

(19)

URZĄD  
PATENTOWY  
RZECZYPOSPOLITEJ  
POLSKIEJ

(10)

PL 447483 A1

(12)

## Opis zgłoszeniowy wynalazku (z daty zgłoszenia)

(21) Numer zgłoszenia: 447483

(22) Data zgłoszenia: 2024.01.09

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

(51) MKP:

A61L 27/04 (2006.01)

A61L 27/12 (2006.01)

A61L 27/20 (2006.01)

A61L 27/50 (2006.01)

(71) Zgłaszający:

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

(72) Twórca(-y):

ANETA ZIMA, Krakow, PL  
JOANNA CZECHOWSKA, Krakow, PL  
PIOTR PAŃTAK, Krakow, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Katarzyna Nosalska, Krakow, PL

(54) Tytuł:

**Sposób otrzymywania biomateriału kośćcozastępczego w postaci hybrydowych granul**

(57) Skrót opisu:

Zgłoszenie dotyczy sposobu otrzymywania biomateriałów kośćcozastępczych w postaci hybrydowych granul na bazie hydroksyapatytu i metylocelulozy, powierzchniowo modyfikowanych silanowymi środkami sprzęgającymi. Sposób polega na tym, że do wodnej zawiesiny wodorotlenku wapnia  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  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  $-1^\circ\text{C}$  do  $-50^\circ\text{C}$ , następnie rozmraża i suszy w temperaturze od  $5^\circ\text{C}$  do  $80^\circ\text{C}$  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  $10 - 50^\circ\text{C}$  i pozostawia w roztworze na czas nie krótszy niż 20 minut, następnie granule suszy się.

## **Sposób otrzymywania biomateriału kośćcozastępczego w postaci hybrydowych granul**

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 kruszywa. 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 krzemoorganiczne 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-glicydyloksypropylotrimetoksysilanu), 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 wirówka

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  $\text{Ca(OH)}_2$  roztwór  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , 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  $\text{Ca}/\text{P}$  wynosi 1,50-1,66. Osady te poddaje się następnie procesowi dojrzewania przez kilkadziesiąt godzin, w następstwie czego ulegają przemianie w niestechiometryczny hydroksyapatyt, w którego strukturze obecne są jony  $\text{HPO}_4^{2-}$ . 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 sedimentacji, 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 0,2-0,5mm, formowanego z placka filtracyjnego powstałego po syntezie proszku hydroksyapatytowego metodą mokra. W tym celu placki suszy się i rozdrabnia poniżej 0,63mm, a następnie oddziela ziarna o frakcji 0,25-0,63mm, które następnie wypala się w temperaturze 1250°C przez dwie godziny uzyskując frakcję 0,2-0,5mm.

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-chitozanowych z wykorzystaniem

mokrej syntezy chemicznej oraz przesiewania placka filtracyjnego przez sita 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 kośćczastępczych. Ponadto sposób według wynalazku nie wymaga etapu wysokotemperaturowej obróbki cieplnej.

Sposób otrzymywania biomateriału kośćczastępczego w postaci hybrydowych granul polegający na dodaniu jonów fosforanowych (V) do wodnej zawiesiny wodorotlenku wapnia  $\text{Ca(OH)}_2$  w warunkach intensywnego mieszania i suszenia charakteryzuje się tym, że do wodnej zawiesiny wodorotlenku wapnia  $\text{Ca(OH)}_2$  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  $-1^\circ\text{C}$  do  $-50^\circ\text{C}$ , następnie rozmraża i suszy w temperaturze od  $5^\circ\text{C}$  do  $80^\circ\text{C}$  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 10g metylocelulozy, a następnie dodano 100 ml wodnego roztworu kwasu fosforowego(V). Uzyskaną mieszaninę wkroplono do uprzednio przygotowanej zawiesiny  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  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  $-6^\circ\text{C}$  do  $-10^\circ\text{C}$  na 48 godzin, a następnie rozmrożono, uzyskując samoformujące się granule. Granule poddano suszeniu w temperaturze od  $38^\circ\text{C}$  do  $42^\circ\text{C}$  i frakcjonowano z użyciem sit. Do zlewki z  $100\text{ cm}^3$  99,5% roztworu alkoholu etylowego dodano tetraetoksylan (TEOS) w ilości 5g i mieszano na mieszadle magnetycznym w temperaturze  $20^\circ\text{C}$  -  $24^\circ\text{C}$  przez 15 minut. Granule dodano do roztworu silanowego środka sprzęgającego w alkoholu, a następnie całość poddano mieszaniu w temperaturze  $20^\circ\text{C}$  -  $24^\circ\text{C}$  i pozostawiono w roztworze na 120 minut. Następnie granule umieszczono w suszarce w temperaturze  $42^\circ\text{C}$  -  $47^\circ\text{C}$ , do całkowitego odparowania alkoholu.

Przykład 2

W litrze wody destylowanej rozpuszczono 20g metylocelulozy, a następnie dodano 500ml roztworu  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Do 500ml wody destylowanej dodano tlenek wapnia ( $\text{CaO}$ ) zawiesinę mieszano 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 zawiesinę reakcyjną mieszano 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  $500\text{ cm}^3$  70% roztworu alkoholu etylowego dodano - (3-glicydyloksypropyl)trimetoksysilanu (GPTMS) w ilości 2g 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 mieszano 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

1. Sposób otrzymywania biomateriału kościozastępczego w postaci hybrydowych granul polegający na dodaniu jonów fosforanowych (V) do wodnej zawiesiny wodorotlenku wapnia  $\text{Ca(OH)}_2$  w warunkach intensywnego mieszania i suszenia **znamienny tym, że** do wodnej zawiesiny wodorotlenku wapnia  $\text{Ca(OH)}_2$  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  $-1^\circ\text{C}$  do  $-50^\circ\text{C}$ , następnie rozmraża i suszy w temperaturze od  $5^\circ\text{C}$  do  $80^\circ\text{C}$  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  $10-50^\circ\text{C}$  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  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ .
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°C do 150°C, do całkowitego odparowania alkoholu.



## SPRAWOZDANIE O STANIE TECHNIKI DO ZGŁOSZENIA NR P.447483

Klasyfikacja zgłoszenia: A61L 27/04, A61L 27/12, A61L 27/20, A61L 27/50		
Podklasy w których prowadzono poszukiwania: A61L27		
Bazy komputerowe w których prowadzono poszukiwania: EPODOC WPI bazy UPRP		
Kategoria dokumentu	Dokumenty - z podaną identyfikacją	Odniesienie do zastrz.
A	PL190486 B1 (AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA IM. STANISŁAWA STASZICA, Kraków, PL) 30-12-2005 zastrzeżenia	1-4
A	PL210026 B1 (AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA IM. STANISŁAWA STASZICA, Kraków, PL, zastrzeżenia) 30-11-2011 zastrzeżenia	1-4
A	P.Pańtak et al., "The influence of silane coupling agents on the properties of $\alpha$ -TCP-based ceramic bone substitutes for orthopaedic applications" RSC Adv., 2023, 13, 34020–34031, <a href="https://doi.org/10.1039/D3RA06027F">https://doi.org/10.1039/D3RA06027F</a>	1-4
A	E. Cichoń et al., "Development of highly porous calcium phosphate bone cements applying nonionic surface active agents", RSC Adv., 2021, 11, 23908–23921	1-4
<input checked="" type="checkbox"/> Dalszy ciąg wykazu dokumentów na następnej stronie		
<p>A – dokument określający ogólny stan techniki, który nie jest uważany za posiadający szczególne znaczenie,          E – dokument stanowiący wcześniejsze zgłoszenie lub patent, ale opublikowany w lub po dacie zgłoszenia,          L – dokument, który może poddawać w wątpliwość zastrzeżone pierwszeństwo(-wa), lub przytoczony w celu ustalenia daty publikacji innego cytowanego dokumentu lub z innego szczególnego powodu,          O – dokument odnoszący się do ujawnienia ustnego przez zastosowanie, wystawienie lub ujawnienie w inny sposób,          P – dokument opublikowany przed datą zgłoszenia, ale później niż zastrzegana data pierwszeństwa,          T – dokument późniejszy, opublikowany po dacie zgłoszenia lub w dacie pierwszeństwa i niebędący w konflikcie ze zgłoszeniem, ale cytowany w celu zrozumienia zasad lub teorii leżących u podstaw wynalazku,          X – dokument o szczególnym znaczeniu; zastrzegany wynalazek nie może być uważany za nowy lub nie może być uważany za posiadający poziom wynalazczy, jeżeli ten dokument brany jest pod uwagę samodzielnie,          Y – dokument o szczególnym znaczeniu; zastrzegany wynalazek nie może być uważany za posiadający poziom wynalazczy, jeżeli ten dokument zostanie połączony z jednym lub kilkoma tego typu dokumentami, a takie połączenie będzie oczywiste dla znawcy,          &amp; – dokument należący do tej samej rodziny patentowej.</p>		

Sprawozdanie wykonał/-a:

 Beata Chasieniewicz  
 Ekspert

Data:

16.05.2024

Podpis:

 /podpisano kwalifikowanym podpisem elektronicznym/  
 Pismo wydane w formie dokumentu elektronicznego

## Uwagi do zgłoszenia

Sprawozdanie zostało wykonane w oparciu o zastrz.1-4 z dnia 09.01.2024r.

## Kontynuacja wykazu dokumentów

Kategoria dokumentu	Dokumenty - z podaną identyfikacją	Odniesienie do zastrz.
A	Sarish Rehman " Synthesis of nano-hydroxyapatite and its rapid mediated surface functionalization by silane coupling agent" , Volume 58, 1 January 2016, Pages 675-681 <a href="https://www.sciencedirect.com/journal/materials-science-and-engineering-c">https://www.sciencedirect.com/journal/materials-science-and-engineering-c</a> , ScienceDirect,	1-4