

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 426 488**

51 Int. Cl.:

A61L 27/32 (2006.01)

A61L 27/50 (2006.01)

A61L 27/56 (2006.01)

A61L 27/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.06.2010 E 10737354 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.06.2013 EP 2453934**

54 Título: **Procedimiento de activación de la superficie de biomateriales porosos**

30 Prioridad:

18.06.2009 FR 0954110

18.06.2009 US 487101

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

23.10.2013

73 Titular/es:

**TEKNIMED (33.3%)
8 rue du Corps Franc Pommies
65502 Vic-en-Bigorre Cedex, FR;
INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE
TOULOUSE (33.3%) y
UNIVERSITÉ PAUL SABATIER (33.3%)**

72 Inventor/es:

**AUTEFAGE, HÉLÈNE;
CAZALBOU, SOPHIE;
COMBES, CHRISTÈLE y
REY, CHRISTIAN**

74 Agente/Representante:

ÁLVAREZ LÓPEZ, Fernando

ES 2 426 488 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de activación de la superficie de biomateriales porosos.

5 La presente invención se refiere al campo de los implantes y prótesis ortopédicas de cerámica. Más concretamente, se refiere a un procedimiento de activación de la superficie de biomateriales porosos mediante revestimiento con una capa de nanocristales de apatito con el fin de aumentar la reactividad de la superficie.

10 Las cerámicas fosfocálcicas aparecieron en el campo de los materiales hace aproximadamente veinte años. Permiten disminuir los inconvenientes de los injertos biológicos (autoinjertos, aloinjertos y xenoinjertos) favoreciendo al mismo tiempo la reconstrucción ósea. Así, los autoinjertos requieren una segunda intervención quirúrgica en el emplazamiento donante; por lo general solamente permiten rellenar volúmenes pequeños dado el poco tejido que suele estar disponible, a veces este tejido es de mala calidad, sobre todo en pacientes de cierta edad, y están asociados a determinada morbilidad. El aloinjerto conlleva una recolonización frecuentemente pequeña [Enneking W.F., Journal of bone and joint surgery, 73-A, 8, 1123-1141, 1991] y riesgos de infección que pueden ser responsables de las osteolisis masivas que aparecen en algunos pacientes.

15 Por este motivo, los cirujanos (ortopédicos, maxilofaciales, plásticos o dentales) suelen utilizar las cerámicas sintéticas cuando se necesita rellenar una pérdida ósea.

20 El hidroxiapatito (HA) y el fosfato tricálcico (TCP) son los fosfatos de calcio más utilizados en el campo de los biomateriales [Li Shihong, De Groot Klaas, Layrolle Pierre, Van Blitterswijk Clamens, De Wijn Joost; Porous ceramic body, US 6.479.418 (2002)], aunque ambas fases tienen propiedades físico-químicas muy diferentes.

25 El hidroxiapatito se puede considerar como uno de los fosfatos de calcio menos solubles, y constituye un biomaterial no resorbible. Por este motivo, el hidroxiapatito se utiliza habitualmente para el revestimiento de las prótesis metálicas con el fin de aumentar la biointegración de material. Por su parte, el TCP, que es mucho más soluble, conforma un material resorbible que será sustituido progresivamente por hueso. Sin embargo, su velocidad de resorción no se puede modular ("Bioceramics and their clinical applications", Ed. T. Kokubo, CRC Press, 2008).

30 Las cerámicas bifásicas compuestas por una mezcla variable de HA y TCP permiten modular la capacidad de biorresorción en función de la cantidad de TCP utilizada, y por este motivo tienen mucho éxito en el campo de los biomateriales ("Bioceramics and their clinical applications", Ed. T. Kokubo, CRC Press, 2008).

35 Todas las cerámicas se obtienen por sinterización a temperatura elevada, y la actividad biológica de este tipo de materiales está limitada por la escasa superficie específica de los materiales sinterizados y su débil interacción con las diferentes proteínas y factores de crecimiento responsables de la adherencia, la proliferación y la expresión celular. Por otra parte, son muy diferentes del mineral óseo y se comportan de forma distinta desde el punto de vista tanto químico como biológico.

40 La mayoría de los procedimientos de depósito de apatitos nanocristalinos conocidos se basan en disoluciones sobresaturadas de fosfato de calcio difíciles de utilizar industrialmente con duraciones de tratamiento a veces de varios días. El procedimiento más utilizado consiste en usar el «fluido corporal simulado» (SBF) (Kokubo T, Takadama H (2006), How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity, Biomaterials 27, 2907-2915). Se han desarrollado otros procedimientos con principios similares utilizando disoluciones más concentradas (Layrolle P, Stigter M, De Groot K, Liu Y, Method for applying a bioactive coating on a medical device, US 6.994.883 (2006), y Layrolle P, de Groot K, de Bruijn J, van Blitterswijk C, Huijin Y, Method for coating medical implants, documento US 6.733.503 (2004) continuación del documento US 6.207.218 (2001); y análogamente Li P, Wen H B, Hippensteel E, Biological agent-containing ceramic coating and method, documento US, 7.087.086 (2006) y Li P, Bioactive ceramic coating and method, documento US 6.569.589 (2003)). Estos procedimientos han sido por tanto muy poco utilizados para revestir el interior de los poros de un material cerámico.

45 El documento EP 0 437 975 A1 describe un procedimiento que permite revestir un sustrato con una película de hidroxiapatito. El procedimiento comprende una etapa de preparación de una dispersión coloidal floculada de hidroxiapatito, una etapa de revestimiento del sustrato mediante la aplicación de la dispersión más una etapa de secado en dos tiempos: en primer lugar, a una temperatura inferior a 40°C y después a una temperatura comprendida entre 100 y 200°C. Este procedimiento posibilita el revestimiento de un implante de forma compleja (especialmente los implantes porosos) y la obtención de una excelente adhesión del revestimiento sin la etapa de calcinación para evitar una degradación del implante debida a la temperatura. Este procedimiento es posible gracias a la dispersión coloidal floculada de hidroxiapatito. El hidroxiapatito se obtiene preferentemente mediante un procedimiento en disolución para obtener las partículas más finas y preferentemente no se seca para evitar la formación de aglomerados.

50 Por tanto, no existen procedimientos simples y rápidos que permitan una activación biológica de la superficie de cerámicas porosas sintetizadas. Las patentes anteriormente citadas no han tenido hasta este momento aplicación industrial. Además, los apatitos obtenidos con estos procedimientos están por lo general maduros y tienen una

reactividad inferior a los precipitados y depositados por el presente procedimiento, que permite la posibilidad de seleccionar el tiempo de maduración.

5 La presente invención está destinada a resolver los inconvenientes de la técnica anterior proponiendo un procedimiento que permite depositar, a baja temperatura, en biomateriales que tengan una porosidad interconectada, una fase mineral bioactiva de grosor variable, resorbible, constituida por nanocristales de fosfato de calcio análogos al mineral óseo. El procedimiento según la invención conlleva una impregnación del material poroso mediante una suspensión de fosfato de calcio bioactivo seguida por un secado en condiciones definidas.

10 Este procedimiento permite depositar nanocristales muy reactivos que aumentan considerablemente la reactividad de la superficie de los materiales cerámicos y permiten la adsorción de sustancias bioactivas capaces de orientar la actividad celular. La ventaja principal de este procedimiento es activar la superficie de materiales sinterizados de poca superficie específica y poco reactivos.

15 El procedimiento según la invención se basa en las propiedades superficiales de los nanocristales y de su capacidad de fijación sobre determinadas superficies, especialmente las de cerámicas fosfocálcicas porosas. Este procedimiento es simple y eficaz, y no conlleva ninguna manipulación delicada o costosa. Como se explica a continuación, los geles se pueden obtener mediante el procedimiento de doble descomposición utilizado habitualmente en la industria. Su composición y su viscosidad se pueden conocer y controlar perfectamente. De este modo, las propiedades del gel (y en consecuencia su depósito) están perfectamente adaptadas a las propiedades del material a tratar. El procedimiento suministra un depósito de apatitos nanocristalinos que permiten una activación biológica de manera intrínseca o mediante el uso de iones minerales bioactivos, o bien de moléculas activas, o de ambos.

25 La invención propone, por tanto, un procedimiento que permite una activación de la superficie de los materiales cerámicos mediante un depósito de fosfato de calcio de tipo apatito análogo al mineral óseo. Este depósito, con una elevada superficie específica (hasta 300 m²/g) permite aumentar la reactividad superficial del material y facilita la adsorción de sustancias bioactivas capaces de orientar la actividad celular. Este procedimiento de tratamiento superficial permite revestir la totalidad de la superficie del material cerámico, incluyendo especialmente las superficies internas de los poros interconectados del material.

35 La fase mineral depositada está constituida por nanocristales análogos a los que constituyen el mineral óseo. Estos se caracterizan por la presencia, en su superficie, de una capa hidratada lábil muy reactiva, compuesta de iones que se pueden movilizar de forma rápida y sencilla [Cazalbou S., «Echanges cationiques impliquant des apatites nanocristallines analogues au minéral osseux», Tesis INPT, Toulouse 2000]. Estos iones pueden participar en numerosas reacciones de intercambio iónico, y algunos pueden tener eventualmente actividad biológica. Esta capa hidratada facilita, además, una mejor interacción con las moléculas orgánicas del ser vivo (proteínas, factores de crecimiento,...) [Midy V, Rey C, Bres E, Dard M, Basic fibroblast growth factor adsorption and release of calcium phosphate, Journal of Biomed. and Mat. Res., 405-411, 1998]. Estos ambientes lábiles parecen conferir a los cristales del hueso toda su reactividad superficial. Se les encuentra en grandes cantidades en el mineral óseo, y aún en mayor cantidad en los huesos jóvenes que en los huesos más maduros [Boivin G, Deloffre P, Perrat B, Panczer G, Boudeulle M, Mauras Y, Allain P, Tsouderos Y Meunier P J, Strontium distribution and interactions with bone mineral in monkey iliac bone after strontium salt (S 12911) administration, J. Bone and Min. Res. 11, 9, 1302-1311, 1996]. Además, la similitud entre la fase depositada y el mineral óseo en lo que se refiere tanto a la composición química como a la morfología cristalina es susceptible de favorecer una biointegración perfecta.

50 Otra ventaja del procedimiento reside en la posibilidad de incorporar al apatito tanto en el momento de su formación como después de su formación de iones minerales bioactivos tales como iones estroncio, magnesio, manganeso, vanadato... que pueden seguir siendo movilizables y activos cuando se incorporan a la capa hidratada.

Análogamente, la asociación de proteínas o de factores de crecimiento que potencian la osteogénesis o la vascularización se puede llevar a cabo durante el procedimiento de revestimiento o bien tras el depósito de la capa nanocristalina de apatito. La asociación de cerámicas fosfocálcica con factores de crecimiento tales como las proteínas morfogenéticas del hueso (*Bone Morphogenetic Proteins*, BMP), por ejemplo, transmite al material propiedades osteoinductoras [Yuan H, Zou P, Yang Z, Ahang X, De Bruijn J D, De Groot K, Bone morphogenetic protein and ceramic-induced osteogenesis, J. Mater. Sci. Mater. Med.; 9, 12, 717-21;1998] y facilita de este modo la cicatrización ósea. El revestimiento de apatito nanocristalino permite mejorar las propiedades de adsorción del material con respecto a dichas proteínas.

60 La asociación de sustancias bioactivas a los materiales cerámicos resulta posible tras el depósito de la capa nanocristalina de apatito (iones, proteínas, factores de crecimiento, hormonas de crecimiento...). Es por tanto posible actuar sobre el componente biológico del material. En este sentido, el procedimiento se puede describir como una activación de la superficie de los materiales cerámicos.

65 Por tanto, se pretende que las propiedades aumentadas del revestimiento de apatito nanocristalino con respecto a la adsorción de proteínas y los intercambios iónicos puedan facilitar las asociaciones directamente en el punto

quirúrgico con los factores circulantes biológicamente activos.

Más concretamente, la presente invención se refiere a un procedimiento de activación de la superficie de biomateriales porosos caracterizado porque comprende las siguientes etapas:

- 5 a) Preparar un fosfato de calcio de tipo apatito nanocristalino análogo al mineral óseo mezclando una disolución de sal de calcio con una disolución de sal de fosfato en una relación Ca/P comprendida entre 1,3 y 2, a una temperatura comprendida entre 0 y 60°C,
- 10 b) Suspender la mezcla obtenida en la etapa a) en una disolución acuosa con el fin de obtener una pasta homogénea, fluida que contenga del 80 al 98 % de agua,
- c) Poner en contacto un biomaterial poroso con la suspensión obtenida en la etapa b),
- 15 d) Secar el biomaterial poroso a una temperatura inferior a 100 °C.

La fase nanocristalina de fosfato de calcio análoga al mineral óseo se obtiene por doble descomposición entre una disolución de una sal de calcio (que podría contener eventualmente otros iones, concretamente iones biológicamente activos) y una disolución de sal de fosfato y una sal de carbonato (que podría contener eventualmente otros iones, concretamente iones biológicamente activos). La ventaja principal de este procedimiento de síntesis se encuentra en el hecho de que el pH se mantiene constante, ya que la disolución de síntesis está tamponada por un exceso de sal de fosfato. Además, este procedimiento evita la aparición de una fase extraña durante la precipitación, y limita los fenómenos de disolución-precipitación. Tiene una reproducibilidad excelente. El precipitado obtenido se lava y se recupera por filtración.

El fosfato de calcio de tipo apatito nanocristalino obtenido de esta forma tiene una reactividad superficial controlada. Presente, efectivamente, una capa hidratada superficial que contiene iones móviles cuya extensión y composición se controlan por la maduración de los nanocristales en la disolución de precipitación y/o la presencia de aditivos (Mg^{2+} , CO_3^{2-} , $P_2O_7^{4-}$) en dicha disolución de precipitación.

En una realización concreta del procedimiento objeto de la invención, la mezcla obtenida durante la etapa a) se somete a una etapa de tratamiento de modificación superficial de los nanocristales durante la que se pone en contacto con al menos un compuesto que tiene una actividad biológica y/o modificando las propiedades superficiales de los nanocristales, seleccionándose dicho compuesto entre iones minerales o moléculas orgánicas o una mezcla de ambos. El tratamiento superficial puede análogamente llevarse a cabo durante la etapa d), junto con la etapa a) o de forma exclusiva.

Durante esta etapa de tratamiento superficial, el precipitado de nanocristales podrá, de este modo, tener propiedades superficiales definidas por la adición bien de iones minerales o bien de moléculas orgánicas o una mezcla de ambos.

El precipitado húmedo se puede someter, de este modo, a un intercambio iónico por contacto durante unos minutos con una disolución acuosa que contiene iones que tienen actividad biológica y/o modificando las propiedades superficiales de los nanocristales –como, por ejemplo, los iones Mg^{2+} , Sr^{2+} , Mn^{2+} , SiO_4^{4-} , VO_4^{3-} o una mezcla de los anteriores. El precipitado modificado obtenido se lava y se recupera por filtración.

Es igualmente posible, durante la etapa a), asociar el precipitado con moléculas biológicamente activas y/o modificar las propiedades superficiales de los nanocristales por adsorción de estas últimas sobre la superficie mineral muy reactiva, como por ejemplo factores de crecimiento, antibióticos, o una mezcla de los anteriores.

Durante la etapa b), el precipitado se suspende una disolución acuosa con el fin de obtener una pasta fluida que contenga del 80 al 98 % de agua, La densidad de la suspensión determina directamente el espesor del depósito.

Preferentemente, la mezcla obtenida durante la etapa a) tiene una relación Ca/P comprendida entre 1,33 y 1,67 lo que mejora las propiedades de biointegración así como la reactividad del material poroso

En una realización concreta de la invención, antes de ponerse en contacto con el gel de apatito nanocristalino, el biomaterial poroso se puede limpiar de todas las posibles impurezas y contaminantes que pudieran afectar negativamente la mojabilidad de la superficie porosa por la suspensión acuosa, por ejemplo mediante calcinación/calentamiento previo durante algunos minutos (de 3 a 5 minutos) al aire, a una temperatura cercana a 900°C, o incluso mediante un tratamiento de ozonización con UV, o cualquier otro tratamiento que permita la eliminación de contaminantes orgánicos de la superficie.

El material poroso a tratar se pone seguidamente en contacto con la suspensión. Esta etapa se puede llevar a cabo por inmersión del biomaterial en la disolución obtenida en la etapa b) o incluso pulverizando o aplicando la disolución obtenida en la etapa b) sobre el biomaterial La penetración del depósito se puede facilitar mediante un vacío parcial,

normalmente de 10 a 30 mm de Hg; el aire ocluido en los poros se elimina y se sustituye por la suspensión. Este procedimiento se puede repetir.

5 A continuación, el material se seca a una temperatura que no supere 100°C y preferiblemente a baja temperatura en una estufa ventilada o con vacío parcial.

10 Durante esta fase de secado, los nanocristales se depositan sobre las paredes de los poros y forman un revestimiento. Es posible que aparezcan grietas en el revestimiento. Para obtener un depósito más regular y más adherente, es posible incluir en el procedimiento una etapa que permita engrosar el gel mediante deshidratación. Esta deshidratación parcial y progresiva se puede llevar a cabo de varias formas, por ejemplo, controlando la presión parcial de vapor de agua en la fase gaseosa en contacto con el material, o bien utilizando un disolvente por ejemplo etanol. El material, tras la impregnación, se coloca por ejemplo en un recinto cerrado en presencia de vapor de etanol a una temperatura cercana a 60°C durante al menos 24 horas, después se recupera y se seca como se ha indicado anteriormente. Esta etapa afecta la maduración de los nanocristales, así como a la morfología del revestimiento, que aparece más homogéneo con menos grietas.

15 Las superficies así preparadas pueden adsorber más principios activos, concretamente factores de crecimiento, antibióticos, medicamentos que permitan luchar contra enfermedades óseas (osteoporosis, por ejemplo). La adsorción se lleva a cabo por contacto entre el material cerámico «activado» y la disolución que contiene el principio activo. Este procedimiento de asociación se puede superponer o sustituir al tratamiento superficial de los nanocristales realizado en la etapa a).

20 Las etapas b), c), y d) se pueden repetir si es necesario. Las propiedades del gel y/o el número de tratamientos permiten obtener espesores de los depósitos variables, de forma típica del orden de 1 a 10 μ m.

25 Una repetición modulada, es decir, realizada modificando el tratamiento superficial, también permite obtener depósitos sucesivos con propiedades biológicas complementarias, por ejemplo un depósito que facilite el reclutamiento y el crecimiento de los osteoblastos que construyen el hueso y que contiene iones estroncio, seguido de un depósito que favorece la vascularización y que contiene el factor de crecimiento VEGF. Estos depósitos sucesivos de «cáscara de cebolla» permiten controlar y favorecer los procesos de reparación tisular (vascularización del implante, después su recolonización por el tejido óseo). Los espesores están limitados, sin embargo, por la necesidad de no alterar significativamente o colmatar los poros del material.

30 Un procedimiento según la invención implica, por tanto, la formación de una capa de apatito nanocristalino por impregnación de un gel. La ventaja principal de este procedimiento es aportar una activación biológica a materiales sinterizados a base de fosfato de calcio de forma sencilla y con un coste bajo.

35 Ventajosamente y según la invención, es posible de variar el espesor del depósito mediante el control de la viscosidad del gel utilizado durante el tratamiento.

40 Ventajosamente y según la invención, la superficie específica del material tratado, y su reactividad superficial, pueden aumentarse considerablemente gracias a un control de las propiedades fisicoquímicas de los cristales que constituyen el gel (concretamente, la maduración o las modificaciones superficiales).

45 Ventajosamente y según la invención, se pueden modificar tanto la morfología del depósito como su estado superficial.

50 Ventajosamente y según la invención el modo de secado permite mejorar la adherencia entre el revestimiento y el sustrato.

El procedimiento así descrito según la presente invención se distingue del descrito en la patente francesa FR 2 842 750, "Procédé permettant de recouvrir a basse température des surfaces par des phosphates apatitiques nanocristallins, a partir d'une suspension aqueuse de phosphate amorphe", en varios puntos:

55 i. El procedimiento según la invención ahorra el paso por un intermedio, el fosfato amorfo, para producir un revestimiento nanocristalino. Esta simplicidad permite evitar los problemas de control de la germinación y del crecimiento cristalino de la fase amorfa indicados en la primera patente.

60 ii. El procedimiento según la invención ofrece, además, la posibilidad de variar en un rango amplio la relación Ca/P de la fase nanocristalina y en consecuencia, sus propiedades biológicas, especialmente su capacidad de resorberse más o menos rápidamente en el medio biológico. Esta variación se puede obtener de forma directa jugando con las condiciones de síntesis del apatito, concretamente el pH, el orden de adición de reactivos, la temperatura, la presencia de iones extraños en la disolución de síntesis (por ejemplo carbonato). Los apatitos obtenidos directamente pueden presentar por tanto una amplia gama de relaciones Ca/P (1,30 a 2) vinculada a la proporción de iones HPO_4^{2-} y/o carbonato incorporados a la fase nanocristalina en el momento de su síntesis.

65

iii. Otra ventaja del procedimiento de revestimiento según la invención es la posibilidad de controlar directamente la capa hidratada del apatito sintetizado para favorecer la adherencia de los cristales al sustrato, y de controlar sus propiedades superficiales y la respuesta celular. Estos controles se llevan a cabo variando el tiempo de maduración (tiempo de envejecimiento de los cristales en disolución) y la presencia de estabilizantes de esta capa hidratada, especialmente los iones minerales como los iones carbonato, pirofosfato, Mg^{2+} o incluso moléculas orgánicas. Estos adyuvantes pueden estar asociados a las disoluciones de síntesis o incorporarse a la capa hidratada tras la formación del apatito nanocristalino.

iv Otra ventaja del procedimiento según la invención es disponer de una población homogénea de nanocristales, que no se puede obtener mediante el procedimiento de hidrólisis según el documento FR 284 2750, relativamente lento, de la fase amorfa que conduce, necesariamente, a una mezcla de cristales de diferente maduración.

Las propiedades y ventajas del procedimiento objeto de la presente invención serán más evidentes a la luz de los siguientes ejemplos. Estos se aportan a título meramente ilustrativo y no deben interpretarse como una limitación, cualquiera que sea, al alcance del procedimiento que abarca concretamente los medios equivalentes a los medios descritos en la presente solicitud.

Las figuras siguientes también sirven para ilustrar la presente invención:

- Figura 1: Micrografía de una capa de apatito nanocristalino depositado en el interior de los poros de un material cerámico bifásico HA-TCP según la invención.

- Figura 2: Espectro infrarrojo de los nanocristales depositados durante el procedimiento del ejemplo 1 según la invención.

- Figura 3: Diagrama de difracción de rayos X de los nanocristales depositados durante el procedimiento del ejemplo 1 según la invención. (Radiación $CoK\alpha$).

EJEMPLOS

Ejemplo 1: depósito de apatito carbonatado nanocristalino cercano a los apatitos biológicos

Etapa 1: síntesis del gel de apatito carbonatado

Disolución A: 48,8 g de $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ + 18 g de $NaHCO_3$ en 400 ml de agua desionizada

Disolución B: 6,5 g de $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ en 150 ml de agua desionizada

Tras la disolución completa de las sales en las disoluciones A y B, verter la disolución B en la disolución A. Después filtrar y aclarar completamente con agua desionizada.

Etapa 2: Poner 50 g de gel en 200 ml de agua para obtener una suspensión homogénea. Esta suspensión será la disolución C.

Etapa 3: un material cerámico poroso de fosfato de calcio (cubo de 30 mm^3 70% de porosidad interconectada) se sumergió en la disolución C colocado en un matraz a vacío.

Se hace el vacío durante aproximadamente diez minutos agitando la disolución para eliminar las burbujas formadas. A continuación, se restablece rápidamente la presión atmosférica para que el gel penetre en el interior de los poros del material cerámico. Esta etapa se repite varias veces si es necesario.

Etapa 4: secado del material cerámico

El material cerámico se coloca en un recinto cerrado en presencia de vapor de etanol a 60°C durante 24 horas para eliminar una parte del agua contenida en el gel y limitar de este modo la aparición de grietas durante el secado.

El material cerámico así tratado se seca en un recinto adecuado a 4°C durante 48 horas.

La figura 1 representa el depósito obtenido y las figuras siguientes sus principales propiedades fisicoquímicas. El análisis químico notifica una relación atómica Ca/P de 1,50 y un contenido en carbonato de 1,50 % en masa. Estos datos caracterizan a un apatito no estequiométrico fuertemente lagunar.

En la figura 2 destacan las bandas de fosfato características de un apatito fosfocálcico ($\nu_1 PO_4$: 961 cm^{-1} , $\nu_2 PO_4$: 460 cm^{-1} , $\nu_3 PO_4$: 1030 y 1095 cm^{-1} , $\nu_4 PO_4$: 560 y 600 cm^{-1}). Las bandas carbonatadas ($\nu_2 CO_3$: 860 - 890 cm^{-1} y $\nu_3 CO_3$: 1400 - 1550 cm^{-1}) muestran una sustitución a la vez de los iones fosfato (carbonatos de tipo B) y los iones OH^- (carbonatos de tipo A). Se observa también la presencia de iones OH en proporción baja (hombros cercanos a 3570

y 630 cm^{-1}).

En la figura 3 se observa un diagrama característico de un apatito. No se detecta ninguna fase extraña cristalizada. Las dimensiones cristalinas deducidas de estos diagramas mediante la fórmula de Scherrer (longitud: $24,5 \pm 0,5 \text{ nm}$ y anchura-espesor: $10,2 \pm 0,3 \text{ nm}$) confirman la naturaleza nanocristalina de los cristales.

Ejemplo 2: depósito de apatito no carbonatado nanocristalino muy rico en iones HPO_4^{2-} , con una relación Ca/P cercana a 1,35 y con una parte importante de los iones minerales en la capa hidratada

10 Etapa 1: síntesis del apatito

Disolución A: 40 g de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ en 500 ml de agua desionizada

15 Disolución B: 17,4 g de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en 250 ml de agua desionizada

Tras la disolución completa de las sales en las disoluciones A y B, verter la disolución B en la disolución A. Después filtrar y aclarar completamente con agua desionizada.

20 Etapa 2: Poner 50 g de gel en 200 ml de agua para obtener una suspensión homogénea. Esta suspensión será la disolución C.

Etapa 3: un material cerámico poroso de fosfato de calcio (cubo de 30 mm^3 , 70% de porosidad interconectada) se sumergió en la disolución C colocado en un matraz a vacío.

25 Se hace el vacío durante aproximadamente diez minutos agitando la disolución para eliminar las burbujas formadas. A continuación, se restablece rápidamente la presión atmosférica para que el gel penetre en el interior de los poros del material cerámico. Esta etapa se repite varias veces si es necesario.

30 Etapa 4: secado del material cerámico

EL material cerámico se seca al aire, después a vacío, a temperatura ambiente.

35 La relación atómica Ca/P para este depósito se acerca a 1,35 y su contenido en iones HPO_4^{2-} se acerca al 29%. El tamaño de los cristales es : longitud: 17 nm, anchura/espesor: 5 nm.

Ejemplo 3: depósito de apatito carbonatado nanocristalino con una relación Ca/P cercana a 1,6

Etapa 1: síntesis del gel de apatito carbonatado.

40 Disolución A: 48.8 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ + 18 g NaHCO_3 en 400 ml de agua desionizada

Disolución B: 6.5 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 150 ml de agua desionizada

45 Tras la disolución completa de las sales en las disoluciones A y B, verter la disolución B en la disolución A..

La suspensión se deja madurar durante varios meses. Después filtrar y aclarar completamente con agua desionizada.

50 El resto de etapas son análogas a las del ejemplo 1.

La relación Ca/P para estos depósitos (maduración de 2 meses) es de 1,58; la relación C/P: 0,14. Longitud de los cristales: 25 nm.

Ejemplo 4: depósito de apatito nanocristalino dopado con estroncio

55 Etapa 1: síntesis del gel de apatito carbonatado

Disolución A: 40 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ + 20 g NaHCO_3 en 500 ml de agua desionizada

60 Disolución B: 17.7 g CaNO_3 en 250 ml de agua desionizada

Tras la disolución completa de las sales en las disoluciones A y B, verter la disolución B en la disolución A. Después filtrar y aclarar completamente con agua desionizada.

65 Etapa 4: poner 100 g de gel en 200 ml de disolución de nitrato de estroncio (0,5 M) durante 10 minutos con agitación, d Después filtrar y aclarar completamente con agua desionizada.

Etapa 3: poner 100 g de gel en 400 ml de agua para obtener una suspensión homogénea. Esta suspensión será la disolución C.

5 Etapa 4: un material cerámico poroso de fosfato de calcio (cubo de 1 cm³, 80% de porosidad interconectada) se sumergió en la disolución C colocado en un matraz a vacío.

10 Se hace el vacío durante aproximadamente diez minutos agitando la disolución para eliminar las burbujas formadas. A continuación, se restablece rápidamente la presión atmosférica para que el gel penetre en el interior de los poros del material cerámico. Esta etapa se repite varias veces si es necesario.

Etapa 5: el material cerámico así tratado se seca en estufa a 50°C durante 48 horas.

15 La tasa de sustitución del calcio por el estroncio puede variar de 0 a 20 % en función de la concentración de las disoluciones de intercambio y del estado de maduración del apatito.

Ejemplo 5: depósito de apatito carbonatado nanocristalino asociado a un factor de crecimiento

20 Las etapas 1-5 del ejemplo 1 no se alteran. A continuación, el material cerámico revestido se sumerge en una disolución de factor de crecimiento rhBMP-2. El factor se fija entonces sobre el material cerámico activado en una proporción considerablemente mayor que sobre el material cerámico sin activar (517 µg/g en lugar de 397 µg/g).

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de activación de la superficie de biomateriales porosos caracterizado porque comprende las etapas siguientes:
- 5 a) Preparar un fosfato de calcio de tipo apatito nanocristalino análogo al mineral óseo mezclando una disolución de sal de calcio con una disolución de sal de fosfato en una relación Ca/P comprendida entre 1,3 y 2, a una temperatura comprendida entre 0 y 60°C,
- 10 b) Suspender la mezcla obtenida en la etapa a) en una disolución acuosa con el fin de obtener una pasta homogénea, fluida que contenga del 80 al 98 % de agua,
- c) Poner en contacto un biomaterial poroso con la suspensión obtenida en la etapa b),
- 15 d) Secar el biomaterial poroso a una temperatura inferior a 100 °C.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la mezcla obtenida durante la etapa a) se somete a una etapa de tratamiento de modificación superficial de los nanocristales mediante la puesta en contacto con al menos un compuesto que tiene una actividad biológica y/o modificando las propiedades superficiales de los nanocristales, seleccionándose dicho compuesto entre iones minerales o moléculas orgánicas o una mezcla de ambos.
- 20 3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque el biomaterial obtenido durante la etapa d) se somete a un tratamiento superficial mediante la puesta en contacto con al menos un compuesto que tiene una actividad biológica y/o modificando las propiedades superficiales de los nanocristales, seleccionándose dicho compuesto entre iones minerales o moléculas orgánicas o una mezcla de ambos.
- 25 4. Procedimiento según la reivindicación 2 o 3, caracterizado porque el tratamiento de la superficie se lleva a cabo mediante intercambio iónico con una disolución acuosa que contiene al menos un ion seleccionado entre: Mg^{2+} , Sr^{2+} , Mn^{2+} , SiO_4^{4-} , VO_4^{3-} o una mezcla de los anteriores.
- 30 5. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, caracterizado porque el tratamiento superficial se lleva a cabo por adsorción de al menos una molécula orgánica seleccionada entre factores de crecimiento, antibióticos, o una mezcla de los anteriores.
- 35 6. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque la mezcla obtenida en la etapa a) presenta una relación Ca/P comprendida entre 1,33 y 1,67.
- 40 7. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque anteriormente a la etapa c), el biomaterial se limpia de todas las impurezas orgánicas que pudieran afectar negativamente la mojabilidad por la suspensión acuosa calentamiento previo al aire a una temperatura cercana a 900°C durante 3 a 5 minutos, o mediante un tratamiento de ozonización.
- 45 8. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque la etapa c) se lleva a cabo por inmersión del biomaterial en la disolución obtenida en la etapa b) o incluso mediante pulverización o aplicación de la disolución obtenida en la etapa b) sobre el biomaterial.
9. Procedimiento según la reivindicación 8, caracterizado porque la etapa c) se lleva a cabo bajo un vacío parcial con una presión comprendida entre 10 y 30 mm de Hg.
- 50 10. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado porque, anteriormente a la etapa d) el biomaterial obtenido en la etapa c) se deshidrata de una forma parcial y progresiva.
- 55 11. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado porque las etapas b), c) y d) se repiten.
12. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizado porque el biomaterial es una cerámica fosfocálcica.

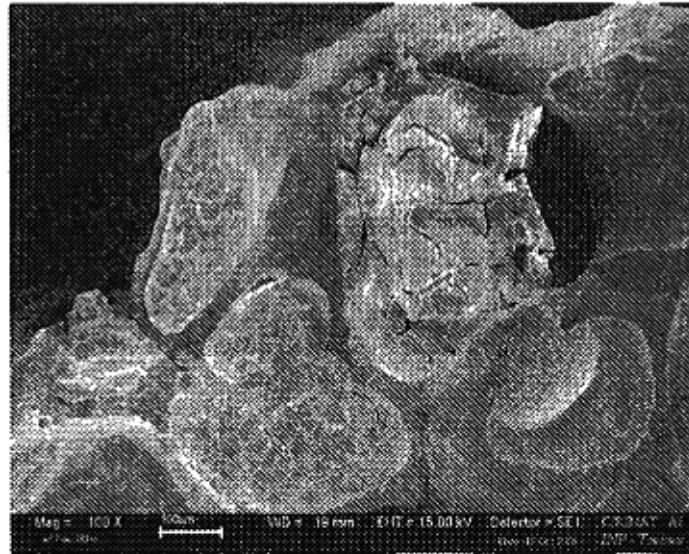


FIGURA 1

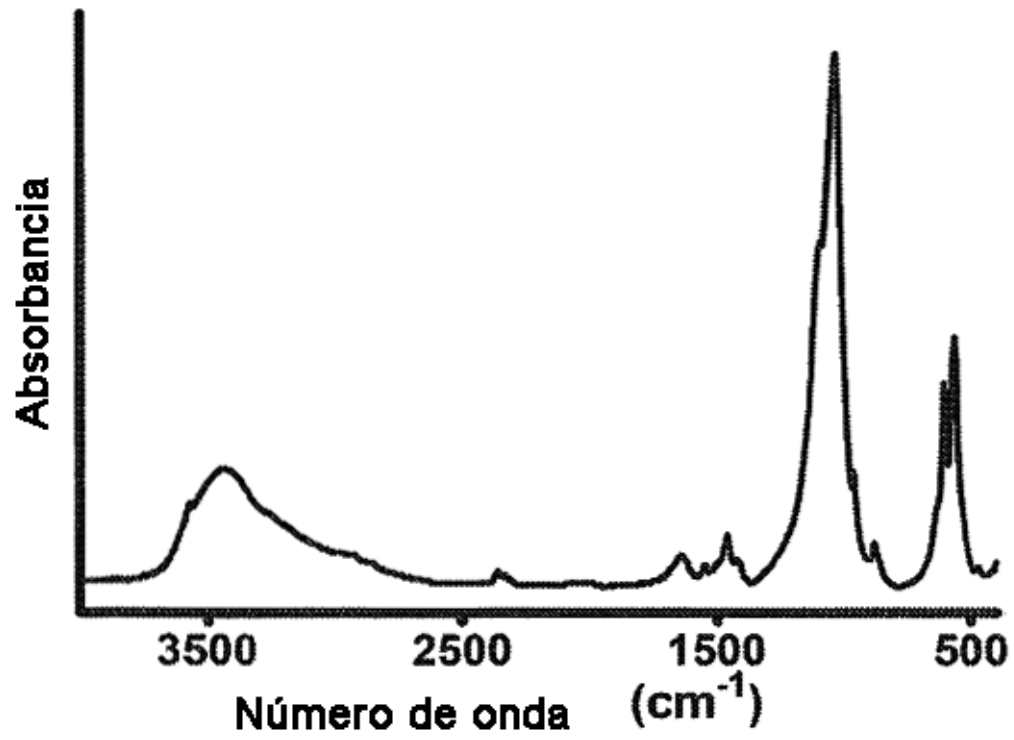


FIGURA 2

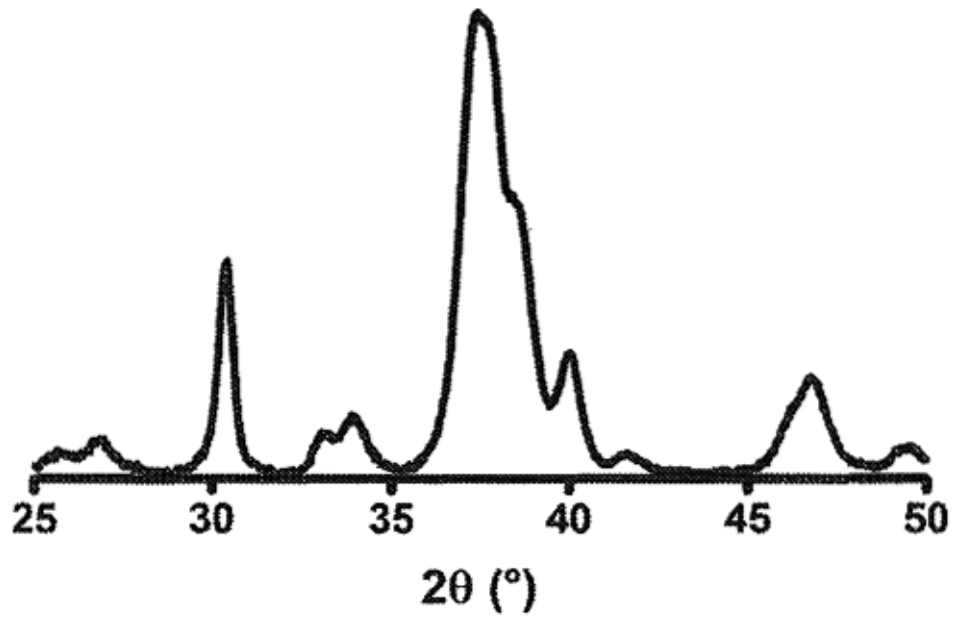


FIGURA 3