

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 659 811**

51 Int. Cl.:

C01B 25/32 (2006.01)

B82Y 30/00 (2011.01)

C09D 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.06.2005 E 16162786 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.11.2017 EP 3059208**

54 Título: **Fosfato de calcio cristalino de tamaño nanométrico sintético**

30 Prioridad:

15.06.2004 SE 0401524

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

19.03.2018

73 Titular/es:

PROMIMIC AB (100.0%)

Stena Center 1B

412 92 Göteborg, SE

72 Inventor/es:

KJELLIN, PER y

ANDERSSON, MARTIN

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 659 811 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

Fosfato de calcio cristalino de tamaño nanométrico sintético

5 La presente invención se refiere a fosfato de calcio cristalino sintético, en particular hidroxiapatita, con un área superficial específica en el intervalo de 50 m²/g a 300 m²/g, preferiblemente de 150 m²/g a 300 m²/g. Se da a conocer un método de producción de un polvo o recubrimiento de fosfato de calcio cristalino, en particular hidroxiapatita, de tamaño nanométrico.

10 **Antecedentes de la invención**

15 Existe un amplio número de diferentes biomateriales 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 un sentido, cuerpos extraños cuando entran en contacto con tejido vivo. El cuerpo encapsula el cuerpo extraño con tejido delgado y así fija mecánicamente el cuerpo extraño dentro del cuerpo. Los materiales bioinertes típicos son cerámicas, tales como óxido de aluminio y dióxido de zirconio y diferentes polímeros no biodegradables. Se usan materiales biorreabsorbibles tales como trifosfato de calcio, sulfato de calcio y polímeros biodegradables para reemplazar tejido dañado. Estos se disuelven eventualmente y se reemplazan por tejido corporal. Los materiales bioactivos incluyen, por ejemplo, hidroxiapatita y ciertos vidrios y vitrocerámicas 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 reparación o reemplazo de 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. Existen varios métodos para lograr una buena osteointegración, por ejemplo a) diseño de 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 la 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 correcta (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, De Young DJ. The response of cancellous and cortical canine bone to hydroxyapatite-coated and uncoated titanium rods. J Appl Biomater 1995; 6: 237-242.), o bien bioinerte, reabsorbible o bien 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 implantes a menudo tienen que experimentar un largo periodo de consolidación. Por ejemplo, los implantes dentales de titanio requieren normalmente un tiempo de consolidación de tres a seis meses dependiendo del paciente y la ubicación en la boca antes de que puedan aplicarse cargas externas.

45 La hidroxiapatita, HA, Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂, es uno de los principales componentes minerales en el cuerpo de animales y seres humanos, y proporciona dureza y resistencia mecánica a huesos y dientes. En el cuerpo, HA existe como diminutos cristales con una estructura en forma de aguja (Lowenstam, H. A., y Weiner, S. On biomineralization, Oxford Universidad Press, Nueva York, 1989.). Las agujas son de aproximadamente 1-2 nm de grosor, 2-4 nm de anchura y 20-40 nm de longitud. Por ejemplo, se usa HA en dispositivos percutáneos, tratamiento periodontal, aumento del reborde alveolar, ortopedia, cirugía maxilofacial, otorrinolaringología y cirugía de columna. (Hench (1991) J. Am. Cer. Soc. 74:1487), pero se usa de la manera más extendida para aplicaciones ortopédicas y de implantes dentales.

50 Desafortunadamente, debido a la baja fiabilidad mecánica, especialmente en un entorno húmedo, no puede usarse HA para aplicaciones de soporte de cargas pesadas por sí misma (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, HA se incorpora en otro tejido "más blando", formando por tanto un material compuesto. Por ejemplo, el diente humano se compone de una mezcla de colágeno y HA, que hace que sea más fuerte frente a la fractura. 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 hacer que la unión (osteointegración) sea tan buena y rápida como sea posible. En esta aplicación, se utiliza la resistencia mecánica del titanio junto con la biocompatibilidad de la hidroxiapatita. Aunque la HA, según algunos estudios, tiene un efecto bioactivo, han sido numerosos los problemas con la aplicación de HA. Principalmente, los problemas se refieren a la adhesión de la película de HA sobre la superficie de dióxido de titanio. Una escasa adhesión da como resultado el desprendimiento de la película de HA del implante, lo que puede conducir a su vez a un fracaso quirúrgico total. Además, se han experimentado problemas con la cristalinidad de HA, que condujeron a la disolución de la película cuando se presentó 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.).

En los últimos años, los logros de la investigación han conducido a un aumento del interés sobre HA como sustancia bioactiva y a su uso en implantes y otras aplicaciones. Se han dedicado grandes esfuerzos al desarrollo de nuevas rutas o modificaciones de métodos antiguos para producir productos más fiables compuestos por HA. Un enfoque muy prometedor es producir hidroxapatita en forma de nanopartículas. Esto se debe a su capacidad para sinterizarse a baja temperatura, su mayor área superficial específica y que proporcionan productos finales más resistentes tras la sinterización.

Existen varias técnicas para la producción de HA y materiales similares a escala nanométrica. Estas incluyen precipitación química controlada en la que se utilizan disoluciones de sal de baja concentración, técnicas de deposición en fase de vapor (tanto química como física), condensación a partir de una fase gaseosa y diferentes técnicas de obtención de plantillas, tanto biológicas como sintéticas. Entre los métodos de síntesis, se han aplicado satisfactoriamente autoensamblaje de surfactante, especialmente microemulsiones en las que los surfactantes forman pequeñas gotas de agua que se usan como microrreactores con el fin de producir 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, existen problemas con el control tanto del tamaño como de la morfología así como el bajo rendimiento de los productos. Por tanto, existe la necesidad de una técnica fiable para la producción de fosfato de calcio cristalino, en particular hidroxapatita, de tamaño nanométrico, sintético y morfológicamente puro.

Existen diversos métodos para aplicar películas de HA sobre objetos implantados. Por ejemplo: a) pulverización de plasma térmico. Durante el procedimiento de pulverización de plasma, se produce plasma dejando que pase un arco eléctrico a través de una corriente de gases mezclados. Esto da como resultado la fusión parcial de una materia prima de HA, que se lanza a su vez 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 así a la cristalinidad de HA proporcionando otros polimorfos así como HA parcialmente amorfa. Esta HA amorfa tiene tendencia a disolverse en el cuerpo proporcionando una peor osteointegración. Además, la capa de HA es relativamente gruesa (10 μm como 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 bombardeo catódico, que tienen un coste relativamente alto y son poco prácticos debido a su baja efectividad (Massaro C, Baker MA, Cosentino F, Ramires 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, lo que puede fracturar y romper la película de recubrimiento. Existen otras varias técnicas que se describen en la bibliografía, pero actualmente solo se usa comercialmente la técnica de pulverización de plasma. Los problemas al utilizar estas técnicas descritas anteriormente y otras no descritas son cuantiosos, especialmente debido a que solo pueden aplicarse capas gruesas (de varios μm), 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 temperaturas localmente altas, proporcionando HA amorfa en vez de la forma deseada de apatita cristalina. Se requieren nuevos métodos de recubrimiento para la deposición de HA sobre superficies. Una técnica prometedoras es la denominada técnica de recubrimiento por inmersión en la que se sumerge el sustrato en una disolución que consiste en una dispersión de partículas. Existen varios estudios realizados sobre el uso de esta técnica pero problemas con la preparación de un sol adecuado han dado como resultado problemas con la adhesión al sustrato así como películas incoherentes.

Breve descripción de la invención

La presente invención proporciona apatitas de tamaño nanométrico altamente cristalinas, especialmente hidroxapatita en forma de un recubrimiento sobre una superficie. Puede aplicarse un recubrimiento de apatita, es decir, fosfato de calcio, tal como hidroxapatita, altamente cristalino, limpio y delgado sobre objetos, por ejemplo implantes, usando un método que se detallará a continuación.

La invención puede usarse para la formación de varios productos en los que resulta ventajoso el uso de pequeñas partículas. Además, la invención proporciona una disolución que puede depositarse fácilmente en superficies de sustratos o bien de metal o bien que no son de metal. Las nanopartículas presentes en la disolución se adhieren al sustrato electrostáticamente, y por tanto el sustrato debe tener preferiblemente 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 delgada (tal como de 150 nm o menos) de apatita cristalina, que puede aplicarse independientemente de las formas del sustrato. Además, la invención proporciona una capa de apatita que puede seguir la rugosidad de superficie del sustrato proporcionando la posibilidad de combinar la estructura de superficie y el recubrimiento de apatita, lo que es de suma importancia en la osteointegración.

Según la ciencia de materiales, tras la sinterización, aumenta la resistencia mecánica 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. Londres, Ser. A. 221 [4] 163-198 (1920-1921)). Esto conducirá a materiales de mayor resistencia mecánica cuando se sinteriza un polvo de fosfato de calcio de tamaño nanométrico en comparación con materiales producidos a partir de HA convencional. Esto permite la producción de implantes de alta resistencia mecánica que consisten totalmente en HA. Además, el pequeño tamaño de cristal proporciona la posibilidad de producir capas muy delgadas de HA sobre el sustrato sólido. Además, los nanocristales de hidroxiapatita en forma de un recubrimiento sobre una superficie son ventajosos cuando se usan para aumentar el área superficial de implantes compuestos por metales o no metal así como para proporcionar una superficie bioactiva. Esto dará como resultado una osteointegración más rápida y más controlada.

Los cristales de hidroxiapatita de tamaño nanométrico sintéticos de la invención tienen, al leer y entender de los inventores, la mayor área superficial específica presentada nunca. Se asemejan a las partículas de HA que están presentes en el cuerpo vivo, que hacen que sean altamente adecuadas en el biomimetismo de tejido corporal para la producción de implantes corporales. Por tanto, la HA de la invención 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 consolidación inicial. Por ejemplo, el diente humano se compone de nanopartículas que consisten en HA incrustada en una matriz del polímero proteico colágeno, que les proporciona la resistencia mecánica y estabilidad correctas.

Descripción de los dibujos

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

La figura 2 muestra una imagen al microscopio electrónico de barrido (SEM) de una superficie de metal recubierta con hidroxiapatita de la invención. Tal como puede observarse a partir de esta fotografía, la capa de hidroxiapatita de la invención sigue la topografía de la superficie de metal. Barra de escala = 10 μm .

La figura 3 muestra una imagen de SEM de una capa de hidroxiapatita de la invención sobre una superficie de vidrio. Barra de escala = 1 μm .

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

Descripción detallada de la invención

La invención se refiere a un sustrato que tiene un recubrimiento sobre la superficie que comprende fosfato de calcio cristalino de tamaño nanométrico sintético con un área superficial específica en el intervalo de 50 m^2/g a 300 m^2/g , preferiblemente de 150 m^2/g a 300 m^2/g , tal como de 180 m^2/g a 280 m^2/g tal como se mide mediante el método BET (S. Brunauer, P.H. Emmet, E. Teller, J. Am. Chem. Soc. 1938, 60, 309-319). El recubrimiento tiene un grosor menor de o igual a 100 nm.

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, lo que puede estimarse a partir la imagen de TEM mostrada en la figura 1.

En una realización preferida del fosfato de calcio cristalino de tamaño nanométrico sintético de la invención, el fosfato de calcio es hidroxiapatita.

En otra realización del fosfato de calcio cristalino de tamaño nanométrico sintético de la invención, el área superficial específica se selecciona de 180 m^2/g , 220 m^2/g y 280 m^2/g .

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

En aún otra realización del fosfato de calcio cristalino de tamaño nanométrico sintético de la invención, la razón de calcio con respecto a fósforo es de 1,67. También se da a conocer un método de producción de un polvo o recubrimiento de fosfato de calcio cristalino de tamaño 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,

b) añadir un surfactante, y opcionalmente un disolvente orgánico hidrófobo, a la disolución de a) para crear una fase liquidocristalina,

c) permitir que se equilibre la fase liquidocristalina, y

d) poner la fase liquidocristalina equilibrada en una atmósfera de amoníaco para elevar el pH de modo que se forman cristales de fosfato de calcio de tamaño nanométrico en los dominios acuosos de la fase liquidocristalina,

5 realizándose las etapas a) - d) a la temperatura ambiental, seguido por o bien

e1) retirar el surfactante de la fase liquidocristalina tratada con amoníaco en d) con un disolvente y

10 f1) filtrar, lavar y secar los cristales de fosfato de calcio de tamaño nanométrico para obtener el polvo, o bien

e2) diluir la fase liquidocristalina tratada con amoníaco en d) con un disolvente orgánico hidrófobo para crear una microemulsión de los cristales de fosfato de calcio de tamaño nanométrico en agua,

15 f2) sumergir una superficie recubierta con una 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 obtener el recubrimiento de fosfato de calcio cristalino de tamaño nanométrico, y

20 h2) calentar en atmósfera inerte con el fin de retirar el surfactante, o alternativamente omitir la etapa d) y

e3) diluir la fase liquidocristalina de c) con un disolvente orgánico hidrófobo para crear una microemulsión,

25 f3) sumergir una superficie recubierta con una capa de óxido de un objeto en la microemulsión de e3) para depositar la microemulsión sobre la superficie,

g3) evaporar el disolvente orgánico de la superficie de f3) para formar la fase liquidocristalina, en la que los precursores disueltos se sitúan en los dominios acuosos y

30 h3) poner la superficie de g3) en una atmósfera de amoníaco para elevar el pH de modo que se forman cristales de fosfato de calcio de tamaño nanométrico en los dominios acuosos de la fase liquidocristalina y se depositan sobre la superficie, seguido por

35 i2) calentar en atmósfera inerte con el fin de retirar el surfactante.

Las cantidades disueltas en a) son cantidades disueltas en agua, pero cuando el precursor de fósforo no es soluble en agua, por ejemplo fosfito de trietilo o propionato de calcio, las cantidades disueltas son disueltas en tensioactivo o disueltas en aceite, respectivamente.

40 El surfactante en b) es preferiblemente un surfactante no iónico.

Mediante el método descrito anteriormente es posible producir fosfato de calcio cristalino de tamaño nanométrico que tiene una superficie específica en el intervalo de $50 \text{ m}^2/\text{g}$ a $300 \text{ m}^2/\text{g}$, aunque un intervalo preferido en el presente documento es de $150 \text{ m}^2/\text{g}$ a $300 \text{ m}^2/\text{g}$.

45 La superficie recubierta con una capa de óxido de f2) o f3) puede ser una superficie de metal, tal como una superficie de titanio.

50 El objeto de f2) o f3) puede ser un implante corporal, por ejemplo un implante dental.

En el método, el fosfato de calcio puede ser hidroxiapatita, el precursor de fósforo puede ser ácido fosfórico, el precursor de sal de calcio puede ser nitrato de calcio, y la razón de calcio con respecto a fósforo puede ser de 1,67.

55 Por tanto, también puede conservarse la importante razón Ca/P, que en el cuerpo es del orden de 1,67. La razón 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 alterando la razón de los precursores de calcio y de fósforo, tales como di, tri o tetrafosfato de calcio.

60 Los ejemplos de los precursores de fósforo incluyen, además de ácido fosfórico, ácido fosforoso, ácido hipofosforoso y ésteres del 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.

65 El fosfato de calcio cristalino, en particular hidroxiapatita, de tamaño nanométrico sintético, puede depositarse sobre cualquier superficie de interés tal como por ejemplo metales, polímeros y cualquier otro material orgánico, cerámicas

5 y otros materiales inorgánicos, siempre que tengan una capa de óxido. El objeto o implante puede ser de tipo plano, 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 así mediante la acción de recubrimiento descrita por esta invención.

10 Con el fin de obtener una buena adhesión al sustrato, la superficie del sustrato debe limpiarse apropiadamente. Esto es para librarse de 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.

15 Con el fin de controlar el tamaño de cristal así como obtener su cristalinidad deseada, es decir, su estructura de tipo apatita, se ha utilizado el autoensamblaje de surfactante en el método. Los surfactantes son moléculas anfífilas que consisten en una o más partes hidrófilas y una o más partes hidrófobas. La parte hidrófila significa que es liófila hacia el agua, es decir, atrae el agua, que también se denomina la cabeza es más o menos soluble en agua. La parte hidrófoba significa que no es liófila hacia el agua, es decir repele el agua, que se denomina a menudo la cola no es soluble en agua o menos soluble en agua soluble que la parte hidrófila. Las combinaciones de estas diferentes partes dan como resultado moléculas que tiene una parte soluble en agua y otra parte no soluble en agua o menos soluble en agua. Existen diferentes composiciones entre estas partes, y por ejemplo los surfactantes pueden tener 20 dos cabezas con una o más colas hidrófobas, o lo contrario, una molécula de dos colas con una o más cabezas. Además, los surfactantes se dividen en diferentes grupos dependiendo del tipo de cabeza, es decir, iónica o no iónica, siendo la iónica positiva, negativa, zwitteriónica o anfótera. Los surfactantes 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 dependen del pH, se denominan surfactantes anfóteros, que en un determinado intervalo de pH son zwitteriónicos. La característica más importante de los surfactantes es su tendencia a adsorberse en interfases, por ejemplo la interfase aire-líquido, la interfase aire-sólido y la interfase líquido-sólido. Cuando los surfactantes están libres, en el sentido de no estar en forma agregada, se denominan monómeros o unímeros. Cuando se aumenta la concentración de unímeros, tienden a agregarse y formar pequeñas entidades de agregados, denominadas micelas. Esta concentración se denomina la concentración micelar crítica y se indica a menudo como CMC. Esta formación de micelas puede considerarse una alternativa a la adsorción en una interfase, reduciendo por tanto su energía libre según las reglas de la termodinámica. Cuando se usa agua como disolvente para la micelización, se alcanza la CMC a concentraciones micelares muy bajas. No resulta inusual con valores de 1 mM e inferiores, aumentar la concentración de surfactante más allá de la CMC a la que empiezan a crecer en tamaño las micelas. A una mayor concentración de surfactante, las micelas alcanzan la etapa en la que empiezan a empaquetarse próximas entre sí formando nuevas estructuras más viscosas, es decir, fases liquidocristalinas. Estas entidades se forman en agua o disolventes orgánicos o en mezclas de agua y disolventes orgánicos.

40 El autoensamblaje de surfactante en forma de estructuras liquidocristalinas existe en una gama de diferentes geometrías. Ejemplos de estas geometrías son laminar, hexagonal, hexagonal inversa y cubica. Todas estas geometrías son posibles de obtener con la presente invención. Otras fases de surfactante que existen son las denominadas fases de disolución isotrópica, y ejemplos de estas son disoluciones micelares diluidas y concentradas, disoluciones micelares inversas, microemulsiones y disoluciones de vesículas. Los sistemas más altamente concentrados, es decir, fases liquidocristalinas, tienen un desorden a corto alcance pero cierto orden a mayores distancias. Esto se comparó con cristales habituales tales como cristales inorgánicos que tienen orden tanto a largo como a corto alcance. Estas propiedades hacen que los cristales líquidos sean una estructura rígida, pero más similar a un líquido en comparación con los cristales habituales. Los intervalos de tamaño típicos para estas estructuras están en el rango de mesoporos, es decir, 2-50 nm.

50 El método de uso de fases liquidocristalinas y su comportamiento de fase enriquecida hace que sea una ruta muy prometedora también para producir materiales porosos (mesoporosos), lo que sería interesante en la aplicación de reemplazar hueso dañado. Los materiales producidos utilizando la fase liquidocristalina altamente concentrada tienen un área superficial específica de más de 50 m²/g, tal como de 100 m²/g, preferiblemente más de 150 m²/g, por ejemplo 200 m²/g y lo más preferiblemente de 280 m²/g, que al leer y entender de los inventores es la mayor área superficial notificada para HA sintética utilizando el método de adsorción de N₂ convencional (Debe indicarse que Rudin *et. al.* (documento WO 02/02461) establecieron que han producido HA con un área superficial específica de 920 m²/g. Sin embargo, estos valores no son comparables a los valores obtenidos con el método de adsorción de N₂ convencional).

60 El surfactante usado en la presente invención como agente de direccionamiento estructural para la formación de la apatita cristalina, por ejemplo partículas de HA, también puede funcionar como agente dispersante que estabiliza la suspensión coloidal, y como agente humectante en caso de que se desee la dispersión de las partículas en un objeto. Surfactantes adecuados para la producción de fosfatos de calcio de tamaño nanométrico son los surfactantes no iónicos del tipo bloque-poli(etilenglicol)-bloque-poli(propilenglicol)-bloque-poli(etilenglicol). Tal como se mencionó 65 anteriormente, existen varias estructuras o fases liquidocristalinas liotrópicas diferentes. El tipo de fase que se obtendrá depende del surfactante, la fase hidrófoba (si está presente), la presión, la temperatura, el pH y las

concentraciones aplicados, y es posible cambiar la fase cambiando uno o más de estos parámetros. Esta característica hace que sea posible partir de una fase de surfactante específica, llevar a cabo la reacción deseada en ese entorno incorporado 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 puede utilizarse en otra etapa adicional. Cambiando parámetros tales como temperaturas y concentraciones de surfactante, es posible producir la fase deseada y las nanopartículas presentadas por la invención, y cambiar a otra fase más deseable como suspensión estable. Además, produciéndose estos sistemas de surfactantes en condiciones conocidas termodinámicamente, pueden lograrse y conservarse los sistemas. Esto significa que la fase nunca se separará en fases en sus propios componentes respectivos ni siquiera cuando se almacena durante largo tiempo. Esta es una propiedad deseada cuando se refiere a asuntos prácticos tales como reproducibilidad de producción y producto.

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

La invención se ilustrará a continuación 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.

Ejemplos

Ejemplo 1 (que no es según la invención)

Producción de polvo de hidroxiapatita

Se fabrica el polvo usando una fase liquidocristalina. Tal fase se compone de surfactantes, agua y opcionalmente una fase hidrófoba que es un disolvente orgánico. Los surfactantes que se han usado son los denominados copolímeros de bloque de la estructura PEG-PPG-PEG (bloque-poli(etilenglicol)-bloque-poli(propilenglicol)-bloque-poli(etilenglicol)). 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, proporcionadas en porcentaje en peso:

1) Fase hexagonal inversa

el 15% de disolución acuosa: H_2O , H_3PO_4 y $Ca(NO_3)_2$
 el 35% de acetato de butilo
 el 50% de Pluronic P123

2) Fase hexagonal inversa

el 15% de disolución acuosa: H_2O , H_3PO_4 y $Ca(NO_3)_2$
 el 15% de p-xileno
 el 70% de Pluronic L64

3) Fase cúbica

el 50% de disolución acuosa: H_2O , H_3PO_4 y $Ca(NO_3)_2$
 el 50% de Pluronic F127

4) Fase hexagonal

el 30% de disolución acuosa: H_2O , H_3PO_4 y $Ca(NO_3)_2$
 el 70% de Pluronic F127

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

Tal como puede observarse a partir de las fórmulas, se añaden concentraciones solubles de ácido fosfórico y nitrato de calcio a la fase acuosa. Siempre tiene que haberse hecho que la relación entre el nitrato de calcio y el ácido fosfórico sea tal que la razón Ca/P sea 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 Ca/P de 1,67) y se han medido las siguientes áreas superficiales específicas:

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

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.

5 Ejemplo 2

Producción de un recubrimiento sobre una superficie - método 1

Se obtiene el recubrimiento diluyendo la fase liquidocristalina tratada con amoníaco con un disolvente orgánico que ha de ser insoluble en agua. En vez de retirar los surfactantes y filtrar el polvo como en el ejemplo 1, se añade más cantidad del componente insoluble en agua a la fase liquidocristalina. De tal modo, se obtiene una denominada microemulsión de agua en aceite, en la que existen cristales de hidroxiapatita en pequeñas gotas de agua en la disolución, aproximadamente de 10 nm de diámetro. La cantidad de disolvente que se añade es importante con el fin de conservar la microemulsión. Si se añade demasiado disolvente, precipitará y sedimentará la hidroxiapatita. En la fórmula con p-xileno y L64 se ha añadido doble cantidad de p-xileno en comparación con el peso de la fase liquidocristalina con el fin de obtener una microemulsión:

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

Cuando se sumerge un metal tal como titanio en la disolución, la hidroxiapatita se unirá al metal, junto con el surfactante y el disolvente orgánico. Después de la inmersión, se seca la muestra durante media hora, de modo que se evapora el disolvente orgánico. A medida que se quema posteriormente el surfactante a 550°C en 5 minutos, solo queda hidroxiapatita pura. La hidroxiapatita será completamente cristalina y además tendrá una alta área superficial específica. Con otros métodos, tales como bombardeo catódico de plasma, se obtiene una gruesa capa de hidroxiapatita parcialmente amorfa junto con una baja superficie específica. Este tratamiento térmico se lleva a cabo en un denominado horno de tipo tubular, fluyendo gas nitrógeno más allá de la muestra e impidiendo de ese modo la oxidación adicional de la superficie de titanio.

El método anterior de producción de un recubrimiento de HA puede describirse brevemente de la siguiente manera:

1. Se produce la fase liquidocristalina y
2. se pone en una atmósfera de amoníaco durante 4 días.
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 liquidocristalina en la superficie
5. Se pone la superficie en un horno bajo gas nitrógeno durante 5 minutos para la retirada del surfactante

45 Ejemplo 3

Producción de un recubrimiento sobre una superficie - método 2

Se obtiene el recubrimiento diluyendo la fase liquidocristalina, que no se ha tratado en una atmósfera de amoníaco, con un disolvente orgánico que ha de ser insoluble en agua. Se obtiene una microemulsión de agua en aceite, pero puesto que no se ha expuesto la fase liquidocristalina a amoníaco, no están presentes cristales de hidroxiapatita en las gotas de agua de la microemulsión. En su lugar, estas gotas de agua contienen los precursores de calcio y de fósforo. La composición de la microemulsión es idéntica a la del ejemplo 2:

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

El método anterior de producción de un recubrimiento de HA puede describirse brevemente de la siguiente manera:

ES 2 659 811 T3

1. Se produce la fase liquidocristalina y
2. se diluye con un disolvente para crear una disolución de recubrimiento.
- 5 3. Se sumerge la superficie que va a recubrirse en la disolución de recubrimiento y se seca, de modo que se reproduce la fase liquidocristalina en la superficie y
4. se pone en una atmósfera de amoníaco durante 20 minutos.
- 10 5. Se pone la superficie en un horno bajo gas nitrógeno durante 5 minutos para la retirada del surfactante.

15 La principal diferencia entre los dos métodos alternativos de producción de un recubrimiento nanocristalino sobre una superficie es que en el último caso la fase liquidocristalina no se trata con amoníaco durante 4 días. En su lugar, se trata la superficie con amoníaco después de la inmersión, se eleva el pH y se deposita HA sobre la superficie. La etapa final de retirar los surfactantes en un horno es igual en ambos métodos. Los métodos proporcionan el mismo resultado, pero el último método se realiza en un tiempo más corto.

20 Es posible recubrir otras superficies distintas a superficies de metal con hidroxiapatita siempre que haya una capa de óxido sobre la superficie (si no, la hidroxiapatita en la microemulsión no se unirá satisfactoriamente al sustrato) y que el material resista el tratamiento térmico. Los ejemplos de materiales susceptibles de recubrirse con HA incluyen metales tales como acero inoxidable y titanio, y cerámicas tales como óxido de zirconio y vidrio habitual.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Sustrato que comprende fosfato de calcio cristalino de tamaño nanométrico sintético que tiene un área superficial específica en el intervalo de $50 \text{ m}^2/\text{g}$ a $300 \text{ m}^2/\text{g}$ en forma de un recubrimiento sobre una superficie del sustrato, en el que el recubrimiento tiene un grosor menor de o igual a 100 nm.
2. Sustrato según la reivindicación 1, en el que el fosfato de calcio es hidroxiapatita.
- 10 3. Sustrato según la reivindicación 1 ó 2, en el que el área superficial específica está en el intervalo de $150 \text{ m}^2/\text{g}$ a $300 \text{ m}^2/\text{g}$.
4. Sustrato según la reivindicación 1 ó 2, en el que el área superficial específica está en el intervalo de $180 \text{ m}^2/\text{g}$ a $300 \text{ m}^2/\text{g}$.
- 15 5. Sustrato según la reivindicación 1 ó 2, en el que el área superficial específica se selecciona de $180 \text{ m}^2/\text{g}$, $220 \text{ m}^2/\text{g}$ y $280 \text{ m}^2/\text{g}$.
- 20 6. Sustrato según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que la superficie es una superficie de metal.
7. Sustrato según la reivindicación 6, en el que la superficie de metal es una superficie de titanio.
8. Sustrato según cualquier reivindicación anterior, en el que los cristales del fosfato de calcio tienen un tamaño de partícula promedio de 1-10 nm de diámetro y 20-40 nm de longitud.
- 25 9. Sustrato según una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 8, en el que la razón de calcio con respecto a fósforo en el fosfato de calcio es de 1,67.

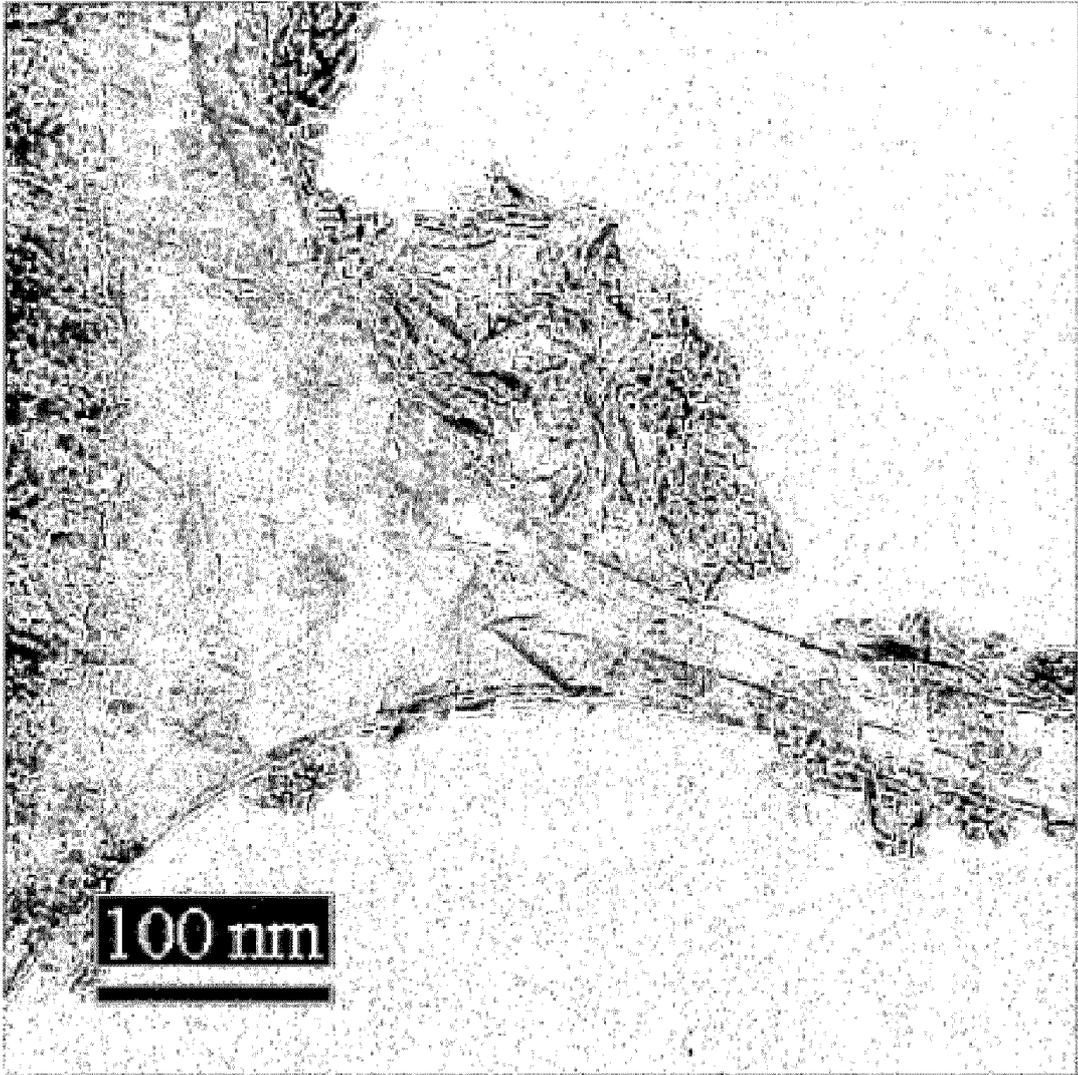


Fig. 1

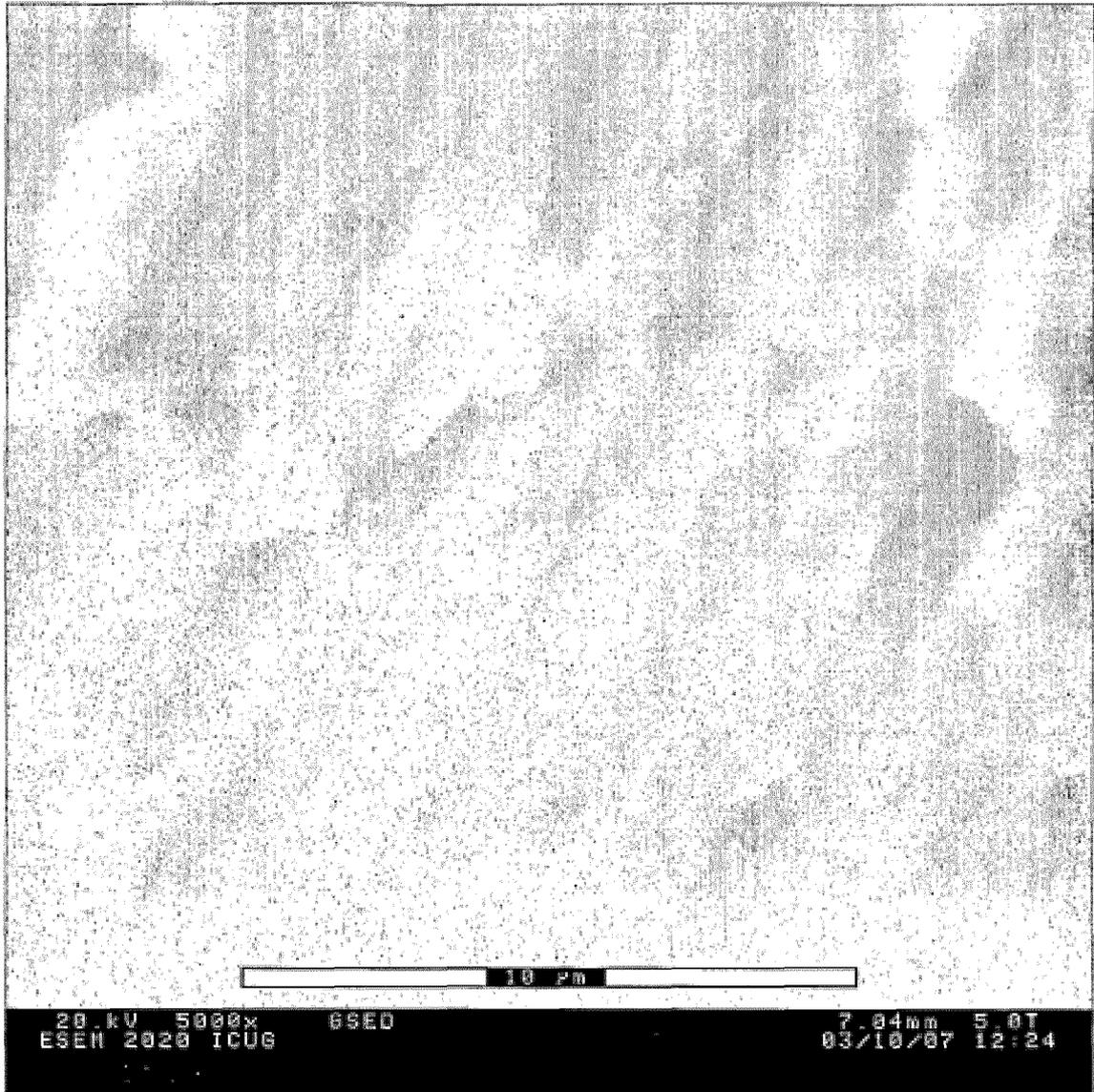


Fig. 2

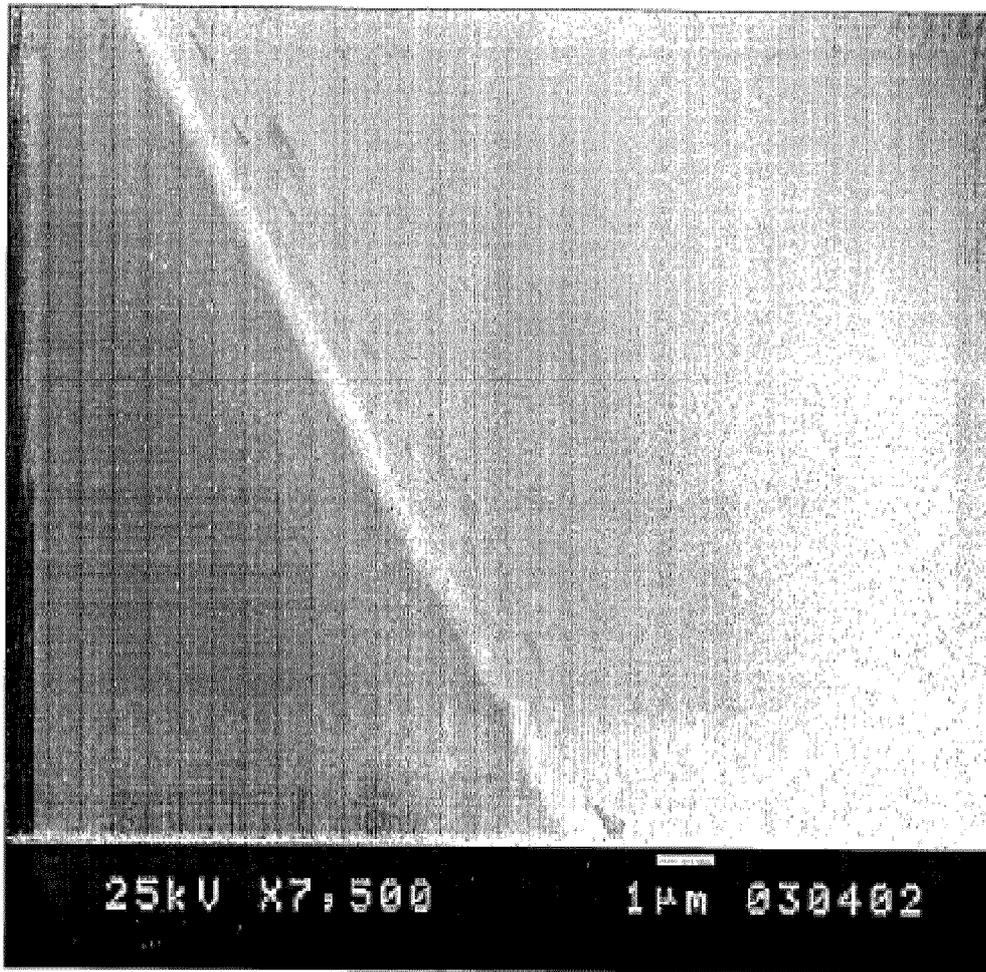


Fig. 3

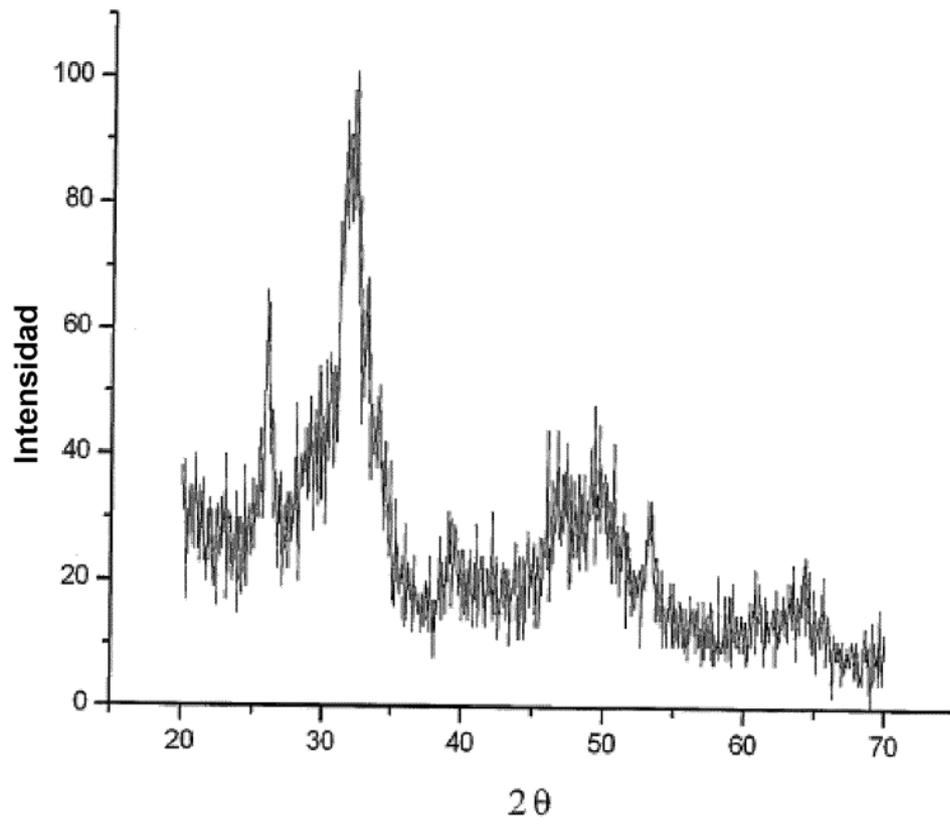


Fig. 4