

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 740 973**

51 Int. Cl.:

**C01B 25/32** (2006.01)

**A61L 27/12** (2006.01)

**A61F 2/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.06.2007 PCT/EP2007/055642**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.12.2007 WO07141324**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.06.2007 E 07730001 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2019 EP 2035331**

54 Título: **Hidroxiapatita nanométrica y sus suspensiones, su preparación y uso**

30 Prioridad:

**08.06.2006 IT FI20060139**

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

**07.02.2020**

73 Titular/es:

**COLOROBIA ITALIA S.P.A. (100.0%)  
Via Pietramarina, 53  
50059 Vinci FI - Frazione Sovigliana, IT**

72 Inventor/es:

**BALDI, GIOVANNI y  
BITOSI, MARCO**

74 Agente/Representante:

**RUO , Alessandro**

ES 2 740 973 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**

Hidroxiapatita nanométrica y sus suspensiones, su preparación y uso

**5 Campo de la invención**

**[0001]** La presente invención se refiere al campo de materiales en forma nanométrica, y en particular a suspensiones de dichos materiales en disolventes líquidos.

**10 Estado de la técnica**

**[0002]** Uno de los objetivos más importantes de la investigación en el campo de los biomateriales es el desarrollo de composiciones sólidas utilizables como materiales para tratar lesiones óseas o construir prótesis óseas.

**[0003]** A este respecto, los materiales cerámicos basados en calcio y fosfato han despertado un interés particular, en vista de sus propiedades bioactivas y biocompatibles.

**[0004]** Los materiales mencionados incluyen hidroxiapatita, fosfato de octacalcio [OCP,  $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6$ ], fosfato de tricalcio [TCP,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ], fosfato de dicalcio dihidratado [DCPD,  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ] y fosfato de dicalcio [DCP,  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ]. De los compuestos mencionados, la hidroxiapatita y el fosfato de tricalcio son los elementos casi siempre usados como sustitutos óseos.

**[0005]** La hidroxiapatita (HAP) estequiométrica se representa por la fórmula química  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  con una relación de átomos de calcio/fósforo de 1,67. Este material se usa principalmente para producir huesos y dientes artificiales, e injertos óseos, dentales y ortopédicos, etc.

**[0006]** El artículo "Influence of ethylene glycol on the formation of calcium phosphate nanocrystals", Yi Zuo et al., Journal of Materials Science and Technology, Editorial Board China, vol. 19, no. 6 (2003), páginas 628-630, describe una vía de síntesis de fosfato de calcio usando hidróxido de calcio  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y  $\text{H}_3\text{PO}_4$  como reactivos en etilenglicol como disolvente, a un valor de pH de 7,0-8,0.

**[0007]** El artículo "The Effect of Different Surface Modification Agents on the Dispersion of Nano-Hydroxyapatite (n-HA) Crystallites", Y.M. Jiang et al., Key Engineering Materials, Vols. 284-286, pp. 55-58, 2005, describe un proceso en el que se producen primero nanopartículas de HA a partir de soluciones acuosas de nitrato de calcio y  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  con un pH ajustado entre 11-12, sin compuesto orgánico usado durante la preparación; las partículas así obtenidas se suspenden entonces en disolventes orgánicos, tales como DMF o PLA, con la ayuda de tensioactivos poliméricos miscibles con agua tales como PEG 6000 (MW 6000 Da).

**[0008]** Aunque se conocen bien las propiedades biocompatibles y bioactivas de la hidroxiapatita micrométrica, tiene el inconveniente de ser muy poco biorreabsorbible y, por tanto, de ralentizar la regeneración ósea. Se puede mejorar la reabsorbibilidad de HAP con agentes dopantes iónicos o reduciendo los cristales hasta un tamaño nanométrico.

**[0009]** Por tanto, sería de gran importancia ser capaces de proporcionar una hidroxiapatita que, una vez usada en implantes óseos, fuera biorreabsorbible y, por tanto, se sustituyera con el tiempo por hueso natural regenerado.

**Breve descripción de las figuras****[0010]**

Fig. 1 y 2 - Muestran respectivamente imágenes de STEM y FEG de las nanopartículas en suspensión.  
 Fig. 3 - Muestra una imagen de FEG de agregados de forma esferoide de 5  $\mu\text{m}$  de tamaño.  
 Fig. 4 - Muestra una imagen de FEG de subestructuras redondeadas de 1000 nm de tamaño.  
 Fig. 5 - Análisis de DLS de la suspensión de hidroxiapatita obtenida directamente a partir de la síntesis.  
 Fig. 6 - Análisis de DLS del polvo de hidroxiapatita secado por secado por pulverización, luego resuspendido en agua.

**Descripción detallada de la invención**

**[0011]** La presente invención permite vencer los problemas mencionados en virtud de una hidroxiapatita en forma de partículas nanométricas que se pueden suspender fácilmente en disolventes líquidos y luego usar en implantes óseos.

**[0012]** La invención también se refiere a un proceso de preparación de hidroxiapatita en forma nanométrica y a su uso en implantología ósea.

**[0013]** Según la presente invención, la hidroxiapatita tiene la fórmula estequiométrica  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , posiblemente dopada con átomos de Mg, Si, Ti, Ce, Zn, Ag. En el caso de hidroxiapatita dopada, los átomos mencionados están preferentemente presentes en una cantidad igual o inferior a 4 % en peso sobre el peso total.

5 **[0014]** La hidroxiapatita según la invención comprende partículas que tienen dimensiones entre 60 y 150 nm de longitud y entre 10 y 60 nm de anchura, preferentemente entre 80 y 100 nm de longitud y entre 20 y 40 nm de anchura. Las partículas mencionadas se suspenden preferentemente en disolventes adecuados, es decir, glicoles tales como monopropilenglicol, dietilenglicol, polietilenglicol, polipropilenglicol, etc.

10 **[0015]** Las suspensiones mencionadas se obtienen directamente durante el proceso de preparación de nanopartículas de hidroxiapatita.

**[0016]** Según la invención, las partículas de hidroxiapatita se preparan preferentemente a partir de una solución acuosa de un precursor apropiado tal como acetato de calcio u otra sal inorgánica de calcio, a la que se añade un disolvente de tipo dietilenglicol (DEG; P.e. = 240 °C), monopropilenglicol (PG; P.e. = 198 °C) o polietilenglicol 200-600 (PEG 200-600; P.e. = 250 °C) que tiene una capacidad de complejación con partículas de HAP.

**[0017]** Entonces se añade ácido fosfórico a la solución transparente mencionada, seguido por un agente básico para mantener el pH aproximadamente en la neutralidad.

20 **[0018]** Finalmente, se calienta la suspensión opalescente obtenida, preferentemente hasta entre 50 °C y 120 °C, durante el tiempo necesario para el crecimiento de los núcleos generados en la fase en la que se vuelve opalescente la suspensión, siendo el tiempo normalmente entre 8 y 24 horas.

25 **[0019]** Las partículas obtenidas en suspensión tienen dimensiones entre 80 y 100 nm de longitud y entre 20 y 40 nm de anchura, y permanecen en suspensión sin precipitar o flocular. Si se prefiere, se pueden obtener polvos a partir de la suspensión de nanopartículas secando por secado por pulverización o por centrifugación, posterior filtración a vacío, lavando con agua y acetona, luego secando en estufa a 100 °C. Los polvos se podrían resuspender posiblemente en un disolvente adecuado (tal como agua, líquido fisiológico, etc.); en esta operación, los agregados se redispersan sorprendentemente en el momento de uso en las partículas nanométricas de las que están compuestos.

**[0020]** Los precursores mencionados incluyen, por ejemplo, sales de Ca o Mg solubles en agua tales como acetatos, cloruros, nitratos, hidróxidos, mientras que los disolventes de complejación preferidos son glicoles tales como dietilenglicol o monopropilenglicol.

35 **[0021]** Para mantener el pH constante a valores de aproximadamente 7, se pueden usar bases adecuadas tales como una solución al 32 % de amoníaco, así como soluciones de fosfato de amonio  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  0,1 - 0,3 M y NaOH 0,1 - 2,5 M.

40 **[0022]** Según una realización particular de la invención, las suspensiones que se han mencionado se pueden secar por pulverización para permitir que se obtengan partículas esféricas de aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  de diámetro junto con subestructuras redondas de aproximadamente 80-100 nm compuestas a su vez de estructuras más pequeñas de 10-20 nm de tamaño, como se muestra en las imágenes (Fig. 3-4).

45 **[0023]** El secado por pulverización se realiza con una temperatura de entrada del aire de 240 °C y una temperatura de salida de 160 °C. Además de regular con precisión los parámetros de proceso, esto permite retirar disolventes de alto punto de ebullición (P.e. > 200 °C) y obtener sorprendentemente polvos que consisten en agregados blandos de forma y tamaño controlados. La destacada característica de estos agregados es que, una vez suspensos en disolventes adecuados tales como agua, glicoles, alcoholes, etc., por ejemplo por alta energía (por ejemplo, ultrasonidos), mezcladura o dispersión, dan lugar a la suspensión original de nanopartículas (Figs. 5-6).

**[0024]** La hidroxiapatita así obtenida en virtud de su distintiva morfología es adecuada para procesos de sinterización para preparar armazones, etc.

## 55 Ejemplo 1

### Síntesis de hidroxiapatita (2,4 % p/p de suspensión concentrada)

#### 60 Etapa 1

**[0025]** Se disuelven 6 g de  $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  (Riedel-de Haen, igual a 93 % p/p de  $\text{Ca}(\text{Ac})_2$ ) equivalentes a 0,036 moles de  $\text{Ca}^{2+}$  en 24 ml de agua en un matraz de 500 mL equipado con un agitador, sonda de temperatura y condensador de bulbo provisto de un grifo para la destilación. Entonces se añaden 120 g de dietilenglicol (DEG). Se añaden lentamente 2,46 g de una solución de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (Aldrich, solución al 85 % p/p) igual a 0,0216 moles de P a la solución transparente así obtenida. Después de añadir  $\text{H}_3\text{PO}_4$  se observó una ligera opalescencia a pH 6. Se

## ES 2 740 973 T3

aumentó el valor de pH hasta 7 añadiendo lentamente 6 mL de una solución al 32 % de  $\text{NH}_3$  (Merck). El sistema se mantuvo bajo agitación durante 16 horas a una temperatura de 80 °C, obteniéndose una suspensión blanca amarillenta de pH 6-7.

5 **[0026]** El material obtenido tiene una relación de Ca/P de 1,67/1 y un contenido de  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  de 2,4 % p/p.

**[0027]** La suspensión es estable incluso a concentraciones superiores a 2,4 % p/p de HAP, hasta 8 % p/p de HAP. Estas se obtuvieron mediante destilación a vacío.

10 Etapa 2

### Obtención de polvo de hidroxiapatita

15 **[0028]** Se secó la suspensión obtenida en la Etapa 1 usando una secadora de pulverización modificada para obtener altas temperaturas y con los siguientes ajustes: Entrada 250 °C; aspirador 100 %; velocidad de la bomba 10%; velocidad de flujo 50 mm.

20 **[0029]** Se recoge un polvo blanco en el ciclón. Este polvo consiste en agregados blandos de nanocristales de HAP (foto 6) fácilmente redispersables en líquidos tales como agua, alcoholes, glicoles.

**REIVINDICACIONES**

- 5
1. Proceso de preparación de una suspensión de hidroxiapatita en forma de partículas nanométricas **caracterizado por que** comprende las siguientes etapas:
- añadir dietilenglicol, monopropilenglicol o polietilenglicol de peso molecular en el intervalo 200-600 a una solución acuosa de acetato de calcio;
  - añadir ácido fosfórico a la solución transparente así obtenida, luego añadir un agente básico para mantener el pH en aproximadamente la neutralidad, seguido por calentar la suspensión opalescente así obtenida hasta entre
- 10 50 °C y 120 °C durante el tiempo necesario para el crecimiento de los núcleos previamente generados;
- dejar que se enfríe la suspensión.
2. Proceso según la reivindicación 1, en donde se usa dietilenglicol en la primera etapa.
- 15 3. Proceso según las reivindicaciones 1 y 2, en donde dicho agente básico se elige de: solución al 32 % de amoniaco, solución 0,1 - 0,3 M de fosfato de amonio (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> y NaOH 0,1 - 2,5 M.
4. Proceso según las reivindicaciones 1 a 3, que comprende además las etapas de:
- secar la suspensión resultante para obtener agregados de partículas nanométricas de hidroxiapatita;
  - resuspender los agregados secos así obtenidos de partículas nanométricas en un disolvente seleccionado entre agua y un líquido fisiológico, obteniéndose una suspensión de dichas partículas nanométricas de hidroxiapatita.
- 20
5. Suspensión de hidroxiapatita en forma de partículas nanométricas obtenidas del proceso según la reivindicación 1.
- 25
6. Suspensión de hidroxiapatita según la reivindicación 5, en donde dichas partículas tienen dimensiones entre 60 y 150 nm de longitud y entre 10 y 60 nm de anchura.
- 30
7. Suspensión de hidroxiapatita según la reivindicación 6, en donde dichas partículas tienen dimensiones entre 80 y 100 nm de longitud y entre 20 y 40 nm de anchura.
- 35
8. Uso de una suspensión de hidroxiapatita según las reivindicaciones 5 a 7 como material para tratar lesiones óseas o construir prótesis óseas.

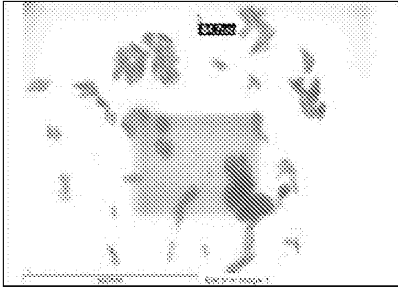


Fig. 1

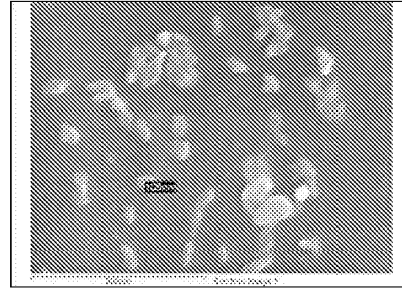


Fig. 2

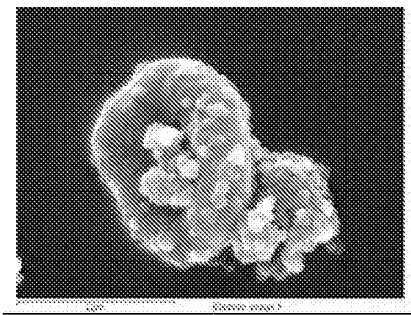


Fig. 3

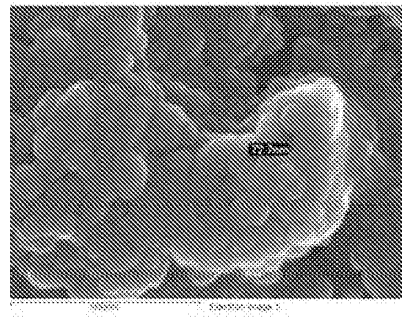


Fig. 4

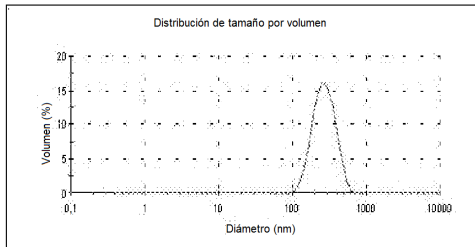


Fig. 5

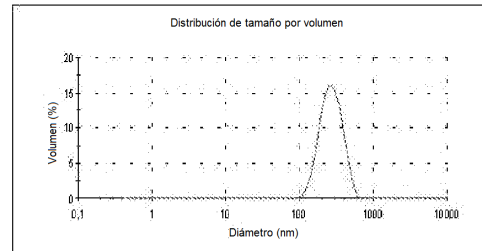


Fig. 6