kompozytowego w formie granul o rozmiarach 0,2–0,5 mm, formowanego z placka filtracyjnego powstałego po syntezie proszku hydroksyapatytowego metodą moką. W tym celu placki suszy się i rozdrabnia poniżej 0,63 mm, a następnie oddziela ziarna o frakcji 0,25–0,63 mm, które następnie wypala się w temperaturze 1250°C przez dwie godziny uzyskując frakcję 0,2–0,5 mm.

Znane jest także z publikacji Anety Zimy (Zima, A. (2018). *Hydroxyapatite-chitosan based bioactive hybrid biomaterials with improved mechanical strength. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 193, 175–184), otrzymywanie hybrydowych granul hydroksyapatytowo-chitozanych z wykorzystaniem mokrej syntezy chemicznej oraz przesiewania placka filtracyjnego przez sита o odpowiednio dobranym rozmiarze oczka.

Wynalazek rozwiązuje problem otrzymywania hybrydowych granul metylocelulozowo-hydroksyapatytowych powierzchniowo modyfikowanych silanowymi środkami sprzęgającymi, o większej adhezji na granicy faz osnowa-granula, a tym samym większej trwałości wytworzonych biomateriałów kośćcozastępczych. Ponadto sposób według wynalazku nie wymaga etapu wysokotemperaturowej obróbki cieplnej.

Sposób otrzymywania biomateriału kośćcozastępczego w postaci hybrydowych granul polegający na dodaniu jonów fosforanowych (V) do wodnej zawiesiny wodorotlenku wapnia Ca(OH)_2 w warunkach intensywnego mieszania i suszenia charakteryzuje się tym, że do wodnej zawiesiny wodorotlenku wapnia Ca(OH)_2 dodaje się wodną mieszaninę jonów fosforanowych (V), przy czym stosunek molowy wapń : fosfor zawiera się w przedziale od 1,4 do 1,8, oraz wodny roztwór metylocelulozy w ilości do uzyskania od 1 do 50% mas. metylocelulozy w końcowym produkcie, a pH środowiska utrzymuje się na poziomie 6–14, wytrącony osad poddaje się dojrzwaniu, po czym zamraża się na okres co najmniej jednej godziny w temp. od -1°C do -50°C , następnie rozmraża i suszy w temperaturze od 5°C do 80°C i frakcjonuje za pomocą sit, następnie uzyskane granule dodaje się do roztworu silanowego środka sprzęgającego w alkoholu o stężeniu 10–99,9%, przy czym ilość silanowego środka wynosi od 0,1% do 30% mas., następnie całość miesza się w temperaturze 10– 50°C i pozostawia w roztworze na czas nie krótszy niż 20 minut, następnie granule suszy się.

Korzystnie jako jony fosforanowe (V) stosuje się jony wprowadzone w postaci H_3PO_4 , K_3PO_4 , Na_3PO_4 .

Korzystnie pH środowiska reguluje się przy pomocy wodorotlenków, a najlepiej NaOH, KOH.

Korzystnie otrzymane granule pozostawia się na powietrzu lub umieszcza w urządzeniu suszącym w temperaturze od 25°C do 150°C , do całkowitego odparowania alkoholu.

Proponowane rozwiązanie eliminuje wadę niewystarczającego przylegania granul do osnowy biomateriałów wiązanych chemicznie. W sposobie według wynalazku uzyskuje się granule hybrydowe o korzystnych właściwościach pozwalających na ścisłe połączenie na granicy faz granula/osnowa dzięki obecności silanowych środków sprzęgających na powierzchni granul które pozwalają na ich efektywne wiązanie z osnową biomateriałów wiązanych chemicznie (np. bioceramicznych cementów kostnych). Materiał samoorganizuje się w formę granul i nie jest poddawany wysokotemperaturowej obróbce cieplnej, co obniża czas i koszty jego produkcji.

Granule uzyskane wg proponowanego sposobu mogą znaleźć zastosowanie jako substytuty kostne oraz komponenty wiązanych chemicznie biomateriałów (cementów kostnych, biomikrobetonów).

Przedmiot wynalazku został przedstawiony w przykładach wykonania.

Przykład 1

W 1 litrze wody destylowanej rozpuszczono 10 g metylocelulozy, a następnie dodano 100 ml wodnego roztworu kwasu fosforowego (V). Uzyskaną mieszaninę wkroplono do uprzednio przygotowanej zawiesiny Ca(OH)_2 w 1 litrze wody destylowanej. Ilość kwasu oraz zasady dobrano tak że stosunek molowy wapnia do fosforu Ca/P wynosił 1,67. W trakcie prowadzenia procesu syntezy, zawiesinę reakcyjną mieszano w temperaturze pokojowej, a pH utrzymywano powyżej 10 za pomocą roztworu NaOH. Uzyskany osad pozostawiono na 48 godzin. Następnie osad zamrożono w temperaturze od -6°C do -10°C na 48 godzin, a następnie rozmrożono, uzyskując samoformujące się granule. Granule poddano suszeniu w temperaturze od 38°C do 42°C i frakcjonowano z użyciem sit. Do zlewki z 100 cm^3 99,5% roztworu alkoholu etylowego dodano tetraetoksylan (TEOS) w ilości 5 g i mieszano na mieszadle magnetycznym w temperaturze 20°C – 24°C przez 15 minut. Granule dodano do roztworu silanowego środka sprzęgającego w alkoholu, a następnie całość poddano mieszaniu w temperaturze 20°C – 24°C i pozostawiono

w roztworze na 120 minut. Następnie granule umieszczono w suszarce w temperaturze 42°C–47°C, do całkowitego odparowania alkoholu.

Przykład 2

W litrze wody destylowanej rozpuszczono 20 g metylocelulozy, a następnie dodano 500 ml roztworu H_3PO_4 . Do 500 ml wody destylowanej dodano tlenek wapnia (CaO) zawieszinę mieszaną a następnie, przy ciągłym mieszaniu, dodano mieszaninę metylocelulozy i H_3PO_4 . Ilość kwasu oraz zasady dobrano tak aby stosunek molowy wapnia do fosforu Ca/P wynosił 1,55. W trakcie prowadzenia procesu syntezy zawieszinę reakcyjną mieszaną w temperaturze pokojowej, a pH utrzymywano powyżej 10 za pomocą roztworu KOH . Uzyskany osad pozostawiono na 72 godziny. Następnie osad zamrożono w temperaturze od -16 do $-22^\circ C$ na 48 godzin, a następnie rozmrożono. Uzyskane granule poddano suszeniu w temperaturze $40^\circ C$ – $45^\circ C$ i frakcjonowano z użyciem sit. Do zlewki z 500 cm^3 70% roztworu alkoholu etylowego dodano – (3-glicydyloksypropyl)trimetoksyilanu (GPTMS) w ilości 2 g i mieszano na mieszadle magnetycznym w temperaturze od $18^\circ C$ do $25^\circ C$ przez 30 minut. Granule dodano do roztworu GPTMS w alkoholu, a następnie całość mieszaną w temperaturze $20^\circ C$ – $25^\circ C$ i pozostawiono w roztworze na 6 godzin. Następnie granule umieszczono w urządzeniu suszącym w temperaturze $98^\circ C$ – $102^\circ C$, do całkowitego odparowania alkoholu.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób otrzymywania biomateriału kościozastępczego w postaci hybrydowych granul polegający na dodaniu jonów fosforanowych (V) do wodnej zawiesiny wodorotlenku wapnia $Ca(OH)_2$ w warunkach intensywnego mieszania i suszenia **znamienny tym**, że do wodnej zawiesiny wodorotlenku wapnia $Ca(OH)_2$ dodaje się wodną mieszaninę jonów fosforanowych (V), przy czym stosunek molowy wapń : fosfor zawiera się w przedziale od 1,4 do 1,8, oraz wodny roztwór metylocelulozy w ilości do uzyskania od 1 do 50% mas. metylocelulozy w końcowym produkcie, a pH środowiska utrzymuje się na poziomie 6–14, wytrącony osad poddaje się dojrzewaniu, po czym zamraża się na okres co najmniej jednej godziny w temp. od $-1^\circ C$ do $-50^\circ C$, następnie rozmraża i suszy w temperaturze od $5^\circ C$ do $80^\circ C$ i frakcjonuje za pomocą sit, następnie uzyskane granule dodaje się do roztworu silanowego środka sprzęgającego w alkoholu o stężeniu 10–99,9%, przy czym ilość silanowego środka wynosi od 0,1% do 30% mas., następnie całość miesza się w temperaturze 10 – $50^\circ C$ i pozostawia w roztworze na czas nie krótszy niż 20 minut, następnie granule suszy się.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako jony fosforanowe (V) stosuje się jony wprowadzone w postaci H_3PO_4 , K_3PO_4 , Na_3PO_4 .
3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że pH środowiska reguluje się przy pomocy wodorotlenków, korzystnie $NaOH$, KOH .
4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że otrzymane granule pozostawia się na powietrzu lub umieszcza w urządzeniu suszącym w temperaturze od $25^\circ C$ do $150^\circ C$, do całkowitego odparowania alkoholu.