



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 344 397**

② Número de solicitud: 200900550

⑤ Int. Cl.:
C01B 25/32 (2006.01)
A61F 2/28 (2006.01)
A61L 27/12 (2006.01)
C04B 35/447 (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

⑫ Fecha de presentación: **24.02.2009**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **25.08.2010**

Fecha de la concesión: **13.06.2011**

⑮ Fecha de anuncio de la concesión: **24.06.2011**

⑯ Fecha de publicación del folleto de la patente:
24.06.2011

⑰ Titular/es: **Universitat Politècnica de Catalunya
c/ Jordi Girona, 31
08034 Barcelona, ES**

⑱ Inventor/es: **Ginebra Molins, María Pau y
Mestres Beà, Gemma**

⑳ Agente: **No consta**

⑳ Título: **Método de obtención de fosfato tricálcico α -estabilizado con elementos alfégenos y fosfato tricálcico α -estabilizado obtenido.**

㉑ Resumen:

Método de obtención de fosfato tricálcico α -estabilizado con elementos alfégenos y fosfato tricálcico α -estabilizado obtenido.

Se propone un proceso de obtención de fosfato tricálcico α (α -TCP) estabilizado con elementos alfégenos aplicable a la preparación de biomateriales para sustitución o regeneración ósea, así como a la ingeniería de tejidos. La preparación de α -TCP dopado con elementos alfégenos utiliza un método simple de molienda en que se mezclan los reactivos juntamente con agua. Después de secar la mezcla, se hace un tratamiento térmico, siendo posible, si se desea, prescindir del temple, o reducir la temperatura del tratamiento térmico, debido al efecto alfégeno de los dopantes. Asimismo, en el caso en el que se utilice el silicio como elemento estabilizante, es sabido que su introducción en el α -TCP da lugar a un compuesto final con una mayor bioactividad.

ES 2 344 397 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Método de obtención de fosfato tricálcico α -estabilizado con elementos alfégenos y fosfato tricálcico α -estabilizado obtenido.

5 **Sector de la técnica**

La presente invención se refiere a un procedimiento de obtención de biomateriales para la regeneración de tejidos duros, en los ámbitos de la cirugía ósea y odontología. Estos materiales se pueden preparar en forma de polvos que se pueden usar para la fabricación de cementos, recubrimientos, cerámicas densas o porosas, y se pueden aplicar para rellenar cavidades óseas, estabilizar fracturas óseas, recubrir prótesis o implantes y fijar prótesis o implantes. Asimismo, pueden actuar como soportes de liberación de fármacos (*Drug Delivery Systems*) y de crecimiento celular en ingeniería de tejidos (*Tissue Engineerings scaffolds*).

15 En particular la invención concierne a un método para la obtención de fosfato tricálcico α estabilizado con elementos alfégenos.

La invención también concierne a un fosfato tricálcico α estabilizado obtenido por la aplicación del método propuesto.

20 **Estado de la técnica**

En los últimos años, la comunidad científica ha realizado importantes avances en el campo del diseño y la fabricación de nuevos materiales para la sustitución y la regeneración del tejido óseo. Entre los distintos materiales desarrollados, merecen especial mención los que están basados en fosfatos de calcio, por su similitud con la fase mineral del hueso. Como es sabido, el tejido óseo está formado por una fase orgánica y una fase inorgánica. La fase orgánica está básicamente compuesta por colágeno y otras proteínas, mientras que la fase inorgánica es un fosfato de calcio, concretamente una hidroxiapatita deficiente en calcio carbonatada. Además de los iones carbonato, esta fase apatítica contiene también sustituciones iónicas de magnesio, sodio, estroncio, etc.

30 Los fosfatos de calcio han sido sintetizados en un alto número de formas, entre las cuales cabe mencionar las cerámicas densas o porosas, los cementos, los materiales compuestos, los recubrimientos, etc. Éstos presentan como principal característica su elevada bioactividad, de modo que son fácilmente integrados en el tejido óseo, y algunos son además reabsorbibles dando lugar a una progresiva sustitución por tejido óseo neoformado. De entre los distintos fosfatos de calcio, los más utilizados para aplicaciones clínicas son la hidroxiapatita y el fosfato tricálcico.

El fosfato tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) es un compuesto que tiene tres formas alotrópicas. La fase estable a temperatura ambiente es la fase β (β -TCP) con una estructura hexagonal la cual se transforma a fase α (α -TCP), con estructura monoclinica por encima de 1125°C [1], Incrementando la temperatura hasta 1430°C, dicha fase se transforma en una nueva fase α' (α' -TCP) [1]. El β -TCP es fosfato tricálcico que se ha venido utilizando desde los años 80 como un material de regeneración ósea. Más recientemente, se ha puesto de relieve que el α -TCP es también un material con un gran potencial en el campo de los biomateriales para cirugía ortopédica y odontología, y se han descubierto un gran número de aplicaciones basadas en su uso. Concretamente, un gran número de formulaciones de cementos óseos de fosfato de calcio contienen α -TCP como reactivo, debido a que presenta una mayor solubilidad que la fase β [1,2]. Asimismo, el α -TCP se está usando también para la fabricación de cerámicas y recubrimientos, obteniéndose resultados enormemente esperanzadores como materiales para regeneración ósea [3].

El α -TCP es la fase estable por encima de la temperatura de transformación β - α (1125°C aproximadamente). Para obtenerla a temperatura ambiente como una fase metaestable es necesario realizar un temple. Generalmente, se prepara mediante reacción en estado sólido a una temperatura superior a la temperatura de transformación β - α , a partir de reactivos que tengan una relación molar Ca/P adecuada, igual a 1,5. A continuación se realiza un temple (un enfriamiento rápido hasta temperatura ambiente) de forma que se impida la transformación a fase β , y se mantenga la fase α metaestable. En este sentido hay que mencionar que la necesidad de realizar un temple supone una serie de inconvenientes desde el punto de vista del proceso de fabricación del α -TCP. Por una parte, el material se ve sometido a un importante choque térmico, con la consiguiente creación de tensiones internas que dan lugar a defectos que comprometen la fiabilidad mecánica del material, y dificulta enormemente la fabricación de piezas cerámicas, densas o porosas, de α -TCP. Otro aspecto importante es que cuando se realiza un temple desde alta temperatura, no solo el material, sino también el horno sufre un importante choque térmico, al ser necesario abrirlo a una temperatura elevada, normalmente superior a los 1200°C, para extraer el material sinterizado. Esto repercute directamente en una reducción de su tiempo de vida y plantea serios problemas de producción del material.

Es sabido que algunos elementos, como el silicio, el boro, el titanio y el aluminio, tienen un efecto alfégeno, es decir, tienden a estabilizar la fase α del TCP. Por los motivos expuestos, esta estabilización del α -TCP puede representar importantes beneficios tecnológicos. Por un lado, si se estabiliza esta fase implica que puede dejar de ser necesaria la realización de un temple para retener la fase α , o bien que debido a la disminución de la temperatura de transformación β - α , se puede preparar el material a temperaturas inferiores, simplificando de forma significativa el proceso. Entre los elementos alfégenos mencionados, tiene especial interés el silicio, puesto que a los beneficios descritos hay que

añadir su efecto positivo desde el punto de vista de la mejora de la bioactividad de muchas biocerámicas, habiéndose demostrado que la incorporación de silicio en cerámicas de fosfato de calcio mejora su potencial de regeneración ósea [3,10].

5 Nuse, Welch y Gutt [4] y posteriormente Fix *et al.* [5] estudiaron el diagrama de fases $\text{Ca}_2\text{SiO}_4\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, y mostraron que la incorporación de silicio tiene un efecto alfégeno, decreciendo la temperatura de transformación α - β , y dando lugar a la formación de una solución sólida con la estructura del α -TCP, estable cuando Ca_2SiO_4 está presente en un contenido molar inferior al 8% [4,5]. Hay que tener en cuenta, sin embargo, que aunque el diagrama de fases puede predecir la existencia de ciertas fases termodinámicamente estables, su obtención mediante un proceso factible desde un punto de vista industrial puede ser enormemente difícil. Hay que tener en cuenta que para realizar el estudio mencionado [5], se llevaron a cabo tratamientos térmicos durante 21 días a alta temperatura y posteriormente se mantuvo a la temperatura correspondiente durante muchas horas para realizar el análisis de fases mediante difracción de rayos X.

15 De hecho, un intento de estabilizar el α -TCP a bajas temperaturas mediante la incorporación de silicio a partir de mezclas de Ca_2SiO_4 , DCP y CaCO_3 posteriormente sinterizadas a 1250°C y enfriadas lentamente en el horno no obtuvo resultados positivos [6].

Más recientemente, diversos investigadores han reportado la preparación de α -TCP estabilizado con silicio (Si- α -TCP) mediante métodos de precipitación y sol-gel [7-12]. En todos los casos el proceso de obtención se basa en la preparación en húmedo por sol-gel de un precipitado de hidroxiapatita coloidal, al que se adiciona el silicio, bien en forma de un precursor metal-orgánico (por ejemplo, TPOS o TEOS) [7,8] o bien en forma de sílica coloidal [9].

25 En la patente US 6585992 B2 (2003) [11], donde se propone un material para regeneración ósea basado en α -TCP estabilizado, bajo el nombre comercial Skelite™ (Millenium Biologix, Cañada), se describe de forma detallada este proceso de preparación. En el caso de la fabricación de polvos, para asegurar la incorporación del aditivo, se menciona la necesidad de controlar que éste no precipite en una fase previa, sino que se produzca una precipitación única con la mayor mezcla de los reactivos. El polvo obtenido es secado y posteriormente calcinado a 1000°C. La caracterización posterior de los reactivos muestra que el material está compuesto por Si- α -TCP como fase mayoritaria.

30 Pugh *et al.*, en la patente 2007/0184035 A1 [12], también proponen un proceso de preparación basado en el método sol-gel. Concretamente parten de una hidroxiapatita preparada por sol-gel. Para la obtención del α -TCP estabilizado, esta hidroxiapatita obtenida por sol-gel se puede sinterizar sobre un sustrato de cuarzo, obteniéndose un recubrimiento que contiene Si- α -TCP, o bien, si se quiere obtener en forma de polvo, se mezcla con una solución de sílica aplicando nuevamente la metodología de sol-gel.

Un aspecto clave para que el silicio se incorpore en la estructura del α -TCP durante la sinterización, es que se produzca un contacto suficiente del reactivo que proporciona los átomos de Si y el reactivo que proporciona los átomos de Ca y P. En las patentes mencionadas [11,12], tal como se documenta en ambos casos en la descripción detallada de la invención, se señala el método sol-gel como el proceso adecuado, necesario para asegurar la suficiente homogeneidad y el íntimo contacto entre reactivos para que se produzca el efecto estabilizador de los átomos de Si.

Breve explicación de la invención

45 Esta invención se centra en un nuevo método de obtención de fosfato tricálcico α estabilizado con elementos alfégenos.

En el procedimiento propuesto, la preparación del α -TCP estabilizado se realiza mediante un método de molienda de unos reactivos iniciales: una fuente de calcio y fósforo con una relación molar Ca/P adecuada, que puede ser una hidroxiapatita, y un compuesto que actúe como fuente del elemento estabilizador de la fase α .

De acuerdo con la invención se utiliza como fuente de calcio y fósforo uno o más compuestos con un bajo contenido de elementos betágenos y una elevada superficie específica y se emplea un óxido del elemento alfégeno, nanométrico, con una elevada superficie específica.

55 El proceso de molienda permite una mezcla adecuada de los dos polvos de partida. Posteriormente, se seca la mezcla y se realiza un tratamiento térmico por encima de la temperatura de transformación β - α , que permite la obtención de fosfato tricálcico α . La incorporación del elemento alfégeno puede permitir eliminar el temple del material, o reducir la temperatura de sinterización. De entre los elementos alfégenos tiene especial interés el silicio, por su efecto beneficioso en la bioactividad del material y en su comportamiento biológico.

El primer aspecto de la invención es la obtención de polvos donde el α -TCP estabilizado es la fase cristalina mayoritaria, llegándose a un contenido de un 97-99.9% respecto a las fases cristalinas del material.

65 Un segundo aspecto de la invención es la preparación de dicha fase mediante un proceso innovador y muy simple, que es la molienda y la posterior sinterización de hidroxiapatita y óxido de silicio, sin ser preceptiva la realización de un temple.

Existen patentes en las que se describe la obtención de α -TCP estabilizado con silicio a partir de un método de sol-gel [11,12]. En las mismas se señala que la preparación por sol-gel de los precursores es necesario para conseguir el suficiente contacto entre los reactivos, indispensable para que silicio se incorpore en la estructura del α -TCP durante la sinterización, y establezca la estructura. En este sentido, es muy relevante la afirmación que se hace en el párrafo [0067] de la patente 2007/0184035 A1 [12], (sección "Detailed description of the preferred embodiments"), sobre la importancia de la forma en que se adiciona la sílica. Concretamente, se afirma que cuando la sílica se añade en forma de polvo a una hidroxiapatita comercialmente pura y se realiza un molido conjunto para promover la mezcla, el producto obtenido a altas temperaturas de sinterización, por encima de los 1000°C, es β -TCP. En contraste, polvos obtenidos por sol-gel donde la sílica es añadida como una solución metal-orgánica se convierten en α -TCP estabilizada. Se menciona explícitamente por tanto que no es posible estabilizar el α -TCP si solamente se muelen los reactivos conjuntamente y posteriormente se hace un tratamiento térmico por encima de los 1000°C.

La novedad de la presente invención deriva de haber demostrado que es posible obtener α -TCP estabilizado con un elemento alógeno como el silicio, mediante el molido de hidroxiapatita comercialmente pura y sílica, y su posterior tratamiento térmico, sin necesidad de utilizar técnicas de síntesis basadas en el sol-gel.

Los parámetros que se han ajustado para obtener altas proporciones de la fase Si- α -TCP estabilizada son los siguientes:

- a) Condiciones que deben cumplir los reactivos
- b) Condiciones del proceso de molido aplicado
- c) Cantidad de óxido de silicio necesario
- d) Tratamiento térmico

El polvo de Si- α -TCP obtenido tiene diversas aplicaciones en el campo de los biomateriales para regeneración y sustitución ósea como, por ejemplo, la preparación de cementos de fosfato de calcio altamente bioactivos, la fabricación de cerámicas densas o porosas, éstas últimas pudiendo actuar como andamios para el crecimiento celular *in vitro* o el crecimiento de tejido *in vivo*, o la fabricación de recubrimientos y materiales compuestos, entre otras aplicaciones.

La invención cubre asimismo un fosfato tricálcico α estabilizado que se ha obtenido por aplicación del método expuesto.

Por otra parte, como se ha mencionado anteriormente, aunque el silicio ha sido el elemento alógeno más estudiado, y tiene especial interés para aplicaciones en el ámbito médico porque es conocido su influencia positiva en la bioactividad de las biocerámicas, la estabilización del α -TCP se puede conseguir también mediante el dopaje con otros elementos alógenos, como el titanio, el aluminio y el boro [13].

Descripción detallada de la invención

Esta invención se centra en un nuevo método de obtención de fosfato tricálcico α estabilizado con elementos alógenos. Como se ha indicado, de entre los elementos alógenos tiene especial interés el silicio, por su efecto beneficioso en la bioactividad del material y en su comportamiento biológico, por lo que en el proceso detallado se hará especial énfasis en la utilización de silicio como elemento estabilizador del α -TCP, pero el procedimiento descrito es aplicable a cualquier otro de los elementos que tienen dicho efecto estabilizador de la fase α del TCP.

Por claridad, algunos de los reactivos y productos serán nombrados de la manera indicada a continuación. HA se refiere a la hidroxiapatita, de fórmula molecular $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$; α -TCP se refiere al fosfato tricálcico en su fase cristalográfica alfa; Si- α -TCP se refiere al fosfato tricálcico en su fase cristalográfica alfa estabilizado con silicio.

Los reactivos utilizados son HA y SiO_2 . El SiO_2 utilizado es una suspensión coloidal formada por partículas nanométricas de óxido de silicio en agua. Con la finalidad de mejorar la homogeneidad de la mezcla, la suspensión de SiO_2 a añadir puede ser diluida en agua y dispersada mediante ultrasonidos para disminuir los aglomerados de partículas.

Con el objetivo de obtener Si- α -TCP con elevada pureza, se han evaluado y optimizado los siguientes parámetros: a) los reactivos; b) el proceso de molido; c) la cantidad adecuada de silicio; d) el tratamiento térmico.

Por un lado, para que el efecto estabilizador del silicio siguiendo el proceso indicado sea más efectivo, es conveniente que la HA, que puede ser comercialmente pura, tenga ciertas características: a) una elevada superficie específica, preferiblemente mayor a 30 m²/g; b) un bajo contenido en impurezas betágenas como estroncio y hierro [13], y muy especialmente el magnesio, que es uno de los elementos metálicos que más tendencia tiene a estabilizar la fase β del fosfato tricálcico [14, 15], con una cantidad menor a 100 ppm en el total de dichos elementos; c) cierta deficiencia en

calcio, provocada por ejemplo por la sustitución de iones sodio por iones calcio. La deficiencia en Ca confiere a la HA una menor estabilidad a altas temperaturas, favoreciendo la formación de la fase α [13]. También el SiO₂ debe tener una elevada superficie específica, preferiblemente mayor a 50 m²/g, para que durante el molido se facilite su mezcla y homogeneización y un buen contacto entre los reactivos.

Teóricamente la obtención de Si- α -TCP requiere una relación Ca/(P+Si) de 1,5, valor que coincide con una relación molar teórica de SiO₂/HA de 0,32 si se utiliza una HA estequiométrica, con una relación Ca/P de 1,67. Dado que, como se ha mencionado, en las HA comerciales pueden existir gran cantidad de impurezas que modifiquen el comportamiento, hay que tener en cuenta que esta relación tiene un valor orientativo. Concretamente, si se utiliza una HA con una alta sustitución de iones sodio por iones calcio, y por tanto con una relación Ca/P inferior, la relación Ca/(P+Si) atómica del α -TCP estabilizado puede ser inferior a 1.5.

En el proceso de molido es necesario mantener una relación adecuada entre el volumen de reactivo, el volumen de agua destilada y las condiciones de molienda. La velocidad y el tiempo de molienda son un factor clave, ya que incrementando estos factores, de forma independiente o a la vez, se mezclan mejor los reactivos. Con tal de conseguir una buena homogeneización de los reactivos, el volumen de agua destilada a añadir durante el proceso de molienda tiene que estar en una relación entre 2-2.5 mL por gramo de HA utilizado. Finalmente, con tal de disminuir los agregados de las partículas de SiO₂ y facilitar la homogeneización y la mezcla, es conveniente sonicar previamente este reactivo con agua.

El efecto estabilizador del silicio sobre la fase α se refleja por una parte, en la disminución de la temperatura de transformación β - α , pudiéndose obtener α -TCP a temperaturas inferiores a los 1125°C; y por otra en que, una vez formada la fase α , deja de ser necesario realizar un temple para retener esta estructura a temperatura ambiente, pudiéndose obtener α -TCP mediante un tratamiento térmico seguido de un enfriamiento lento dentro del horno.

Así, siguiendo el procedimiento descrito es posible obtener, a partir de una mezcla de HA y SiO₂ comerciales con las características descritas y en las proporciones adecuadas, mediante un simple proceso de molienda seguido por un tratamiento térmico adecuado, un material formado por Si- α -TCP como fase cristalina mayoritaria, con un contenido mayor al 95% respecto a las fases cristalinas, incluso en el caso de no realizar un temple, sino llevando a cabo un enfriamiento lento en el horno, como resultado de la estabilización del α -TCP por la introducción del silicio.

La caracterización de los productos obtenidos se realiza mediante difracción de rayos X. Para determinar de forma cualitativa las fases presentes, el espectro fue comparado con los espectros teóricos de PDFWIN para el α -TCP (PDF #09-0348) [16], el β -TCP (PDF #09-0161) [17] y la HA (PDF #09-0432) [18]. Asimismo, es necesario realizar refinamientos mediante el método Rietveld para cuantificar las fases presentes. En este caso, fueron utilizados los datos correspondientes a las estructuras cristalográficas de las fases esperadas, los cuales se encuentran en la base de datos de las estructuras cristalográficas inorgánicas (Crystal Structure Database, ICSD). Los espectros incluidos fueron los correspondientes a la fase α -TCP (ICSD #923) [19], β -TCP (ICSD #6191) [14] e HA (ICSD #151414) [20]. Con la finalidad de cuantificar las fases presentes, se ajustó la calidad de los siguientes parámetros mediante refinamientos: desplazamiento instrumental, factores de escala, parámetros de celda utilizando el modelo de Thompson-Cox-Hastings con divergencia de pseudo Voigt*Axial, forma y anchura del pico a media altura (FWHM), orientación preferente y línea base.

Aunque el silicio ha sido el elemento alfégeno más estudiado, es sabido que existen otros elementos que tienen un efecto estabilizador de la fase α del TCP, como el titanio, el aluminio y el boro, y el método utilizado para obtener α -TCP estabilizado se puede utilizar también con estos otros elementos alfégenos.

Realizaciones preferidas

Los ejemplos que se incluyen a continuación son descritos con la finalidad de ilustrar de forma práctica, sin la intención de limitar ni restringir a las composiciones específicas que se recogen en los mismos.

Ejemplo 1

Preparación del precursor conteniendo Ca, P y Si mediante molido

El siguiente procedimiento describe el proceso de preparación del polvo precursor del Si- α -TCP mediante molido. Se introducen 20 g de HA en un tarro de ágata de 500 mL. Se pesan 3,828 g de una suspensión de SiO₂ (Cab-o-Sperse™ 1030K, Cabot Corporation, suspensión de 30% en peso de SiO₂ en agua), valor que corresponde a 1.148 g de SiO₂, en una balanza analítica cerrada con atmósfera saturada de humedad. La relación de SiO₂/HA en peso corresponde a un 5.73%. El SiO₂ en suspensión se mezcla con 30 mL de agua destilada y se somete a ultrasonidos durante 5 minutos para obtener una buena dispersión. Posteriormente se añade a la HA en el tarro de ágata, utilizando 20 mL de agua para transvasar todo el SiO₂ de la suspensión (el volumen total de agua corresponde a 50 mL), y con una espátula se homogeneiza durante 1 minuto. El equipamiento utilizado para el proceso de molienda es un molino planetario *Fritsch Pulverisette 6*. El proceso de molido se lleva a cabo mediante 3 bolas de ágata (diámetro 30 mm) y una velocidad de 350 rpm durante 30 minutos. El contenido del molino, un líquido viscoso blanco, se seca en una

ES 2 344 397 B1

estufa a 110°C durante 24 horas. La mezcla de HA con SiO₂ se prepara utilizando dos HA comerciales (HA1 y HA2) con características distintas, que se describen en la Tabla siguiente:

TIPO HA	Relación molar Ca/P	Superficie específica (m ² /g)	Impurezas (ppm)							
			Mg	Sr	Al	Fe	Na	Si	Mn	Zn
HA1	1,64	57,2	2534,0	166,7	221,0	212,6	0	372,2	90,2	8,0
HA2	1,43	70,7	9,8	49,1	5,7	34,2	16713,2	6,5	0,4	176,3

La HA1 fue suministrada por Merck (ref. n. 1,02196,1000), y la HA2 a CalbioChem (ref. n. 391948). Un aspecto relevante es que ambas hidroxiapatitas tienen elevada superficie específica. La HA1, suministrada por Merck, tiene una mayor relación molar Ca/P y contiene una gran cantidad de impurezas betágenas, especialmente Mg, Sr y Fe. Por el contrario, la hidroxiapatita HA2 es deficiente en calcio, debido probablemente a la gran cantidad de impurezas de Na, que es conocido que sustituye al Ca en la estructura apatítica.

Ejemplo 2

Tratamiento térmico de los precursores de CaP-Si. Efecto de la HA utilizada

El tratamiento térmico que se describe a continuación puede realizarse en una mufla estándar, capaz de abarcar un rango térmico desde temperatura ambiente hasta 1250°C. Los productos preparados siguiendo el ejemplo 1 se someten a un tratamiento térmico que consiste en un calentamiento a 5°C/min hasta 1250°C y un mantenimiento durante 2 h a esta temperatura. Posteriormente, el producto es enfriado lentamente dentro del horno, sin necesidad de aplicar ningún temple. Además de los dos precursores preparados según el Ejemplo 1, se realiza el tratamiento térmico con las HA1 y HA2 sin adición de SiO₂.

La caracterización de los productos obtenidos se realiza mediante difracción de rayos X. El equipo utilizado es un Bragg-Brentano PANalytical X'Pert PRO MPD alpha1. Las condiciones experimentales aplicadas fueron las siguientes: V = 45 kV; I = 40 mA; escaneo por paso 2θ (scan step) = 0,02°; intervalo de escaneo = 4-100°; y tiempo de contaje por punto = 150 s. Para determinar de forma cualitativa las fases presentes, el espectro fue comparado con los espectros teóricos de PDFWIN para el α-TCP (PDF #09-0348), el β-TCP (PDF #09-0161) y la HA (PDF #09-0432) y se hicieron refinamientos mediante el método Rietveld utilizando el programa FullProf para cuantificar las fases presentes, siguiendo el protocolo descrito anteriormente. Los resultados se recogen en la Tabla siguiente:

Muestra	Cuantificación fases cristalinas (%)		
	α-TCP	β-TCP	HA
HA1+SiO ₂	25,5±0,1	56,0±0,7	18,5±0,8
HA2+SiO ₂	97,4±0,3	2,2±0,3	0,6±0,2
HA1	0,0±0,0	0,0±0,0	100,0±0,0
HA2	1,0±0,1	91,0±1,9	8,0±2,0

Los resultados indican claramente que el SiO₂ tiene la capacidad de estabilizar la fase α del fosfato tricálcico, que el procedimiento de molido utilizado es eficaz para obtener muestras que contienen fosfato tricálcico α como fase cristalina muy mayoritaria (hasta un 99,5% en peso) y que este efecto depende del tipo de HA utilizado para preparar el precursor.

ES 2 344 397 B1

Ejemplo 3

Efecto del tratamiento térmico realizado

- 5 Utilizando el precursor HA₂+SiO₂ descrito en el Ejemplo 1, se realizan distintos tratamientos térmicos, consistentes en un calentamiento a 5°C/min hasta 1250°C seguidos de: A) un enfriamiento en el horno; B) un mantenimiento a 1250°C durante un período de 30 minutos seguido del enfriamiento en el horno; C) un mantenimiento a 1250°C durante un período de 120 minutos seguido de un enfriamiento en el horno.
- 10 Se analizan los difractogramas de rayos X y se cuantifican las fases mediante el método Rietveld siguiendo el protocolo detallado en Ejemplo 2. Los resultados obtenidos se indican a modo de tabla a continuación.

15

Caso	Tratamiento térmico	Cuantificación fases cristalinas (%)		
		α-TCP	β-TCP	HA
A	1250°C	77,5±0,6	22,1±0,3	0,4±0,2
B	1250°C 30min	99,6±0,8	0,0±0,0	0,4±0,2
C	1250°C 2h	99,6±0,8	0,0±0,0	0,47±0,2

20

25

Los resultados muestran que es conveniente realizar un mantenimiento por a 1250°C para asegurar la formación de la fase alfa, siendo suficientes 30 minutos.

30

Ejemplo 4

Preparación del precursor a partir de distintas relaciones molares de SiO₂/HA

35

Este ejemplo pretende mostrar cómo distintas cantidades de silicio afectan en la proporción final de fases obtenidas. Partiendo de 20 g de HA₂, se añaden distintas cantidades de una suspensión de SiO₂. Dicha suspensión tiene un 30% en peso de SiO₂ en agua. En la siguiente tabla se indica la relación en peso entre el SiO₂ y la HA, así como la cantidad de suspensión coloidal de SiO₂ añadida en cada caso.

40

% SiO ₂ /HA (en peso)	Peso suspensión SiO ₂ (g)
0	0
1.92	1,2759
3.84	2,5517
5.73	3,8276

45

50

Con la finalidad de asegurar la mayor precisión en la pesada, ésta debe efectuarse con una balanza analítica con un ambiente saturado de humedad. El procedimiento a seguir, una vez pesada la cantidad de dispersión de SiO₂ adecuada, corresponde al indicado en el ejemplo 1.

55

Ejemplo 5

60

Tratamiento térmico de los precursores con distintas relaciones molares de SiO₂/HA

El tratamiento térmico que se describe a continuación puede realizarse en una mufla estándar capaz de abarcar un rango térmico desde temperatura ambiente hasta 1250°C. Los productos preparados siguiendo el ejemplo 4 son sometidos a un tratamiento térmico a 5°C/min hasta 1250°C, temperatura que se mantiene durante 2 horas, para finalmente enfriar en el horno.

65

Se analizan los difractogramas de rayos X y se cuantifican las fases mediante el método Rietveld siguiendo el protocolo detallado en Ejemplo 2. Los resultados obtenidos se indican en la tabla siguiente. % SiO ₂ /HA (en peso)	Cuantificación fases cristalinas (%)		
	α -TCP	β -TCP	HA
0	1,0 \pm 0,1	91,0 \pm 1,9	8,0 \pm 2,0
1.92	92,0 \pm 1,8	7,5 \pm 1,7	0,5 \pm 0,0
3.84	95,0 \pm 0,6	4,2 \pm 1,2	0,8 \pm 0,6
5.73	97,4 \pm 0,3	2,0 \pm 0,3	0,6 \pm 0,2

Los resultados indican que la relación de SiO₂/HA en peso de 5.73% permite obtener α -TCP estabilizado con Si como fase cristalina muy mayoritaria, en un valor superior al 97% respecto al total de fases cristalinas.

Invención escalable a aplicación industrial

Esta invención es fácilmente aplicable a escala industrial. La etapa de molienda se puede realizar mediante molinos de bolas industriales. Estos molinos, son un tipo de maquinaria sencilla y con eficacia elevada. La segunda etapa, que consiste en secar el líquido mezcla obtenido, sólo tiene como requisito el uso de una estufa. Con tal de evaporar toda el agua, es conveniente utilizar un recipiente con una elevada superficie. Finalmente, el tratamiento térmico es el que presenta una ventaja superior respecto los métodos convencionales, ya que no se necesita aplicar un temple. De modo que se puede realizar este tratamiento térmico utilizando una mufla de procesamiento continuo o discontinuo.

Se detallan a continuación las referencias citadas a lo largo de la descripción de la presente invención:

Referencias

[1] Elliott J.C. Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates *Elsevier*, Amsterdam (1994) 191-304.

[2] Dorozhkin S.V. Calcium orthophosphate cements for biomedical applications. *Journal of Materials Science* 43 (2008) 3028-3057.

[3] Mastrogiacomo M, Papadimitropoulos A, Cedola A. *et al.* Engineering of bone using bone marrow stromal cells and a silicon-stabilized tricalcium phosphate bioceramics: evidence for a coupling between bone formation and scaffold resorption. *Biomaterials* 28 (2007) 1376-1384.

[4] Nurse, R.W.; Welch, J.H.; Gutt, W. High-temperature phase equilibria in the system dicalcium silicate - tricalcium phosphate. *Journal of Chemical Society* (1959) 1077-1083.

[5] Fix W., Heymann H., Heinke R. Subsolidus relations in the system 2CaO.SiO₂-3CaO.P₂O₅. *Journal of the American Ceramic Society* 52 (6) (1969) 346-47.

[6] Fernández E., Boltong M.G., Ginebra M.P., Planell J.A., Driessens F.C.M. Effect of Ca₂SiO₄ on the stability of α -TCP down to low temperatures. *Fourth Euro Ceramics* Vol. 8, A. Ravaglioli (Ed), Faenza, Italia (1995) 103-108.

ES 2 344 397 B1

[7] **Langstaff S., Sayer M., Smith T.J.N., Pugh S.M., Hesp S.A.M., Thompson W.T.** Resorbable bioceramics based on stabilized calcium phosphates. Part I: rational design, sample preparation and material characterization. *Biomaterials* 20 (1999) 1727-1741.

5 [8] **Langstaff S., Sayer M., Smith T.J.N., Pugh S.M.** Resorbable bioceramics based on stabilized calcium phosphates. Part II: evaluation of biological response. *Biomaterials* 22 (2001) 135-150.

[9] **Sayer M., Stratilatov A.D., Reid J., Calderin L., Stott M.J., Yin X., MacKenzie M., Smith T.J.N., Hendry J.A., Langstaff S.D.** Structure and composition of silicon-stabilized tricalcium phosphate. *Biomaterials* 24 (2003) 369-382.

10 [10] **Pietak, A.M.; Reid, J.W.; Stott, M.J.; Sayer, M.** *Biomaterials* 28 (2007) 4023-4032.

[11] **Pugh S.M., Smith TJN, Sayer M, Langstaff D.** US Patent 6.585.992 B2 (2003)

15

[12] **Pugh S.M, Smith T.J.N., Sayer M., Langstaff D.** US Patent 2007/0184035 A1 (2007)

[13] **Ando J.** *Bull. Chem. Soc. Japan* Vol. 31 No. 2 196-201 (1958)

20 [14] **Dickens B., Schroeder L.W., Brown, W.E.** Crystallographic studies of the role of Mg as a stabilizing impurity in beta-Ca₃(PO₄)₂. The crystal structure of pure beta-Ca₃(PO₄)₂. *Journal of Solid State Chemistry* 10 (1974) 232-248.

[15] **Garcia Carrodeguas R., De Aza A.H., Turrillas X., Pena P., De Aza S.** New approach to the $\beta \rightarrow$ polymorphic transformation in magnesium-substituted tricalcium phosphate and its practical implications. *Journal of the American Ceramic Society* 91 [4] (2008) 1281-1286.

25

[16] De **Wolff P.** Technisch Physische Dienst, Delf, The Netherlands. PDF Card #09-0348.

[17] De **Wolff P.** Technisch Physische Dienst, Delf, The Netherlands (1957). PDF Card #09-0169.

30

[18] De **Wolff P.** Technisch Physische Dienst, Delf, The Netherlands. PDF Card #09-0432.

[19] **Mathew M., Schroeder L.W., Dickens B., Brown W.E.** The crystal structure of alpha-Ca₃(PO₄)₂. *Acta Crystallographica B* (24,1968-38,1982) 33.(1977) 1325-1333

35

[20] de **Andrade A.V.C., da Silva J.C.Z., Paiva-Santos C.O., Weber C., dos Santos Utuni V.H., Tebcherani S.M., Ferreira Borges C.P., da Costa E., Martínez Manent S.** Synthesis and crystal phase evaluation of hydroxylapatite using the Rietveld - maximum entropy method. *Ceramic Engineering and Science Proceedings* 25 (2004) 639-645.

40

45

50

55

60

65

ES 2 344 397 B1

REIVINDICACIONES

- 5 1. Proceso para la obtención de fosfato tricálcico estabilizado con elementos alfégenos, **caracterizado** por comprender las siguientes etapas:
- 10 i) una molienda mecánica de una o varias fuente de calcio y fósforo con una relación molar Ca/P menor a 1,6 y un óxido de un elemento alfégeno estabilizador de la fase α del fosfato tricálcico; y
- 10 ii) la aplicación de un tratamiento térmico hasta una temperatura máxima entre 1100 y 1400°C, utilizando como fuente de calcio y fósforo uno o más compuestos con un contenido de elementos betágenos menor a 100 ppm y una superficie específica mayor a 30 m²/g, y empleando un óxido del elemento alfégeno nanométrico, con una superficie específica mayor a 50 m²/g.
- 15 2. Proceso según la reivindicación 1, en donde dicha relación molar Ca/P está comprendida entre 1,41 y 1,50.
3. Proceso según la reivindicación 1 ó 2, en donde dicha fuente de calcio y fósforo es hidroxiapatita (HA).
- 20 4. Proceso según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho elemento alfégeno es el silicio.
5. Un proceso según la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado** porque después del citado tratamiento térmico se obtiene un producto que contiene fosfato tricálcico α como fase cristalina mayoritaria.
- 25 6. Un proceso según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el tratamiento térmico va seguido de un enfriamiento lento en el horno sin realizar un temple.
7. Un proceso según la reivindicación 4, **caracterizado** por la obtención de una fase α estabilizada con silicio en una proporción superior al 95% respecto a las fases cristalinas presentes.
- 30 8. Un proceso según la reivindicación 3, **caracterizado** porque la HA tiene un bajo contenido en elementos betágenos (estabilizadores de la fase beta), como el magnesio y el estroncio, preferiblemente inferior a 100 ppm.
9. Un proceso según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el tratamiento térmico aplicado alcanza una temperatura igual o superior a 1000°C, preferiblemente superior a 1200°C, seguido de un enfriamiento en el horno.
- 35 10. Un proceso según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la temperatura máxima está entre 1125 y 1400°C durante un tiempo superior a 30 minutos para asegurar la transformación completa a fase α .
- 40 11. Un proceso según la reivindicación 4, **caracterizado** porque el silicio estabilizante está presente en una relación molar de SiO₂/HA de 0,10-0,50, preferiblemente entre 0,16 y 0,50 y más preferiblemente entre 0,45 y 0,50.
12. Un proceso según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el proceso de molido se realiza en húmedo, es decir con adición de agua, hasta alcanzar una adecuada mezcla de los reactivos.
- 45 13. Un proceso según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el proceso de molido se realiza en un molino de ágata y con bolas de ágata.
14. Un proceso según la reivindicación 12, **caracterizado** por una adición de agua en una relación de 2-2,5 mL por gramo de HA.
- 50 15. Un proceso según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho elemento alfégeno estabilizador de la fase α del fosfato tricálcico es el boro, el titanio o el aluminio, utilizando en el proceso descrito, los respectivos óxidos.
- 55 16. Fosfato tricálcico α estabilizado con elementos alfégenos, obtenible por un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15.
- 60
- 65



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 344 397

② N° de solicitud: 200900550

③ Fecha de presentación de la solicitud: **24.02.2009**

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ **Int. Cl.:** Ver hoja adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	JP 5306108 A (OLYMPUS OPTICAL CO LTD) 19.11.1993, , (resumen) BASE DE DATOS WPI [en línea], Thomson Corp., Philadelphia, USA, [recuperado el 06/05/2008]. Recuperado de WPI en EPOQUENET, (EPO), DW199351, N° DE ACCESO 1993-408741.	1-3, 12 y 15
X	US 2003003160 A1 (LANGSTAFF, D et al.) 02.01.2003, ejemplos 5-7	16
X	WO 9709286 A1 (WARSAW ORTHOPEDIC INC) 13.03.1997, reiv. 5.	16
X	CAMIRE, C L et al.: "Material Characterization and in vivo Behavior of Silicon Substituted Alpha-Tricalcium Phosphate Cement.", Journal of Biomedical Materials Research, (2006), vol. 76B (2), pp.: 424-431, ISSN 1552-4973, pág. 425, -EXPERIMENTAL: Materials Preparation-	16
A	US 2002042657 A1 (LANGSTAFF, D et al.) 11.04.2002, todo el documento.	1-16
A	US 2003193106 A1 (CHANG B S) 16.10.2003, todo el documento.	1-16
A	US 6459010 B1 (CARPENA, J) 01.10.2002, todo el documento.	1-16

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

21.06.2010

Examinador

A. Maquedano Herrero

Página

1/4

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

C01B 25/32 (2006.01)

A61F 2/28 (2006.01)

A61L 27/12 (2006.01)

C04B 35/447 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C01B, A61F, A61L, C04B

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, BIOSIS, CA

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 21.06.2010

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	4-11, 13 y 14	SÍ
	Reivindicaciones	1-3, 12, 15 y 16	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	4-11, 13 y 14	SÍ
	Reivindicaciones	1-3, 12, 15 y 16	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial**. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión:

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

1. Documentos considerados:

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	JP 5306108 A	19-11-1993
D02	US 2003003160 A1	02-01-2003
D03	WO 9709286 A1	13-03-1997
D04	CAMIRE, C L et al.: "Material Characterization and in vivo Behavior of Silicon Substituted Alpha-Tricalcium Phosphate Cement.", Journal of Biomedical Materials Research, vol. 76B, (2), pp.: 424-431, ISSN 1552-4973, todo el documento, en particular, resumen y pág. 425 -Experimental: Materials Preparation-.	2006

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La solicitud reivindica un procedimiento para la obtención de fosfato tricálcico estabilizado con elementos alfégenos. Esto es, elementos (como el silicio, boro, aluminio o titanio) que favorecen el desplazamiento del equilibrio entre la forma alfa y la forma beta del mismo. El procedimiento incluye molienda mecánica de una o varias fuentes de calcio y fósforo y la aplicación de un tratamiento térmico hasta una temperatura máxima de 1100°C- 1400°C.

La solicitud reivindica, así mismo, el producto obtenido mediante este procedimiento.

D01 describe un procedimiento para obtener la forma beta de fosfato tricálcico, mediante molienda mecánica y tratamiento térmico, utilizando como agente estabilizador, titanio.

D02-D04 muestran distintos procedimientos para obtener fosfato tricálcico estabilizado con la adición de silicio.

Si bien, mediante el procedimiento descrito en D01 se llega a obtener mayoritariamente la forma beta de fosfato tricálcico y en el procedimiento reivindicado en la solicitud, según lo que se argumenta en la descripción, el producto obtenido es la forma alfa, también es cierto que esto no tiene reflejo en las reivindicaciones 1-3, 12, 15 y 16, pues en ningún momento se enfatiza este hecho.

Por otro lado, aunque el procedimiento reivindicado en la solicitud no es el mismo que cualquiera de los descritos en D02-D04 para la obtención de fosfato tricálcico, no existen datos que hagan suponer que el producto obtenido mediante el procedimiento de la solicitud y los productos obtenidos empleando los procedimientos descritos en D02-D04, no sean el mismo fosfato tricálcico estabilizado mediante silicio.

Por todo ello, se considera que las reivindicaciones 1-3, 12, 15 y 16 no cumplen los requisitos de novedad y actividad inventiva, mientras que las restantes (reiv. 4-11, 13 y 14) sí que cumplen ambos requisitos.