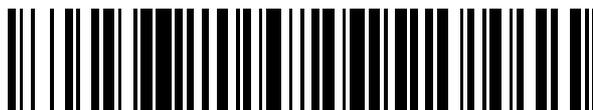


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 583 130**

51 Int. Cl.:

**B82Y 30/00** (2011.01)

**C09D 1/00** (2006.01)

**C01B 25/32** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.06.2005 E 05752154 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.04.2016 EP 1781568**

54 Título: **Método de producción de recubrimientos de fosfato de calcio cristalino nanométrico sintético**

30 Prioridad:

**15.06.2004 SE 0401524**

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

**19.09.2016**

73 Titular/es:

**PROMIMIC AB (100.0%)  
STENA CENTER 1B  
412 92 GOTEORG, SE**

72 Inventor/es:

**KJELLIN, PER y  
ANDERSSON, MARTIN**

74 Agente/Representante:

**DEL VALLE VALIENTE, Sonia**

ES 2 583 130 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

Método de producción de recubrimientos de fosfato de calcio cristalino nanométrico sintético

- 5 La presente invención se refiere a un método de producción de un recubrimiento de fosfato de calcio cristalino nanométrico, en particular hidroxiapatita.

## Antecedentes de la invención

- 10 Existe un enorme número de biomateriales diferentes que pueden implantarse en el cuerpo. Estos pueden clasificarse según su actividad *in vivo* como materiales bioinertes, reabsorbibles o bioactivos. Los materiales bioinertes se consideran en cierto sentido objetos extraños cuando entran en contacto con tejido vivo. El cuerpo encapsula el objeto con tejido fino y por tanto fija mecánicamente el objeto dentro del cuerpo. Materiales bioinertes típicos son materiales cerámicos tales como óxido de aluminio y dióxido de zirconio y diferentes polímeros no biodegradables. Los materiales biorreabsorbibles tales como fosfato de tricalcio, sulfato de calcio y polímeros biodegradables se usan para reemplazar tejido dañado. Finalmente se disuelven y se reemplazan por tejido corporal. Los materiales bioactivos incluyen, por ejemplo, hidroxiapatita y algunos materiales de vidrio y vidrio-cerámica y se caracterizan por su capacidad para iniciar una respuesta biológica, que conduce a una unión química y biológica al tejido vivo.

- 20 La osteointegración, que significa la integración de un implante para reparar o reemplazar tejidos duros en un cuerpo y el tejido biológico circundante, es decir hueso, es decisiva para el éxito del procedimiento de implantación. Una osteointegración deficiente puede conducir al desprendimiento del implante. Hay varios métodos para lograr una buena osteointegración, por ejemplo a) diseño del implante, tal como la distancia entre las roscas en tornillos de implante dental (Wennerberg, A., *et al.*, "Design And Surface Characteristics Of 13 Commercially Available Oral Implant Systems", International Journal of Oral & Maxillofacial Implants, vol. 8, n.º 6, págs. 622-623 (1993); Wennerberg A, Albrektsson T, Lausmaa J. Torque and histomorphometric evaluation of c.p. titanium screws blasted with 25- and 75-microns-sized particles of A1203. J Biomed Mater Res 1996; 30: 251-260, y patente estadounidense n.º 4.330.891 concedida a Branemark, *et al.*), b) ajuste de la topografía de superficie del implante (Larsson *et al.*, "Implant element", documento US 6.689.170), c) selección de la química de superficie adecuada (Ellingsen *et al.*, "Process for treating a metallic surgical implant", documento US 5.571.188) (R.G.T. Geesink, Clin. Orthop. 261 (1990) 39-58; J.A. Jansen, *et al.*, Mater. Res., 25 (1991) 973-989; T.W. Bauer, *et al.*, Bone Join Surg., 73A (1991) 1439-1452; Rashmir-Raven AM, Richardson DC, Aberman HM, DeYoung DJ. The response of cancellous and cortical canine bone to hidroxyapatite-coated and uncoated titanium rods. J Appl Biomater 1995; 6: 237-242.), ya sea bioinerte, resorbible o bioactiva, y d) una combinación de dos o los tres de a) a c). La fuerza impulsora para estudiar la osteointegración y sus mecanismos es que los pacientes que reciben cirugía de implante a menudo tienen que experimentar un largo periodo de recuperación. Los implantes dentales de titanio, por ejemplo, normalmente requieren un tiempo de recuperación de tres a seis meses dependiendo del paciente y de la ubicación en la boca antes de que pueda aplicarse carga externa.

- 40 La hidroxiapatita, HA,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , es uno de los principales componentes minerales en cuerpos de animales y seres humanos, y proporciona dureza y resistencia a huesos y dientes. En el cuerpo, la HA existe como cristales diminutos con una estructura con forma de aguja (Lowenstam, H. A., y Weiner, S. On biomineralization, Oxford University Press, Nueva York, 1989.). Las agujas son de aproximadamente 1-2 nm de grosor, 2-4 nm de ancho y 20-40 nm de longitud. La HA se usa, por ejemplo, en dispositivos percutáneos, tratamiento periodontal, aumento de cresta alveolar, ortopedia, cirugía maxilofacial, otorrinolaringología y cirugía de columna vertebral. (Hench (1991) J. Am. Cer. Soc. 74:1487), pero se usa lo más ampliamente para aplicaciones de implante dental y ortopédico

- 50 Desgraciadamente, debido a la baja fiabilidad mecánica, especialmente en un entorno húmedo, la HA no puede usarse por sí misma para aplicaciones que portan carga pesada (Synthesis and characterization of nano-HA/PA66 composites Mie Huang, Jianqing Feng, Jianxin Wang, Xingdong Zhang, Yubao Li, Yonggang Yan Journal of Materials Science: Materials in Medicine 14 (2003) 655-660). En el cuerpo, la HA se incorpora en otro tejido "más blando", formando por tanto un material compuesto. Por ejemplo, el diente humano está compuesto por una mezcla de colágeno e HA, que hace que sea fuerte contra el agrietamiento. Actualmente, el uso más extendido de la hidroxiapatita sintética es como recubrimientos de implantes de titanio. Esto es para potenciar la unión entre el implante y el tejido circundante y para obtener la unión (osteointegración) lo mejor y más rápidamente posible. En esta aplicación, se utiliza la resistencia del titanio junto a la biocompatibilidad de la hidroxiapatita. Aun cuando la HA, según estudios, tiene un efecto bioactivo, los problemas con la aplicación de la HA han sido numerosos. Principalmente los problemas están relacionados con la adhesión de la película de HA sobre la superficie de dióxido de titanio. La escasa adhesión da como resultado el desprendimiento de la película de HA del implante, lo que a su vez puede conducir a un fracaso quirúrgico total. Además, se han experimentado problemas con la cristalinidad de la HA, lo que conduce a la disolución de la película cuando se presenta al tejido vivo (Wolke J. G. C, Groot K, Jansen J. A, "In vivo dissolution behaviour of various RF magnetron sputtered Ca-P coatings", J. Biomed. Mater. Res. 39 (4): 524-530, 15 de marzo de 1998.).

- 65 En los últimos años, los logros de la investigación han conducido a un aumento del interés en la HA como sustancia

bioactiva y a su uso como recubrimiento en implantes y otras aplicaciones. Se han invertido grandes esfuerzos en el desarrollo de nuevas vías o modificaciones de métodos antiguos para producir productos más fiables compuestos por HA. Un enfoque muy prometedor es obtener hidroxiapatita en forma de nanopartículas. Esto se debe a su capacidad para sinterizarse a baja temperatura, a su área superficial específica superior y a que dan lugar a productos finales más fuertes tras la sinterización.

Existen varias técnicas para la obtención de HA y materiales similares en la escala nanométrica. Éstas incluyen precipitación química controlada donde se utilizan disoluciones de sal de baja concentración, técnicas de deposición de vapor (tanto química como física), condensación desde fase gaseosa y diferentes técnicas de moldeo, tanto biológico como sintético. Ying *et al* (documento US 6013591) describen una técnica que implica el control cuidadoso del pH y la concentración de sal y la molienda en húmedo de la suspensión de HA-agua, dando como resultado un polvo de HA con un tamaño de cristal promedio de 40 nm. También mencionan la posibilidad de usar el polvo en recubrimientos, aunque no se da a conocer el método de recubrimiento. Entre los métodos de síntesis, se han aplicado satisfactoriamente autoensamblaje de tensioactivo, especialmente microemulsiones donde el tensioactivo forma pequeñas gotitas de agua que se usan como microrreactores con el fin de obtener pequeñas partículas de HA (Susmita Bose *et. al.*, Chem. Mater. 2003 (15) 4464-4469; Koumoulidis GC, Katsoulidis AP, Ladavos AK, Pomonis PJ, Trapalis CC, Sdoukos AT, Vaimakis TC, Journal of Colloid and Interface Science 259 (2): 254-260, 15 de marzo de 2003; Lim GK, Wang J, Ng SC, Gan LM Journal of Materials Chemistry, 9 (7): 1635-1639, julio de 1999). Sin embargo, hay problemas con el control tanto del tamaño como de la morfología, así como con el bajo rendimiento de los productos. Por tanto, existe la necesidad de una técnica fiable para la producción de fosfato de calcio cristalino nanométrico sintético morfológicamente puro, en particular hidroxiapatita.

El documento US2002/0031534 da a conocer un polvo que comprende una sustancia de base que puede usarse como polvo para cosméticos, una hidroxiapatita y un óxido de zinc. Preferiblemente, el polvo se obtiene formando una capa de recubrimiento de hidroxiapatita sobre la superficie de la sustancia de base y fijando luego el óxido de zinc a esta capa de recubrimiento.

Existen diversos métodos para aplicar películas de HA sobre objetos de implante. Por ejemplo: a) Pulverización térmica de plasma. Durante el proceso de pulverización de plasma se produce plasma dejando que un arco eléctrico pase a través de una corriente de gases mixtos. Esto da como resultado la fusión parcial de una materia prima de HA, que a su vez se lanza a una velocidad relativamente alta incidiendo sobre la superficie exterior del objeto que va a recubrirse. Este tratamiento da lugar a temperaturas localmente altas, afectando por tanto a la cristalinidad de la HA dando otros polimorfos así como HA amorfa parcial. Esta HA amorfa tiene tendencia a disolverse en el cuerpo dando una osteointegración más deficiente. Además, la capa de HA es relativamente gruesa (10  $\mu\text{m}$  mínimo), lo que da problemas con respecto a la adhesión al implante (Cheang, P.; Khor, K. A. Biomaterials 1996, 17, 537; Groot, K. d.; Geesink, R.; Klein, C.; Serekian, P. L. Biomedical. Mater. Res. 1987, 21, 1375; Story, B.; Burgess, A. Prosthetic implants coated with hydroxylapatite and process for treating prosthetic implants plasma-sprayed with hydroxylapatite; S. Calcitek: USA, 1998; y Zyman, Z.; Weng, J.; Liu, X.; Zhang, X.; Ma, Z. Biomaterials 1993, 14, 225.). b) Métodos de pulverización catódica, que tienen un coste relativamente alto y no son prácticos debido a su baja eficacia (Massaro C, Baker MA, Cosentino F, Ramirez PA, Klose S, Milella E, Surface and biological evaluation of hydroxyapatite-based coatings on titanium deposited by different techniques. Journal of Biomedical Materials Research, 58 (6): 651-657, 5 de diciembre de 2001). C) Métodos electroquímicos que utilizan electroquímica para hacer crecer cristales sobre un sustrato. Esta técnica tiene problemas con la formación de gas, que puede agrietar y romper la película de recubrimiento. Existen otras técnicas diversas que se describen en la bibliografía, pero actualmente sólo se usa comercialmente la técnica de pulverización de plasma. Los problemas de utilizar estas técnicas descritas anteriormente y otras no descritas son numerosos, especialmente debido a que sólo pueden aplicarse capas gruesas (de varios  $\mu\text{m}$ ) lo que conduce a problemas con la adhesión al sustrato y problemas con el recubrimiento de objetos que tienen formas complicadas. Varias de las técnicas usadas o sometidas a prueba también crean localmente altas temperaturas, dando HA amorfa en lugar de la forma de apatita cristalina deseada. Por tanto, se requieren nuevos métodos de recubrimiento para las deposiciones de HA sobre superficies. Una técnica prometedora es la denominada técnica de recubrimiento por inmersión donde el sustrato se sumerge en una disolución que consiste en una dispersión de partículas. Hay varios estudios realizados sobre el uso de esta técnica, pero los problemas con la obtención de un sol adecuado han dado como resultado problemas con la adhesión al sustrato, así como películas inconsistentes.

### Corta descripción de la invención

La presente invención proporciona un método de producción de apatitas nanométricas altamente cristalinas, especialmente hidroxiapatita, en forma de un recubrimiento sobre una superficie. Puede aplicarse un recubrimiento de apatita delgada, transparente y altamente cristalina, es decir, fosfato de calcio, tal como hidroxiapatita, sobre objetos, por ejemplo implantes, usando el método de la invención que se detallará a continuación.

El método de la invención puede usarse para la formación de varios productos donde el uso de partículas pequeñas constituye una ventaja. Además, el método usa una disolución que puede depositarse fácilmente sobre superficies de sustratos o bien metálicos o bien no metálicos. Las nanopartículas presentes en la disolución se adhieren al sustrato electrostáticamente, y por tanto, el sustrato debe tener una capa de óxido con el fin de maximizar la

adherencia a la superficie. Esto conduce a una superficie que consiste en una capa muy fina (tal como 150 nm o menos) de apatita cristalina, que puede aplicarse independientemente de las formas del sustrato. Además, la invención da lugar a una capa de apatita que puede seguir la rugosidad de superficie del sustrato dando las posibilidades de combinar estructura de superficie y recubrimiento de apatita, lo que es de gran importancia en la osteointegración.

Según la ciencia de materiales, con la sinterización se aumenta la resistencia de un material con la disminución del tamaño de partícula (referencia: A.A. Griffith, "The phenomena of rupture and flow in solids", Phil. Trans. Roy. Soc. London, Ser. A. 221 [4] 163-198 (1920-1921)). Esto conducirá a materiales de resistencia superior cuando se sinteriza un polvo de fosfato de calcio nanométrico en comparación con materiales compuestos por HA convencional. Esto permite la obtención de implantes de alta resistencia que consisten completamente en HA. Además, el pequeño tamaño de los cristales ofrece la posibilidad de obtener capas muy finas de HA sobre el sustrato sólido. Además, los nanocristales de hidroxiapatita en forma de un recubrimiento sobre una superficie resultan ventajosos cuando se usan para aumentar el área superficial de implantes compuestos por metales o no metales, así como para dar una superficie bioactiva. Esto dará como resultado una osteointegración más rápida y más controlada.

Los cristales nanométricos sintéticos de hidroxiapatita producidos mediante el método de la invención tienen, que se sepa, la mayor área superficial específica jamás presentada. Se parecen a las partículas de HA que están presentes en el cuerpo humano, lo que las hace altamente adecuadas en la imitación biológica del tejido corporal para la obtención de implantes corporales. Por tanto, la HA es adecuada para depositarse sobre la superficie de un implante proporcionándole una superficie altamente bioactiva con el fin de estimular el crecimiento óseo durante el proceso de recuperación inicial. Por ejemplo, el diente humano está compuesto por nanopartículas que consisten en HA incluidas en una matriz del polímero proteico colágeno, lo que le proporciona la estabilidad y la resistencia mecánica adecuadas.

### Descripción de los dibujos

La figura 1 muestra una imagen de microscopio electrónico de transmisión (TEM) de cristales de hidroxiapatita producidos según la invención. Barra de escala = 100 nm.

La figura 2 muestra una imagen de microscopio electrónico de barrido (SEM) de una superficie de metal recubierta con hidroxiapatita producida según la invención. Tal como puede observarse a partir de esta imagen, la capa de hidroxiapatita producida según la invención sigue la topografía de la superficie de metal. Barra de escala = 10  $\mu\text{m}$ .

La figura 3 muestra una imagen de SEM de una capa de hidroxiapatita producida según la invención sobre una superficie de vidrio. Barra de escala = 1  $\mu\text{m}$ .

La figura 4 muestra un difractograma de rayos X de un polvo de HA con un área superficial específica de 220  $\text{m}^2/\text{g}$ .

### Descripción detallada de la invención

El fosfato de calcio cristalino nanométrico sintético producido según la invención puede tener un área superficial específica en el intervalo de 150  $\text{m}^2/\text{g}$  a 300  $\text{m}^2/\text{g}$ , tal como de 180  $\text{m}^2/\text{g}$  a 280  $\text{m}^2/\text{g}$  tal como se mide mediante el método de BET (S. Brunauer, P.H. Emmet, E. Teller, J. Am. Chem. Soc. 1938, 60, 309-319).

Los cristales tienen un tamaño de partícula promedio de 1-10 nm, tal como 2-10 nm, y preferiblemente 1-5 nm de diámetro, y 20-40 de longitud, que puede estimarse mediante la imagen de TEM mostrada en la figura 1.

En una realización preferida de la invención, el fosfato de calcio es hidroxiapatita.

En otra realización, el fosfato de calcio cristalino nanométrico sintético producido según la invención tiene un área superficial específica seleccionada de 180  $\text{m}^2/\text{g}$ , 220  $\text{m}^2/\text{g}$  y 280  $\text{m}^2/\text{g}$ .

El fosfato de calcio cristalino nanométrico sintético producido según la invención está en forma de un recubrimiento sobre una superficie, por ejemplo, una superficie de metal, tal como una superficie de titanio.

En una realización del fosfato de calcio cristalino nanométrico sintético en forma de un recubrimiento sobre una superficie, el recubrimiento tiene un grosor de menos de o igual a 150 nm, tal como menos de o igual a 100 nm.

Aún en otra realización del fosfato de calcio cristalino nanométrico sintético producido según la invención, la razón de calcio con respecto a fósforo es de 1,67.

La invención se refiere a un método de producción de un polvo o recubrimiento de fosfato de calcio cristalino nanométrico que comprende las etapas de

- a) proporcionar una disolución de agua y cantidades disueltas estequiométricas de un precursor de fósforo y de un precursor de sal de calcio,
- 5 b) añadir un tensioactivo, y opcionalmente un disolvente orgánico hidrófobo, a la disolución de a) para crear una fase cristalina líquida,
- c) permitir que la fase cristalina líquida se equilibre, y
- 10 d) colocar la fase cristalina líquida equilibrada en una atmósfera de amoníaco para elevar el pH de modo que se formen cristales nanométricos de fosfato de calcio en los dominios acuosos de la fase cristalina líquida,
- realizándose las etapas a) - d) a temperatura ambiental,
- 15 seguido por
- e1) diluir la fase cristalina líquida tratada con amoníaco en d) con un disolvente orgánico hidrófobo para crear una microemulsión de los cristales nanométricos de fosfato de calcio en agua,
- 20 f1) sumergir una superficie recubierta con capa de óxido de un objeto en la microemulsión de e1) para depositar la microemulsión sobre la superficie,
- g1) evaporar el disolvente orgánico de la superficie de f1) para obtener el recubrimiento de fosfato de calcio cristalino nanométrico, y
- 25 h1) calentar bajo atmósfera inerte con el fin de retirar el tensioactivo,
- o alternativamente
- 30 omitir la etapa d) y
- e2) diluir la fase cristalina líquida de c) con un disolvente orgánico hidrófobo para crear una microemulsión,
- f2) sumergir una superficie recubierta con capa de óxido de un objeto en la microemulsión de e2) para depositar la microemulsión sobre la superficie,
- 35 g2) evaporar el disolvente orgánico de la superficie de f2) para formar la fase cristalina líquida, donde los precursores disueltos se sitúan en los dominios acuosos y
- h2) colocar la superficie de g2) en una atmósfera de amoníaco para elevar el pH de modo que se formen cristales nanométricos de fosfato de calcio en los dominios acuosos de la fase cristalina líquida y se depositen sobre la superficie, seguido por
- 40 i1) calentar bajo atmósfera inerte con el fin de retirar el tensioactivo.
- 45 En una realización, las cantidades disueltas estequiométricas en a) son cantidades disueltas en agua, pero en algunas otras realizaciones donde el precursor de fósforo no es soluble en agua, por ejemplo, fosfito de trietilo o propionato de calcio, las cantidades disueltas se disuelven en surfactante o se disuelven en aceite, respectivamente.
- 50 En una realización preferida actualmente, el tensioactivo en b) es un tensioactivo no iónico.
- Mediante el método de la invención, es posible producir fosfato de calcio cristalino nanométrico que tiene una superficie específica en el intervalo de  $50 \text{ m}^2/\text{g}$  a  $300 \text{ m}^2/\text{g}$ , aun cuando un intervalo preferido actualmente es de  $150 \text{ m}^2/\text{g}$  a  $300 \text{ m}^2/\text{g}$ .
- 55 En una realización del método de la invención, la superficie recubierta con capa de óxido de f1) o f2) es una superficie de metal, tal como una superficie de titanio.
- En otra realización, el objeto de f1) o f2) es un implante corporal, por ejemplo, un implante dental.
- 60 Realizaciones del método de la invención comprenden el fosfato de calcio como hidroxiapatita, el precursor de fósforo como ácido fosfórico, el precursor de sal de calcio como nitrato de calcio, y la razón de calcio con respecto a fósforo como 1,67.
- 65 Por tanto, también puede mantenerse la importante razón de Ca/P, que en el cuerpo es del orden de 1,67. La razón de Ca/P de 1,67 es la razón de la hidroxiapatita que se produce de manera natural. Sin embargo, pueden producirse otros compuestos de fosfato de calcio según el método de la invención alterando la razón del calcio y los

precursores de fósforo, tales como fosfato de di-, tri- o tetracalcio.

Los ejemplos de precursores de fósforo incluyen, además de ácido fosfórico, ácido fosforoso, ácido hipofosforoso y ésteres de ácido fosforoso, tales como fosfito de trietilo.

Los ejemplos del precursor de sal de calcio incluyen, además de nitrato de calcio, por ejemplo cloruro de calcio, acetato de calcio y alcóxidos de calcio tales como etóxido de calcio.

El fosfato de calcio cristalino nanométrico sintético, en particular hidroxiapatita, puede depositarse sobre cualquier superficie de interés tal como, por ejemplo, metales, polímeros y cualquier otro material orgánico, material cerámico y otros materiales inorgánicos, siempre que tengan una capa de óxido. El objeto o implante puede ser plano, como redondo, concéntrico o de cualquier forma compleja, y la superficie puede ser o bien lisa o bien porosa. Los metales usados como implantes corporales, tales como titanio (que siempre tiene una capa de dióxido de titanio presente sobre la superficie), acero inoxidable, molibdeno, zirconio, etc., pueden bioactivarse por tanto por la acción del recubrimiento descrita por esta invención.

Con el fin de obtener buena adhesión al sustrato, la superficie del sustrato debe limpiarse apropiadamente. Esto es para eliminar los contaminantes que podrían influir en la unión. Pueden utilizarse varias técnicas para este fin, tanto mecánicas, tales como granallado y pulido, como químicas, tales como lavado con disolventes orgánicos y agua.

Con el fin de controlar el tamaño del cristal así como de obtener su cristalinidad deseada, es decir su estructura de apatita, se ha utilizado autoensamblaje de tensioactivo en el método de la invención. Los tensioactivos son moléculas anfífilas que consisten en una o más partes hidrófilas y una o más partes hidrófobas. La parte hidrófila significa que es liofílica hacia el agua, es decir, que tiene afinidad por el agua, lo que se refiere a que la cabeza es más o menos soluble en agua. La parte hidrófoba significa que no es liofílica hacia el agua, es decir que no tiene afinidad hacia el agua, lo que a menudo se refiere a que la cola no es soluble en agua o es menos soluble en agua que la parte hidrófila. Combinaciones de estas partes diferentes dan como resultado moléculas que tienen una parte soluble en agua y una parte no soluble en agua o menos soluble en agua. Existen diferentes composiciones entre estas partes, y los tensioactivos pueden tener, por ejemplo, una cabeza doble con una o más colas hidrófobas, o al contrario, una molécula con cola doble con una o más cabezas. Además, los tensioactivos se dividen en diferentes grupos dependiendo del tipo de cabeza, es decir iónicos o no iónicos, siendo los iónicos positivos, negativos, zwitteriónicos o anfóteros. Los tensioactivos zwitteriónicos contienen tanto una carga positiva como una negativa. A menudo la carga positiva es invariablemente amonio y la carga negativa puede variar, pero habitualmente es un carboxilato. Si tanto la carga positiva como la negativa son dependientes del pH, se denominan tensioactivos anfóteros, que en un determinado intervalo de pH son zwitteriónicos. La característica más importante de los tensioactivos es su tendencia a adsorber sobre las superficies de contacto, por ejemplo, la superficie de contacto de aire-líquido, la superficie de contacto de aire-sólido y la superficie de contacto de líquido-sólido. Cuando los tensioactivos son libres en el sentido de no estar en forma agregada, se denominan monómeros o unímeros. Cuando aumenta la concentración de unímeros tienden a agregarse y formar pequeñas entidades de agregados, las denominadas micelas. Esta concentración se denomina la concentración micelar crítica y, a menudo, se designa como CMC. La formación de micelas puede considerarse como alternativa a la adsorción sobre una superficie de contacto, reduciendo por tanto su energía libre según las reglas de la termodinámica. Cuando se usa agua como disolvente para la micelización, la CMC se alcanza a concentraciones micelares muy bajas. No es inusual con valores de 1 mM e inferiores. Al aumentar la concentración de tensioactivo más allá de la CMC, las micelas comienzan a aumentar de tamaño. A una concentración de tensioactivo superior, las micelas alcanzan la fase en la que comienzan a empaquetarse unas cerca de otras formando nuevas estructuras más viscosas, es decir, fases cristalinas líquidas. Estas entidades se forman en agua o disolventes orgánicos o en mezclas de agua y disolventes orgánicos.

El autoensamblaje de tensioactivo en forma de estructuras cristalinas líquidas existe en una variedad de geometrías diferentes. Ejemplos de estas geometrías son lamelar, hexagonal, hexagonal inversa y cúbica. Con la presente invención es posible obtener todas estas geometrías. Otras fases de tensioactivo que existen son las denominadas fases de disolución isotrópica, y ejemplos de ellas son disoluciones micelares diluidas y concentradas, disoluciones micelares inversas, microemulsiones y disoluciones vesiculares. Los sistemas más altamente concentrados, es decir, las fases cristalinas líquidas, tienen desorden a poca distancia pero cierto orden a distancias más largas. Esto se comparó con cristales habituales, tales como los cristales inorgánicos, que tienen orden tanto a distancia larga como corta. Estas propiedades hacen de los cristales líquidos una estructura rígida, pero más similar a un líquido en comparación con los cristales ordinarios. Los intervalos de tamaño típicos para estas estructuras están en el intervalo meso, es decir 2-50 nm.

El método de usar fases cristalinas líquidas y su comportamiento de fase rica, hace que sea una vía muy prometedora también para obtener materiales porosos (mesoporosos), lo que sería interesante en la aplicación de reemplazo de hueso dañado. Los materiales obtenidos utilizando la fase cristalina líquida altamente concentrada tienen un área superficial específica de más de 50 m<sup>2</sup>/g, tal como 100 m<sup>2</sup>/g, preferiblemente más de 150 m<sup>2</sup>/g, por ejemplo 200 m<sup>2</sup>/g y lo más preferiblemente 280 m<sup>2</sup>/g, que hasta donde se sabe es la mayor área superficial notificada para HA sintética utilizando el método de adsorción de N<sub>2</sub> convencional (debe indicarse que Rudin *et. al.*

(documento WO 02/02461) indicaron que habían obtenido HA con un área superficial específica de 920 m<sup>2</sup>/g. Sin embargo, estos valores no son comparables con los valores obtenidos con el método de adsorción de N<sub>2</sub> convencional).

5 El tensioactivo usado en la presente invención como agente de control de la estructura para la formación de la apatita cristalina, por ejemplo, partículas de HA, también puede funcionar como agente dispersante estabilizando la suspensión coloidal, y como agente humectante en caso de que se desee la dispersión de las partículas sobre un objeto. Los tensioactivos adecuados para la producción de fosfatos de calcio nanométricos son los tensioactivos no iónicos del tipo polietilenglicol de bloque-propilenglicol de bloque—polietilenglicol de bloque. Tal como se mencionó anteriormente, existen varias estructuras o fases cristalinas líquidas liotrópicas diferentes. El tipo de fase que puede obtenerse depende del tensioactivo, de la fase hidrófoba (si está presente), de la presión aplicada, de la temperatura, del pH y de las concentraciones, y es posible cambiar de fase cambiando uno o más de estos parámetros. Esta característica hace posible comenzar con una fase de tensioactivo específica, llevar a cabo la reacción deseada en ese entorno incluido específico y cambiar uno o más parámetros para convertirla en otra fase. Esta otra fase puede tener otras propiedades deseadas para el procedimiento de producción, que pueden utilizarse en otra etapa adicional. Cambiando parámetros tales como las temperaturas y las concentraciones de tensioactivo, es posible producir la fase deseada y las nanopartículas presentadas por la invención, y cambiar a otra fase más deseable como una suspensión estable. Además, obteniendo estos sistemas de tensioactivo en condiciones conocidas termodinámicamente, los sistemas pueden obtenerse y mantenerse. Esto significa que la fase nunca se separará en fases en sus propios componentes respectivos aun cuando se almacene durante mucho tiempo. Esta es una propiedad deseada cuando se trata de cuestiones prácticas tales como la reproducibilidad de producción y productos.

El disolvente orgánico usado posiblemente puede seleccionarse de un gran número de disolventes diferentes, y los ejemplos de disolventes incluyen acetato de butilo y p-xileno.

La invención se ilustrará ahora con referencia a los ejemplos y los dibujos, pero debe entenderse que el alcance de la invención no se limita a los detalles dados a conocer.

## 30 Ejemplos

### Ejemplo 1

#### Producción de polvo de hidroxiapatita (no reivindicado)

35 Se fabrica el polvo usando una fase cristalina líquida. Una fase de este tipo está constituida por tensioactivos, agua y opcionalmente una fase hidrófoba que es un disolvente orgánico. Los tensioactivos que se han usado son los denominados copolímeros de bloque de la estructura PEG-PPG-PEG (polietilenglicol de bloque-polipropilenglicol de bloque-polietilenglicol de bloque). BASF fabrica esta serie de polímeros con el nombre Pluronic, pero la empresa química Aldrich también vende copolímeros de bloque casi idénticos. Se ha conseguido fabricar hidroxiapatita mediante cuatro fórmulas diferentes, dadas en porcentaje en peso:

#### 1) Fase hexagonal inversa

45 15% de disolución acuosa: H<sub>2</sub>O, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> y Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>  
35% de acetato de butilo  
50% de Pluronic P123

#### 2) Fase hexagonal inversa

50 15% de disolución acuosa: H<sub>2</sub>O, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> y Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>  
15% de p-xileno  
70% de Pluronic L64

#### 3) Fase cúbica

55 50% de disolución acuosa: H<sub>2</sub>O, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> y Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>  
50% de Pluronic F127

#### 4) Fase hexagonal

60 30% de disolución acuosa: H<sub>2</sub>O, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> y Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>  
70% de Pluronic F127

Se permite que la fase cristalina líquida se equilibre durante algunas horas antes de tratarse en una atmósfera de amoníaco. El amoníaco precipita la hidroxiapatita puesto que el pH de los dominios acuosos se eleva. En cuatro días la reacción ha cesado y se retira el tensioactivo con un disolvente (por ejemplo, etanol o tolueno). La hidroxiapatita se filtra, se lava y se seca al aire. Debido al hecho de que la cristalización se produce en los dominios acuosos muy pequeños que están presentes en la fase cristalina líquida (5-10 nm de diámetro), el polvo se vuelve de grano extremadamente fino.

5 Tal como puede observarse a partir de las fórmulas, se añaden concentraciones solubles de ácido fosfórico y nitrato de calcio a la fase acuosa. La relación entre el nitrato de calcio y el ácido fosfórico siempre se ha realizado de manera que la razón de Ca/P ha sido de 1,67. Dependiendo de qué concentraciones de nitrato de calcio y ácido fosfórico se añadan, puede controlarse el tamaño de los cristales de hidroxiapatita resultantes. Se han variado las concentraciones de nitrato de calcio y ácido fosfórico (todavía con la razón de Ca/P de 1,67) y se han medido las siguientes áreas superficiales específicas:

Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> * 4 H <sub>2</sub> O	Área superficial específica, m <sup>2</sup> /g
20% en peso	80
10% en peso	180
5% en peso	220
2,5% en peso	280

10 Todas las áreas superficiales específicas mencionadas en este texto se han medido con adsorción de gas nitrógeno, más específicamente con un instrumento ASAP 2010 de Micromeritics instruments.

Ejemplo 2 (invención)

15 Producción de un recubrimiento sobre una superficie - método 1

El recubrimiento se obtiene diluyendo la fase cristalina líquida tratada con amoníaco con un disolvente orgánico que tiene que ser insoluble en agua. En lugar de retirar los tensioactivos y filtrar el polvo como en el ejemplo 1, se añade más componente insoluble en agua a la fase cristalina líquida. De esta manera se obtiene una denominada microemulsión de agua en aceite, en la que los cristales de hidroxiapatita existen en pequeñas gotitas de agua en la disolución, de aproximadamente 10 nm de diámetro. La cantidad de disolvente que se añade es importante con el fin de mantener la microemulsión. Si se añade demasiado disolvente, la hidroxiapatita precipitará y sedimentará. En la fórmula con p-xileno y L64 se ha añadido el doble de la cantidad de p-xileno en comparación con el peso de la fase cristalina líquida con el fin de obtener una microemulsión:

- 25
- 15 g de disolución acuosa
  - 215 g de p-xileno
  - 70 g de Pluronic L64

30 Cuando se sumerge un metal tal como titanio en la disolución, la hidroxiapatita se unirá al metal, junto con el tensioactivo y el disolvente orgánico. Tras la inmersión, la muestra se seca durante media hora, de modo que el disolvente orgánico se evapora. Puesto que el tensioactivo se quema posteriormente a 550°C en 5 minutos, sólo se mantiene la hidroxiapatita pura. La hidroxiapatita será completamente cristalina y, además, tendrá una gran área superficial específica. Con otros métodos, tales como pulverización catódica de plasma, se obtiene una gruesa capa de hidroxiapatita parcialmente amorfa junto con una baja superficie específica. El tratamiento térmico se realiza en un denominado horno de tipo tubular, fluyendo gas nitrógeno a través de la muestra e impidiendo de ese modo la oxidación adicional de la superficie de titanio.

40 El método de producción anterior de un recubrimiento de HA puede describirse en resumen tal como sigue:

1. Se produce la fase cristalina líquida y
2. se coloca en una atmósfera de amoníaco durante 4 días.
- 45 3. Se diluye la fase con un disolvente para crear una disolución de recubrimiento.
4. Se sumerge la superficie que va a recubrirse en la disolución de recubrimiento y se seca, de modo que se reproduce la fase cristalina líquida en la superficie.
- 50 5. Se coloca la superficie en un horno bajo gas nitrógeno durante 5 minutos para retirar el tensioactivo

Ejemplo 3 (Invención)

55 Producción de un recubrimiento sobre una superficie - método 2

El recubrimiento se obtiene diluyendo la fase cristalina líquida, que no se ha tratado en una atmósfera de amoníaco, con un disolvente orgánico que tiene que ser insoluble en agua. Se obtiene una microemulsión de agua en aceite, pero puesto que la fase cristalina líquida no se ha expuesto a amoníaco, no están presentes cristales de hidroxiapatita en las gotitas de agua de la microemulsión. En cambio, estas gotitas de agua contienen los

## ES 2 583 130 T3

precursores de calcio y fósforo. La composición de la microemulsión es idéntica a la de en el ejemplo 2:

15 g de disolución acuosa  
215 g de p-xileno  
5 70 g de Pluronic L64

El método de producción anterior de un recubrimiento de HA puede describirse en resumen tal como sigue:

10 1. Se produce la fase cristalina líquida y

2. se diluye con un disolvente para crear una disolución de recubrimiento.

15 3. Se sumerge la superficie que va a recubrirse en la disolución de recubrimiento y se seca, de modo que se reproduce la fase cristalina líquida en la superficie y

4. Se coloca en una atmósfera de amoníaco durante 20 minutos.

5. Se coloca la superficie en un horno bajo gas nitrógeno durante 5 minutos para retirar el tensioactivo.

20 La principal diferencia entre los dos métodos alternativos de producción de un recubrimiento nanocristalino sobre una superficie es que en el segundo caso la fase cristalina líquida no se trata con amoníaco durante 4 días. En cambio, se trata la superficie con amoníaco tras la inmersión, se eleva el pH y se deposita la HA sobre la superficie. La etapa final de retirar los tensioactivos en un horno es igual en ambos métodos. Los métodos dan el mismo resultado, pero el segundo método se realiza en un tiempo más corto.

25 Es posible recubrir otras superficies además de superficies de metal con hidroxiapatita siempre que haya una capa de óxido sobre la superficie (de otro modo la hidroxiapatita en la microemulsión no se unirá al sustrato de manera satisfactoria) y que el material resista el tratamiento térmico. Los ejemplos de materiales susceptibles de recubrimiento con HA incluyen metales tales como acero inoxidable y titanio, y materiales cerámicos tales como óxido de zirconio y vidrio ordinario.  
30

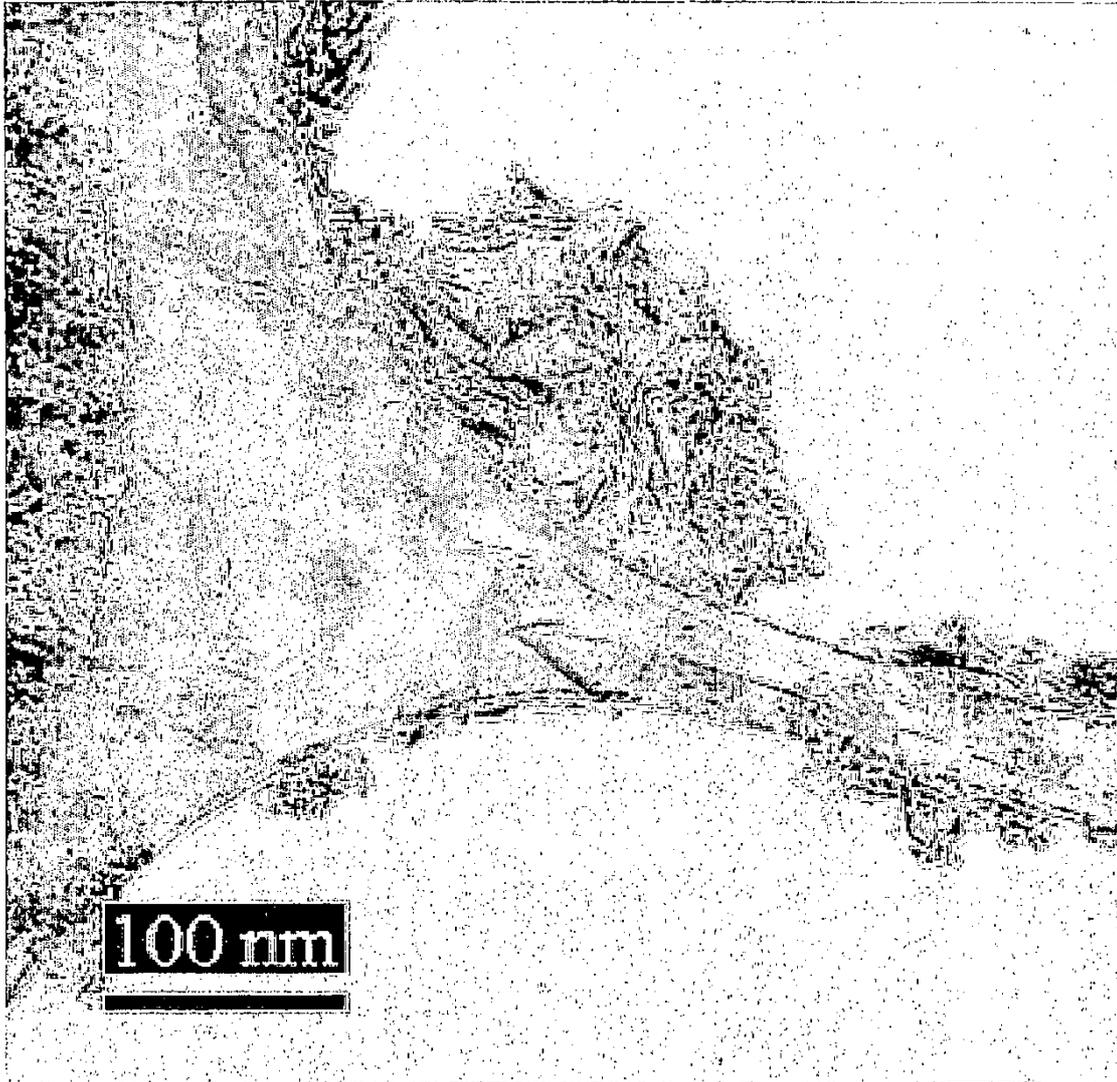
**REIVINDICACIONES**

1. Método de producción de un recubrimiento de fosfato de calcio cristalino nanométrico que comprende las etapas de
- 5 a) proporcionar una disolución de agua y cantidades disueltas estequiométricas de un precursor de fósforo y de un precursor de sal de calcio,
- 10 b) añadir un tensioactivo, y opcionalmente un disolvente orgánico hidrófobo, a la disolución de a) para crear una fase cristalina líquida,
- 15 c) permitir que la fase cristalina líquida se equilibre, y
- d) colocar la fase cristalina líquida equilibrada en una atmósfera de amoníaco para elevar el pH de modo que se formen cristales nanométricos de fosfato de calcio en los dominios acuosos de la fase cristalina líquida,
- realizándose las etapas a) - d) a temperatura ambiental,
- 20 seguido por
- e1) diluir la fase cristalina líquida tratada con amoníaco de d) con un disolvente orgánico hidrófobo para crear una microemulsión de los cristales nanométricos de fosfato de calcio en agua,
- 25 f1) sumergir una superficie recubierta con capa de óxido de un objeto en la microemulsión de e1) para depositar la microemulsión sobre la superficie,
- g1) evaporar el disolvente orgánico de la superficie de f1) para obtener el recubrimiento de fosfato de calcio cristalino nanométrico, y
- 30 h1) calentar bajo atmósfera inerte con el fin de retirar el tensioactivo,
- o alternativamente
- 35 omitir la etapa d) y
- e2) diluir la fase cristalina líquida de c) con un disolvente orgánico hidrófobo para crear una microemulsión,
- 40 f2) sumergir una superficie recubierta con capa de óxido de un objeto en la microemulsión de e2) para depositar la microemulsión sobre la superficie,
- g2) evaporar el disolvente orgánico de la superficie de f2) para formar una fase cristalina líquida, y
- 45 h2) colocar la superficie de g2) en una atmósfera de amoníaco para elevar el pH de modo que se formen cristales nanométricos de fosfato de calcio en los dominios acuosos de la fase cristalina líquida y se depositen sobre la superficie, seguido por
- i1) calentar bajo atmósfera inerte con el fin de retirar el tensioactivo.
- 50 2. Método según la reivindicación 1, en el que el tensioactivo en b) es un tensioactivo no iónico.
3. Método según la reivindicación 1, en el que la superficie recubierta con capa de óxido de f1) o f2) es una superficie de metal.
- 55 4. Método según la reivindicación 1, en el que la superficie de metal es una superficie de titanio.
5. Método según la reivindicación 1, en el que el objeto de f1) o f2) es un implante corporal.
6. Método según la reivindicación 5, en el que el implante corporal es un implante dental.
- 60 7. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el fosfato de calcio es hidroxiapatita.
8. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que el precursor de fósforo es ácido fosfórico.
- 65 9. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que el precursor de sal de calcio es nitrato

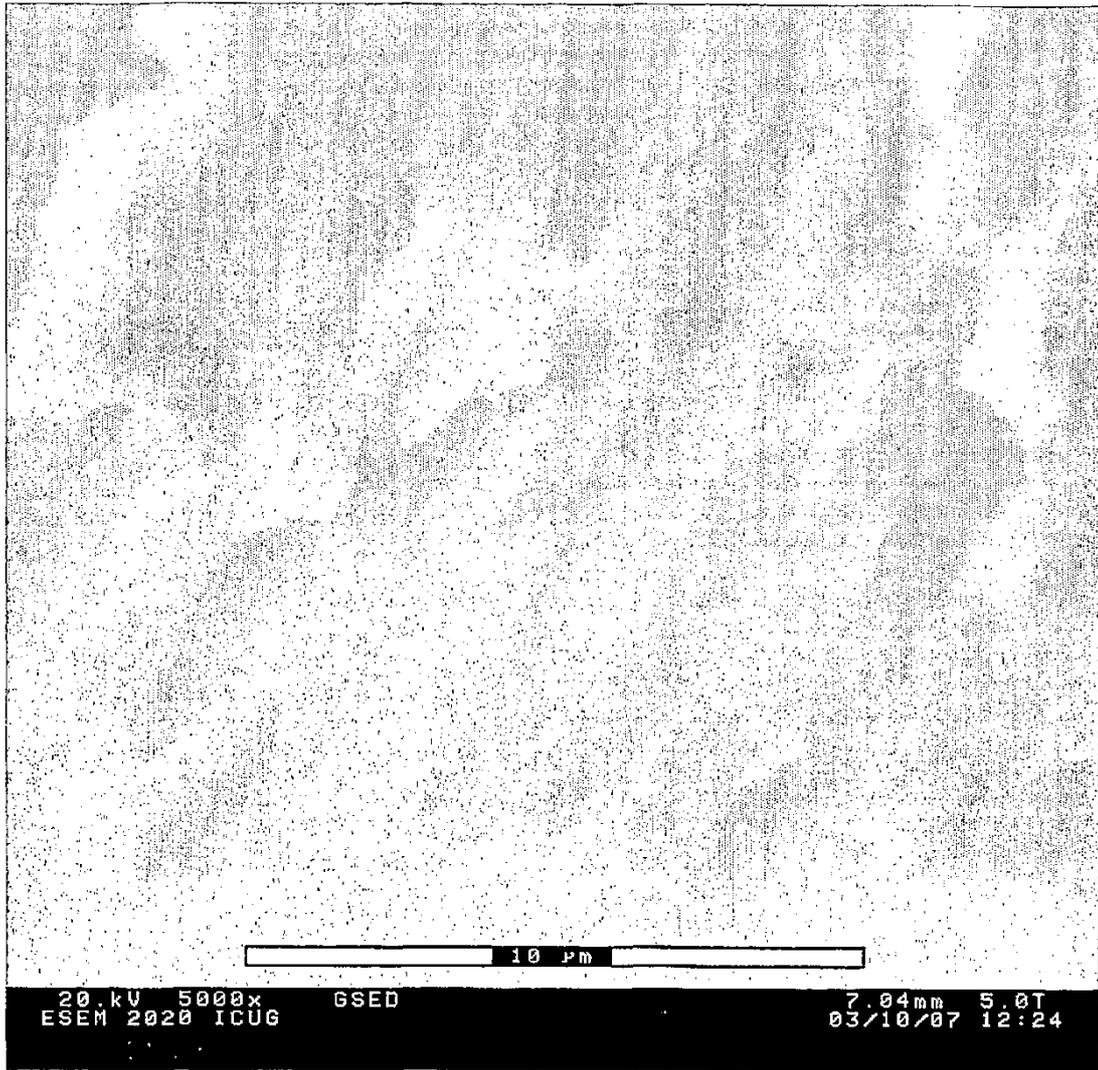
de calcio.

10. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que la razón de calcio con respecto a fósforo es de 1,67.

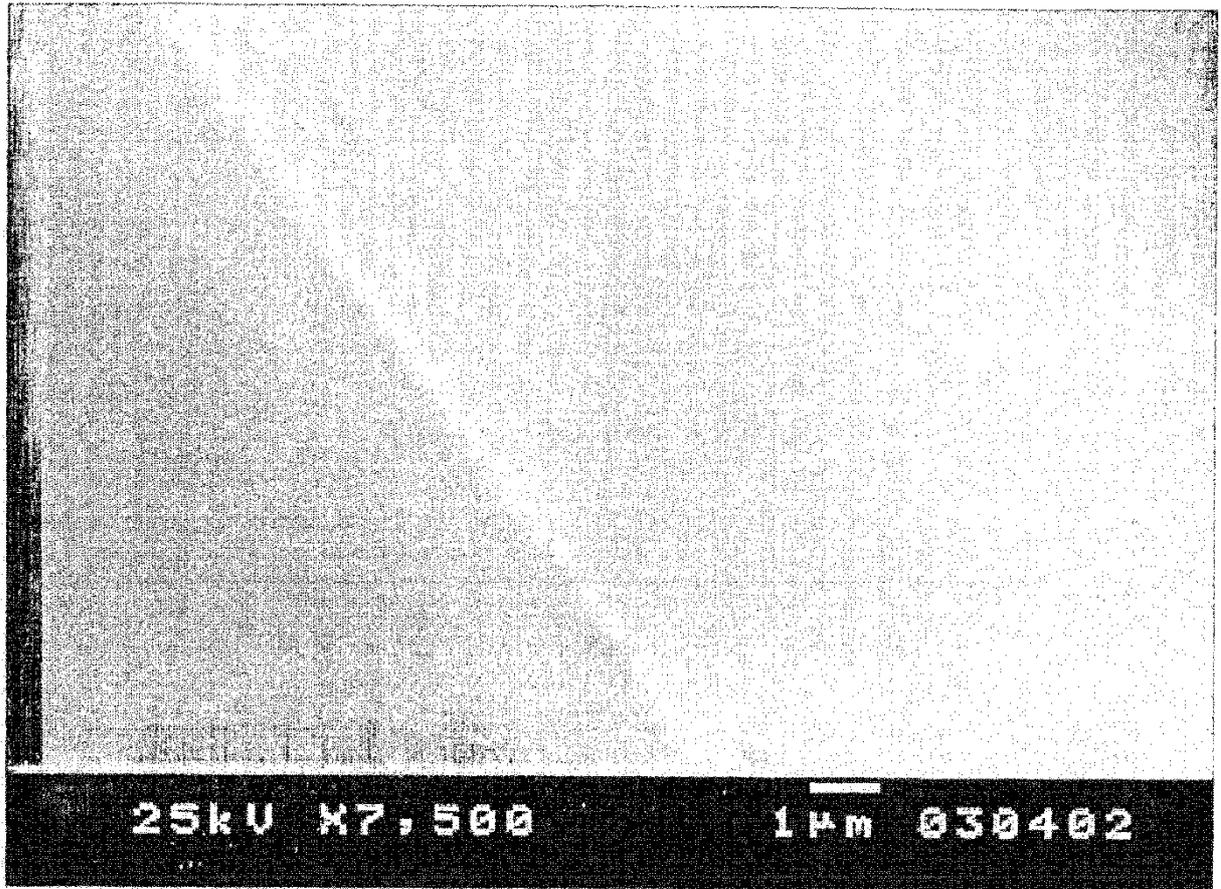
5



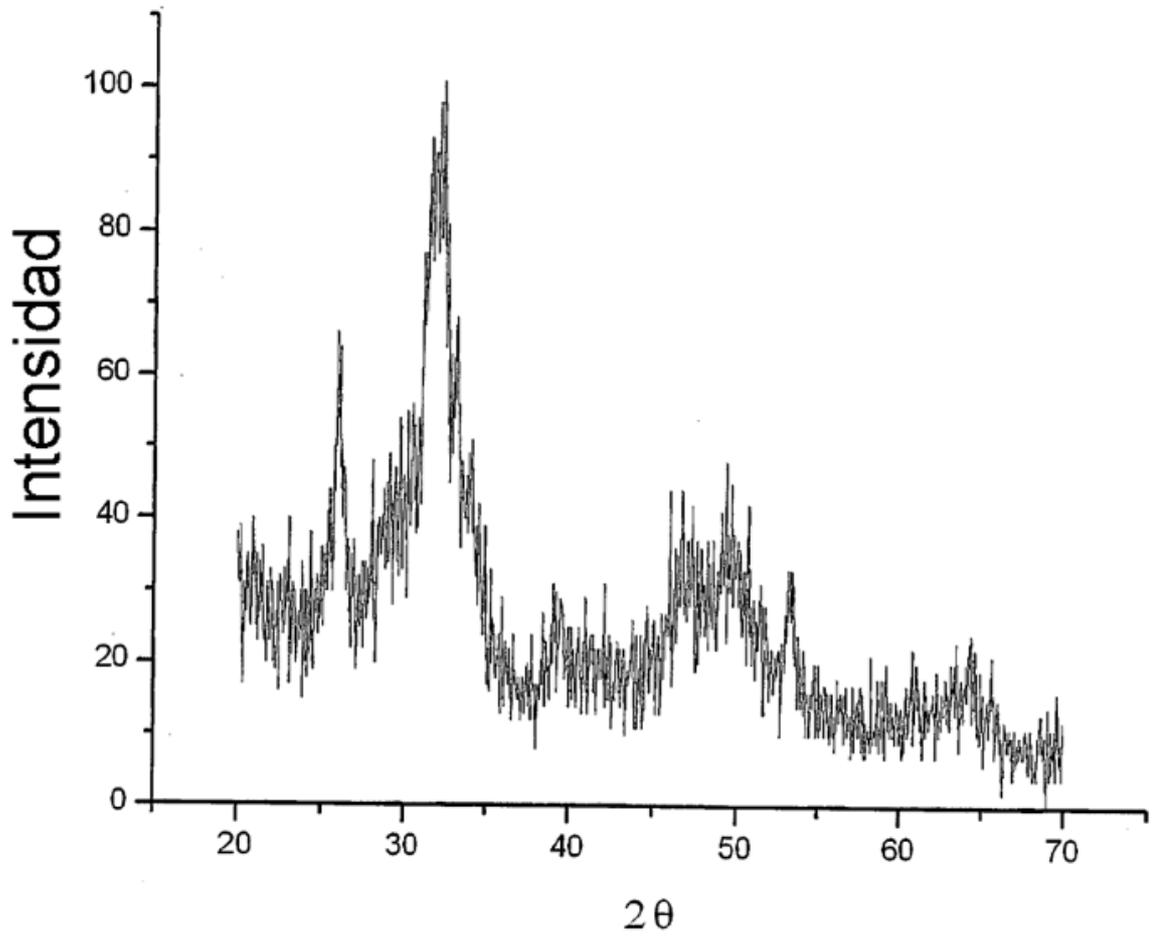
**Fig. 1**



**Fig. 2**



**Fig. 3**



**Fig. 4**