



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 357 191**

51 Int. Cl.:  
**A61L 27/46** (2006.01)  
**A61L 27/42** (2006.01)  
**A61L 27/56** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08776302 .5**  
96 Fecha de presentación : **27.06.2008**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2167150**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **31.03.2010**

54 Título: **Material compuesto poroso, correspondiente proceso de preparación y su uso para realizar dispositivo para ingeniería tisular.**

30 Prioridad: **29.06.2007 IT MI07A1298**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**19.04.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**19.04.2011**

73 Titular/es: **ALMA MATER STUDIORUM - Università di Bologna**  
**Via Zamboni, 33**  
**40126 Bologna, IT**  
**Istituto Ortopedico Rizzoli**

72 Inventor/es: **Bigi, Adriana;**  
**Panzavolta, Silvia;**  
**Giardino, Roberto y**  
**Fini, Milena**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 357 191 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

La presente invención se refiere a un material compuesto poroso, a su correspondiente proceso de preparación y a su uso para la regeneración ósea y/u osteocartilaginosa y para la realización de dispositivos para ingeniería tisular.

5 Como es sabido, el tejido óseo es un material compuesto biomineralizado sumamente complejo, constituido principalmente por componentes inorgánicos tales como, por ejemplo, hidroxiapatita (HA) y agua (70-80%), y por componentes orgánicos tales como, por ejemplo, colágeno de tipo I, proteoglicanos y otras proteínas no colágenas (20-30%). Durante la formación del hueso, sobre el componente orgánico en su forma fibrosa se acumulan y se asocian íntimamente nanocristales de hidroxiapatita de baja cristalinidad, de manera tal de formar un material compuesto nanoestructurado con excelentes propiedades mecánicas y elásticas.

10 La carencia de hueso y la correspondiente necesidad de reintegrar el volumen desaparecido o la necesidad de incrementar el volumen existente constituye un gran desafío en el campo ortopédico, maxilofacial y neuroquirúrgico. Como sustitutos óseos han sido estudiados y propuestos varios biomateriales, los cuales deben demostrar elevadas propiedades de biocompatibilidad y al mismo tiempo características biomiméticas tales de activar mecanismos biológicos con tejidos óseos anfitriones y sus componentes celulares, promoviendo los procesos de nueva formación y de consolidación ósea. Una vez completada esta función, usualmente esos materiales vienen reabsorbidos en su totalidad, dejando espacio exclusivo al hueso de nueva formación. Este proceso de regeneración normalmente viene indicado como "regeneración ósea guiada".

15 Por ejemplo, en la solicitud de patente de invención internacional WO 03/071991 se describe una matriz porosa, que se puede emplear como material para regeneración ósea, que se compone de un polímero fibrilar, insoluble en agua, en particular un colágeno insoluble, un derivado de colágeno o un derivado de gelatina modificada, mineralizado con fosfato de calcio. El biopolímero se puede utilizar mezclado con un ligando soluble en agua, por ejemplo colágeno soluble, gelatina, ácido poliláctico, ácido poliglicólico y otros. La mineralización ha sido obtenida tratando las fibras poliméricas con una solución acuosa de iones de calcio e iones de fosfato con un pH básico. Luego el ligando soluble en agua ha sido agregado y mezclado con la solución acuosa de biopolímero mineralizada; sucesivamente la mezcla obtenida ha sido enfriada y liofilizada. La matriz porosa puede ser reticulada agregando, por ejemplo, glutaraldehído.

20 La solicitud de patente de invención internacional WO 06/031196 da a conocer un compuesto poroso que se compone de un biomaterial y de una carga mineral. El biomaterial puede ser seleccionado a partir de una amplia gama de productos, entre los cuales proteínas (por ejemplo, colágeno, elastina, gelatina y otros), péptidos, polisacáridos. La carga mineral puede ser fosfato de calcio, por ejemplo apatita o apatita sustituida o brucita, fosfato tricálcico, fosfato octacálcico. El biomineral podría ser reticulado con varios agentes reticulantes, tales como acrilamidas, diones, glutaraldehído, acetaldehído, formaldehído o ribosa. El compuesto puede ser preparado mezclando el biomaterial y la carga mineral en agua según los varios métodos, para obtener una suspensión, que luego será liofilizada.

25 El artículo de Chun-Hsu Yao et al. "Calvarial bone response to tricalcium phosphate-genipin crosslinked gelatin composite", *Biomaterials* 26 (2005), páginas 3.065-3.074, describe un estudio sobre la respuesta biológica in vivo de un compuesto biodegradable poroso obtenido a partir de gelatina reticulada con genipina y partículas de cerámica de fosfato tricálcico. Para producir la reticulación de la gelatina, a una solución acuosa de gelatina, en una proporción del 18% del peso, se ha agregado una solución acuosa de genipina, en una proporción del 0,5% del peso. Posteriormente, se ha agregado fosfato tricálcico bajo la forma de partículas con un tamaño de 200-300  $\mu\text{m}$  (Merck). Después de la solidificación, el compuesto ha sido congelado a  $-80^{\circ}\text{C}$  y liofilizado.

30 En el artículo de Yoshitake Takahashi et al. "Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in biodegradable sponges composed of gelatin and  $\beta$ -tricalcium phosphate", *Biomaterials* 26 (2005), páginas 3.587-3.596, se describe la preparación de materiales porosos biodegradables que se componen de gelatina y fosfato  $\beta$ -tricálcico y su uso para la diferenciación osteogénica in vitro de células estaminales mesenquimales. Esos materiales han sido preparados por reticulación de gelatina con glutaraldehído en presencia de fosfato  $\beta$ -tricálcico y posterior liofilización.

35 En el artículo de Hae-Won Kim et al. "Stimulation of osteoblast responses to biomimetic nanocomposites of gelatin-hydroxyapatite for tissue engineering scaffolds", *Biomaterials* 26 (2005), páginas 5.221-5.230, finalmente se refiere a un estudio sobre la respuesta in vitro de células osteoblásticas en presencia de un nanocompuesto a base de colágeno/hidroxiapatita. El nanocompuesto ha sido preparado mediante coprecipitación de hidroxiapatita con una solución de gelatina y posterior liofilización. La hidroxiapatita puede ser obtenida agregando iones de calcio e iones de fosfato a la solución de gelatina o bien mezclando directamente hidroxiapatita en polvo con la solución de gelatina.

40 Los solicitantes se han puesto el objetivo de obtener un material compuesto poroso a usar para acelerar la regeneración ósea y/u osteocartilaginosa, que exhiba una adecuada velocidad de reabsorción in vivo, proporcionada a los procesos de rápida formación de nuevo tejido, de modo que dicho material compuesto sea sumamente adecuado para llevar a cabo técnicas de regeneración ósea y/u osteocartilaginosa y realizar dispositivos para ingeniería tisular.

5 Los solicitantes sorprendentemente han hallado que este problema puede ser resuelto mediante un material compuesto poroso según lo descrito en las reivindicaciones que están más adelante, donde hay al menos un biopolímero interdisperso que tiene un componente mineral calcio-fosfático que comprende, en términos de peso, del 50% al 95% de fosfato  $\alpha$ -tricalcico ( $\alpha$ -TCP,  $\alpha$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) y, siempre en términos de peso, del 5% al 50% de fosfato octocalcico (OCP, Ca<sub>8</sub>H<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>·5H<sub>2</sub>O) con respecto al peso total del componente mineral. Dicha combinación de  $\alpha$ -TCP y OCP permite una mayor velocidad de reabsorción in vivo y, por lo tanto, una más rápida formación de nuevo tejido óseo con un componente mineral de baja cristalinidad con estructura nanocristalina, dichas características siendo muy similares a las características de las apatitas biológicas.

10 Por consiguiente, de conformidad con un primer aspecto, la presente invención se refiere a un material compuesto poroso que comprende al menos un biopolímero interdisperso con un componente mineral que comprende, en términos de peso, del 50% al 95% de fosfato  $\alpha$ -tricalcico ( $\alpha$ -TCP) y del 5% al 50% de fosfato octocalcico (OCP), con respecto al peso total del componente mineral.

15 Preferentemente, el componente mineral comprende, en términos de peso, del 60% al 85% de  $\alpha$ -TCP y del 15% al 40% de OCP. Más preferentemente, el componente mineral comprende, en términos de peso, del 70% al 80% de  $\alpha$ -TCP y del 20% al 30% de OCP.

Preferentemente, el biopolímero es una proteína o un polisacárido. Mejor aún, el biopolímero es una proteína soluble en agua, en particular una gelatina de origen animal obtenida, por ejemplo, por extracción de un tejido biológico como, por ejemplo, músculo, tejido conectivo, por ejemplo, hueso, tendón, ligamento o cartílago, o bien piel o dermis.

20 Preferentemente el material compuesto poroso comprende, en términos de peso, del 30% al 99%, más preferentemente del 55% al 95%, de dicho al menos un biopolímero, y, siempre en términos de peso, del 1% al 70%, más preferentemente del 5% al 45% del componente mineral según se ha definido arriba, el porcentaje siendo expresado con relación al peso total del material compuesto poroso.

25 De conformidad con otro aspecto, la presente invención se refiere a un proceso para preparar un material compuesto poroso como el dado a conocer arriba que comprende las etapas operativas de:

- mezclar al menos un biopolímero con un componente mineral que substancialmente se compone de fosfato  $\alpha$ -tricalcico ( $\alpha$ -TCP) en un medio acuoso de modo de obtener una espuma;
- hacer reposar la espuma obtenida de esta manera por un tiempo suficiente para obtener la gelificación del biopolímero;
- 30 - enfriar la espuma hasta una temperatura menor que -20°C, preferentemente menor que -90°C;
- liofilizar la espuma enfriada.

De conformidad con otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un material compuesto poroso como el dado a conocer arriba como un material para la regeneración ósea y/u osteocartilaginosa.

35 De conformidad con otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un material compuesto poroso como el dado a conocer arriba como un material para la producción de dispositivos para ingeniería tisular.

De conformidad con otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un material compuesto poroso como el dado a conocer arriba como un sustituto óseo y/u osteocartilaginosa (scaffold).

40 De conformidad con el proceso según la presente invención, la combinación de  $\alpha$ -TCP y OCP como se ha definido arriba se logra a partir de  $\alpha$ -TCP puesto que el  $\alpha$ -TCP en un ambiente acuoso viene parcialmente hidrolizado a OCP. Al respecto, ver el artículo de A. Bigi et al. "α-Tricalcium phosphate hydrolysis to octacalcium phosphate: effect of sodium polyacrylate", Biomaterials 23 (2002), páginas 1.849-1.854.

45 Cabe hacer notar que tal resultado no es posible obtenerlo a partir de otros fosfatos de calcio, por ejemplo a partir de  $\beta$ -TCP, que es una forma cristalográfica de TCP completamente diferente al  $\alpha$ -TCP, y tampoco a partir de hidroxiapatita, que es el constituyente principal de los productos comerciales genéricamente comercializados como TCP, como ha sido demostrado a partir de la experimentación llevada a cabo por los solicitantes y descrita a continuación.

50 De conformidad con una realización preferida, dicho al menos un biopolímero presente en el material compuesto poroso de conformidad con la presente invención viene reticulado. Por consiguiente, es posible modular la característica de alta resistencia mecánica a la presión y mayor resistencia a la degradación en función de las necesidades de aplicación.

La reticulación del biopolímero puede ser obtenida agregando, durante la preparación, al menos un agente reticulante. El agente reticulante puede ser seleccionado, por ejemplo, a partir de: amidas, tales como acrilamida; aldehídos, tales como glutaraldehído; diones.

Un agente reticulante muy preferido es la genipina, un producto natural biodegradable que tiene una citotoxicidad muy baja. La genipina es el producto de hidrólisis de geniposide, normalmente obtenida a partir de la fruta de gardenia (*Gardenia jasminoides* Ellis).

5 El agente reticulante viene agregado al medio acuoso donde están dispersados el biopolímero y el  $\alpha$ -TCP, agitando por un tiempo suficiente para obtener la reticulación del biopolímero. La cantidad de agente reticulante normalmente va, en términos de peso, del 0,5% al 5%, preferentemente del 1,5% al 3,0%, con respecto al peso del biopolímero.

Antes del enfriamiento y liofilización, a la espuma obtenida se la deja reposar por un tiempo suficiente para lograr la gelificación del biopolímero.

10 Para modular la forma y el tamaño del material final de manera que sea adecuado para el uso deseado, la fase de gelificación puede ser llevada a cabo en un molde adecuadamente configurado. Con lo cual se minimizan los desechos. Alternativamente, para obtener la forma y las dimensiones deseadas, es posible cortar el material después de la liofilización.

15 La fase de liofilización puede ser llevada a cabo usando técnicas conocidas, a una temperatura normalmente no superior a  $-20^{\circ}\text{C}$ , preferentemente entre  $-40^{\circ}\text{C}$  y  $-60^{\circ}\text{C}$ , por un período de tiempo generalmente no inferior a 18 horas, preferentemente comprendido entre 24 horas y 3 días, bajo condiciones de presión reducida, normalmente menor que 10 milibares, preferentemente comprendida en el intervalo de 0,1 a 1,0 milibar.

20 El material compuesto de conformidad con la presente invención exhibe una estructura porosa con un tamaño medio de las partículas comprendido entre 1 y 500  $\mu\text{m}$ . Mediante análisis con SEM (Scanning Electron Microscope, en castellano microscopio electrónico de exploración), la estructura porosa exhibe macroporosidad y microporosidad, con macroporos interconectados que tienen un tamaño medio de las partículas comprendido entre 100 y 200  $\mu\text{m}$ . Las paredes de los macroporos son microporosas, el tamaño medio de las partículas de los microporos siendo de unos pocos  $\mu\text{m}$ .

25 El material compuesto poroso de conformidad con la presente invención puede comprender células para ingeniería tisular in situ e/o in vitro. Esas células, diferenciadas (tales como osteoblastos, osteocitos, condroblastos, condrocitos) e/o indiferenciadas (tales como células estaminales mesenquimales) autólogas u homólogas, pueden ser asociadas con el material compuesto poroso durante la fase de implante quirúrgico o pueden ser cultivadas sobre el mismo para obtener estructuras tecnológicas in vitro que posteriormente serán implantadas in vivo. Al material compuesto poroso se le pueden asociar factores de crecimiento u otras proteínas y/o estimuladores biológicos (sinterizados y biológicos, autólogos u homólogos) durante la etapa de su producción, simultáneamente con el implante quirúrgico con o sin células y durante la etapa de dimensionamiento del manufacturado in vitro antes del implante.

30 Enseguida se ilustrará la presente invención a través de algunos ejemplos, que no deberán ser considerados, de ninguna manera, restrictivos del alcance de la invención.

35 A continuación una breve descripción de las figuras anexas:

- la figura 1 ilustra varias ampliaciones de imágenes SEM de un material poroso de gelatina en el cual no está incluido el componente mineral;

40 - las figuras 2, 3, 4 y 5 ilustran varias ampliaciones de imágenes SEM del material compuesto poroso de conformidad con la presente invención, que contiene al componente mineral según una proporción de 9% de peso, 23% de peso (figura 3), 33% de peso (figura 4), 42% de peso (figura 5) respectivamente, con respecto a la cantidad total de material compuesto poroso;

- la figura 6 ilustra un diagrama de difracción de rayos X de polvos de  $\alpha$ -TCP utilizados para la preparación del material compuesto poroso de la presente invención;

45 - las figuras 7, 8, 9 ilustran diagramas de difracción de rayos X de polvos del componente mineral, que está aislado con respecto a los materiales compuestos porosos de la presente invención que contienen al componente mineral en una proporción del 23% de peso (figura 7), 33% de peso (figura 8), 42% de peso (figura 9) respectivamente, con respecto a la cantidad total del material compuesto poroso;

- la figura 10 ilustra un diagrama de difracción de rayos X de polvos  $\beta$ -TCP utilizados para la preparación de un material compuesto poroso según la técnica conocida;

50 - la figura 11 ilustra un diagrama de difracción de rayos X de polvos del componente mineral aislado con respecto al material compuesto obtenido a partir de  $\beta$ -TCP según la técnica conocida, dicho componente mineral estando presente en una cantidad equivalente al 33% de peso, con respecto al peso total del material compuesto poroso.

- la figura 12 ilustra un diagrama de difracción de rayos X de polvos del producto comercial TCP (Merck) utilizado para la preparación de un material compuesto poroso según la técnica conocida;

- la figura 13 ilustra un diagrama de difracción de rayos X de polvos del componente mineral aislado con respecto al material compuesto poroso obtenido a partir del producto comercial TCP (Merck) según la técnica conocida, dicho componente mineral estando presente en una proporción, en términos de peso, del 42% con respecto al peso total del material compuesto poroso.

## 5 EJEMPLOS 1-5

### Materiales empleados

Se ha empleado gelatina de piel de cerdo, obtenida mediante extracción ácida.

El  $\alpha$ -TCP se ha preparado mediante reacción en estado sólido de una mezcla de  $\text{CaCO}_3$  con  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  con una relación molar de 1:2 a  $1.300^\circ\text{C}$  por 5 horas. El producto sólido ha sido molido fino antes de su uso.

## 10 Preparación del material compuesto poroso

La preparación de las varias muestras fue llevada a cabo siguiendo las siguientes etapas operativas:

- a) La gelatina fue disuelta en agua que contenía  $\alpha$ -TCP con concentraciones tales de obtener una cantidad de componente mineral, en el material compuesto final, igual al 9% de peso (Ejemplo 2), al 23% de peso (Ejemplo 3), al 33% de peso (Ejemplo 4) y al 42% de peso (Ejemplo 5). La disolución fue obtenida mediante agitación mecánica a  $40^\circ\text{C}$  por 50 minutos a una velocidad de 1.000 RPM. Al final de la agitación se ha obtenido una espuma.
- b) La espuma fue gelatinizada manteniéndola en un plato de Petri a temperatura ambiente por un tiempo comprendido entre 10 y 40 minutos.
- c) El gel obtenido fue congelado por inmersión en nitrógeno líquido ( $-195^\circ\text{C}$ ) por 10 minutos.
- d) El gel congelado fue liofilizado a  $-50^\circ\text{C}$  por 24 horas a una presión de 1 milibar.

20 Como referencia también se ha preparado un material poroso usando gelatina sin agregar el  $\alpha$ -TCP, siguiendo el mismo método indicado con anterioridad. (Ejemplo 1)

25 En el caso de querer muestras de material compuesto reticulado, después de la etapa (a), es posible agregar una solución acuosa de genipina de modo de obtener una cantidad de genipina equivalente al 1,5% de peso con respecto al peso de la gelatina. Luego, la composición obtenida de esta manera es mantenida bajo agitación por 10 minutos.

### Caracterización de los materiales compuestos

30 Las imágenes de las figuras de 2 a 5 son micrografías SEM del material compuesto poroso según la presente invención que comprende al componente mineral en las siguientes cantidades: 9% de peso (Ejemplo 2, figura 2), 23% de peso (Ejemplo 3, figura 3); 33% de peso (Ejemplo 4, figura 4), 42% de peso (Ejemplo 5, figura 5). Como referencia, la figura 1 exhibe imágenes SEM del material poroso de gelatina según el Ejemplo 1, que no contiene al componente mineral, según varias ampliaciones.

35 Como se puede notar, la estructura porosa exhibe una macro y una microporosidad. Los macroporos, que parecían interconectados, tenían un tamaño medio de partículas de 100-200  $\mu\text{m}$ . Las imágenes no muestran detalles pertenecientes a la fase inorgánica, mostrando una excelente homogeneización de los componentes del material compuesto.

La caracterización de la estructura cristalina del componente mineral fue realizada mediante análisis de difracción de rayos X de polvos, usando un difractómetro PANalytical X'Pert PRO.

40 La figura 6 muestra un diagrama de difracción de rayos X de polvos obtenidos a partir del  $\alpha$ -TCP utilizado para la preparación de muestras de material compuesto poroso. Todos los picos de difracción coinciden con los característicos del  $\alpha$ -TCP (en el diagrama está indicado el file de referencia ICDD del  $\alpha$ -TCP mediante segmentos correspondientes a los picos característicos).

45 La figura 7 muestra un diagrama de refracción de rayos X de polvos obtenidos a partir del componente mineral aislado con respecto al material compuesto (mediante solubilización de gelatina) con un contenido de componente mineral equivalente al 23% de peso inmediatamente después de la liofilización (Ejemplo 3). El diagrama muestra, además de los típicos picos del  $\alpha$ -TCP, la presencia de otros picos de difracción típicos del OCP (en el diagrama el file de referencia ICDD del OCP está indicado mediante segmentos correspondientes a los picos característicos).

Resultados similares se han obtenido para muestras con diferentes contenidos de componente mineral, como se puede ver en la figura 8 (33% de peso, Ejemplo 4) y la figura 9 (42% de peso, Ejemplo 5).

50 La relativa cantidad de las dos fases de  $\alpha$ -TCP y OCP, ha sido calculada por afinación estructural de todo el diagrama de difracción, realizada usando el programa QUANTO. Los datos obtenidos son muy similares para todas las muestras examinadas; y los valores mediatos de materiales compuestos con diferentes contenidos de

componente mineral, examinados en distintos momentos después de la preparación hasta un mes, son  $26 \pm 5\%$  de OCP y  $74 \pm 5\%$  de  $\alpha$ -TCP.

5 Las muestras de materiales compuestos han sido sometidas a presión empleando un dinamómetro INSTRON 4465 provisto de una celda de carga de 1KN con una velocidad de barra de 1 mm/min. Los resultados muestran de qué manera el contenido de componente mineral afecta las propiedades mecánicas bajo presión. En efecto, las propiedades mecánicas aumentan en función del contenido de componente mineral: el valor del esfuerzo bajo presión aumenta desde el valor medio de  $0,08 \pm 2$  MPa, para muestras sin componente mineral, hasta el valor de  $0,21 \pm 3$  MPa para las muestras con un contenido de componente mineral equivalente a 70% de peso. Simultáneamente, el valor del módulo de Young aumenta desde  $0,9 \pm 1$  MPa hasta  $4 \pm 1$  MPa.

10 En dichas muestras de material compuesto fue llevado a cabo un análisis porosimétrico por intrusión empleando los aparatos ThermoFinnigan Pascal 140 y Pascal 240, usando una presión máxima de 240 MPa y un ángulo de contacto mercurio-muestra de  $140^\circ$ . Además, se midió el tamaño de los poros empleando imágenes SEM. Los resultados indican porosidad interconectada debido a micro y macroporos cuyas dimensiones están comprendidas en el intervalo de 1 a 500  $\mu\text{m}$ .

15 EJEMPLOS 6-7 (de conformidad con la técnica conocida)

Han sido llevadas a cabo algunas pruebas de preparación de un material compuesto poroso utilizando los mismos métodos que los descritos arriba para los Ejemplos 1-5, pero usando  $\beta$ -TCP como componente inorgánico, en lugar de  $\alpha$ -TCP (Ejemplo 6) o el producto comercial Merck indicado como TCP (Ejemplo 7).

20 El  $\beta$ -TCP ha sido preparado mediante reacción en estado sólido de una mezcla de  $\text{CaCO}_3$  con  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  con una relación molar 1:2 a  $1.000^\circ\text{C}$  por 15 horas. En la figura 10 se muestra el diagrama de difracción de rayos X del producto objetivo. Todos los picos de difracción coinciden con los característicos del  $\beta$ -TCP (en el diagrama el file de referencia ICDD del  $\beta$ -TCP está indicado mediante segmentos correspondientes a los picos característicos). La figura 11 muestra el diagrama de difracción de rayos X de polvos obtenidos a partir del componente mineral aislado con respecto al material compuesto (por solubilización de gelatina) con un contenido del 33% de peso de componente mineral inmediatamente después de la liofilización. Todos los picos de difracción coinciden con los característicos del  $\beta$ -TCP (también el file de referencia ICDD del  $\beta$ -TCP está indicado mediante segmentos correspondientes a los picos característicos. No se observa una cantidad significativa de OCP y tampoco de  $\alpha$ -TCP.

30 En la figura 12 se muestra el diagrama de difracción de rayos X del producto comercial TCP (Merck). Todos los picos de difracción, en efecto, coinciden con picos característicos de la HA y no del TCP (el file de referencia ICDD de HA está indicado en el diagrama mediante segmentos correspondientes a los picos característicos). La figura 13 muestra el diagrama de difracción de rayos X de polvos obtenidos a partir del componente mineral aislado con respecto al material compuesto (mediante solubilización de gelatina) con un contenido, en términos de peso, del 42% del componente mineral inmediatamente después de la liofilización. Todos los picos de difracción coinciden con los picos característicos de la HA (también en este caso el file de referencia ICDD de HA está indicado en el diagrama mediante segmentos correspondientes a los picos característicos). No se observa una cantidad significativa de OCP y tampoco de  $\alpha$ -TCP.

## REIVINDICACIONES

- 5 1.- Material compuesto poroso que comprende al menos un biopolímero interdisperso con un componente mineral que comprende, en términos de peso, del 50% al 95% de fosfato  $\alpha$ -tricálcico ( $\alpha$ -TCP) y, siempre en términos de peso, del 5% al 50% de fosfato octocálcico (OCP), con respecto al peso total del componente mineral.
- 2.- Material compuesto poroso según la reivindicación 1, donde el componente mineral comprende, en términos de peso, del 60% al 85% de  $\alpha$ -TCP y del 15% al 40% de OCP.
- 3.- Material compuesto poroso según la reivindicación 2, donde el componente mineral comprende, en términos de peso, del 70% al 80% de  $\alpha$ -TCP y del 20% al 30% de OCP.
- 10 4.- Material compuesto poroso según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, donde el componente mineral es obtenido mediante hidrólisis parcial in situ de  $\alpha$ -TCP.
- 5.- Material compuesto poroso según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, donde dicho al menos un biopolímero es una proteína o un polisacárido.
- 15 6.- Material compuesto poroso según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, que comprende, en términos de peso, del 30% al 99%, mejor aún del 55% al 95%, de dicho al menos un polímero, y, siempre en términos de peso, del 1% al 70%, mejor aún del 5% al 45%, del componente mineral.
- 7.- Material compuesto poroso según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, donde dicho al menos un biopolímero es sometido a reticulación.
- 20 8.- Material compuesto poroso según la reivindicación 7, donde dicho al menos un biopolímero viene reticulado empleando genipina.
- 9.- Material compuesto poroso según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, que posee una estructura porosa con tamaño medio de las partículas comprendido en el intervalo de 1 a 500  $\mu$ m.
- 25 10.- Material compuesto poroso según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, que además comprende células diferenciadas e/o indiferenciadas, autólogas u homólogas, factores de crecimiento u otras proteínas y/o estimuladores biológicos.
- 11.- Proceso para preparar un material compuesto poroso según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, que comprende las etapas operativas de:
- mezclar al menos un biopolímero con un componente mineral que esencialmente se compone de fosfato  $\alpha$ -tricálcico ( $\alpha$ -TCP) en un medio acuoso para así obtener una espuma;
  - 30 - dejar reposar la espuma obtenida de esta manera por un tiempo suficiente para obtener la gelificación del biopolímero;
  - enfriar la espuma a una temperatura menor que  $-20^{\circ}\text{C}$ , preferentemente menor que  $-90^{\circ}\text{C}$ ;
  - liofilizar la espuma enfriada.
- 35 12.- Proceso según la reivindicación 11, donde al medio acuoso, además, se le agrega al menos un agente reticulante.
- 13.- Proceso según la reivindicación 12, donde dicho agente reticulante es genipina.
- 40 14.- Proceso según una cualquiera de las reivindicaciones de 11 a 13, donde la etapa de liofilización viene llevada a cabo a una temperatura no superior a  $-20^{\circ}\text{C}$ , preferentemente comprendida entre  $-40^{\circ}\text{C}$  y  $-60^{\circ}\text{C}$ , por un tiempo no inferior a 18 horas, preferentemente entre 24 horas y 3 días, bajo presión reducida, menor que 10 milibares, preferentemente comprendida entre 0,1 y 1,0 milibares.
- 15.- Utilización de un material compuesto poroso según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones de 1 a 10 para la manufacturación de un material para la regeneración ósea y/u osteocartilaginosa.
- 16.- Utilización de un material compuesto poroso según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones de 1 a 10 para la manufacturación de un dispositivo para ingeniería tisular.
- 45 17.- Utilización de un material compuesto poroso según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones de 1 a 10 para la manufacturación de un sustituto óseo y/u osteocartilaginosa.

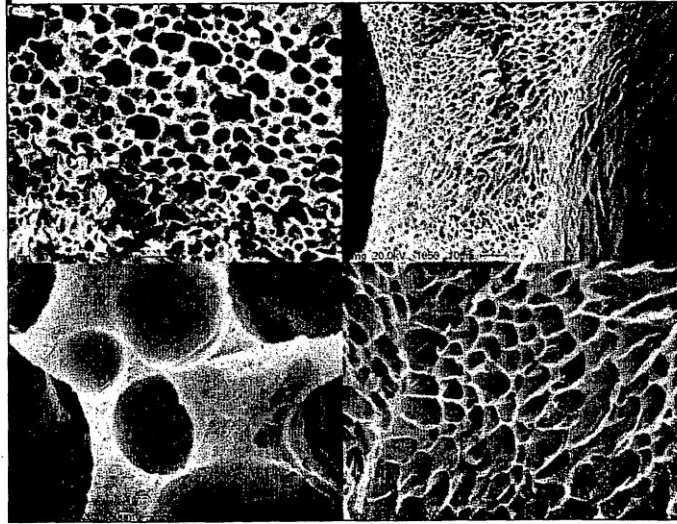


FIG 1



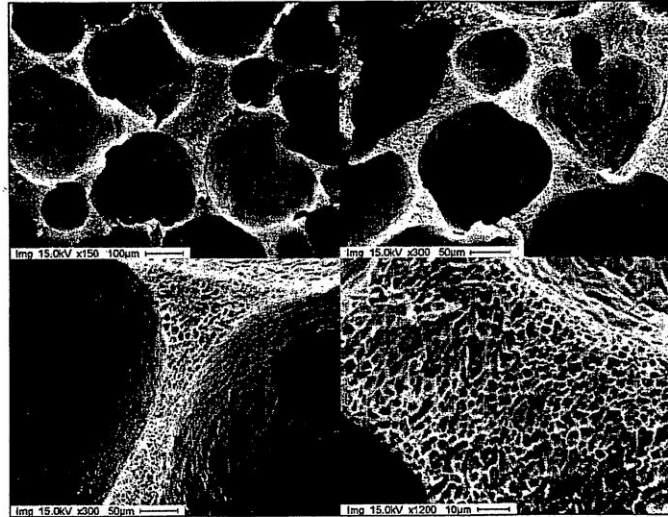


FIG 2

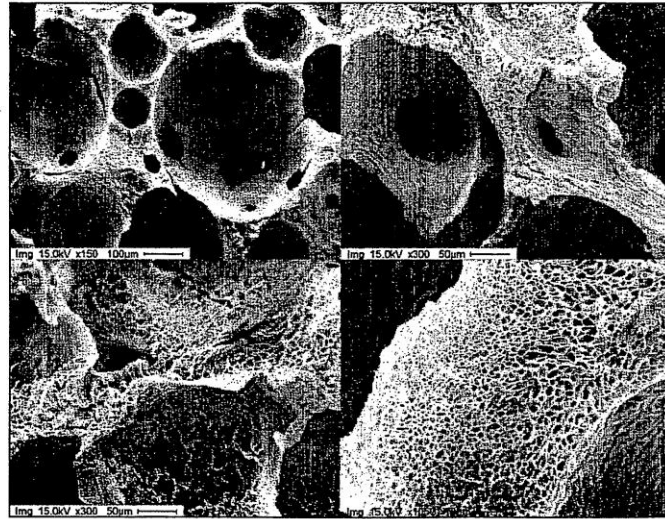


FIG. 3

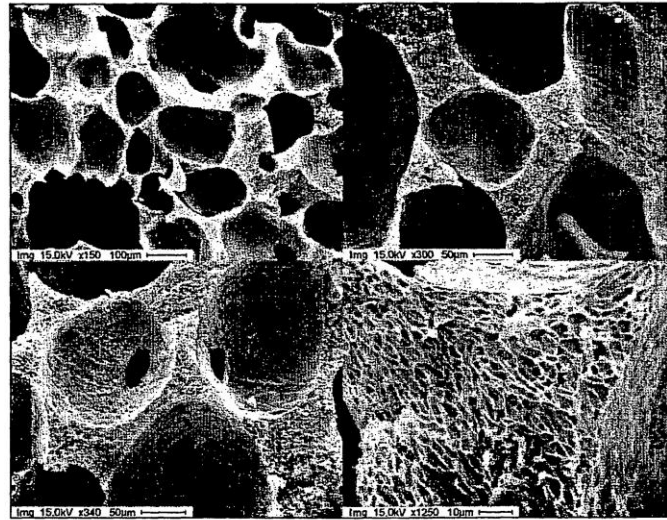


FIG 4

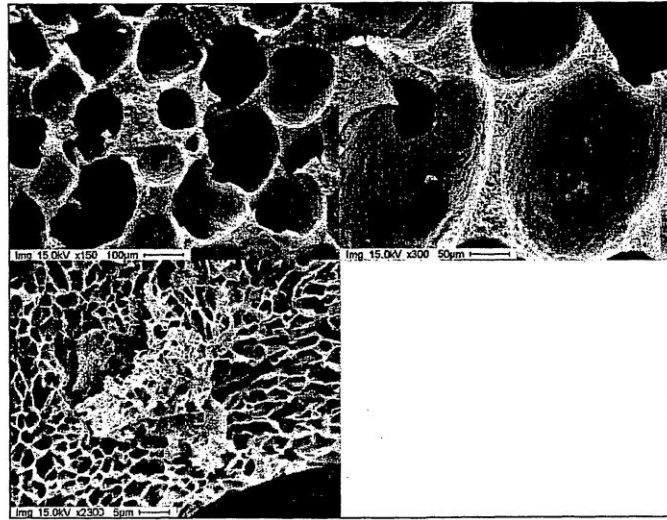


FIG. 5

FIG 6

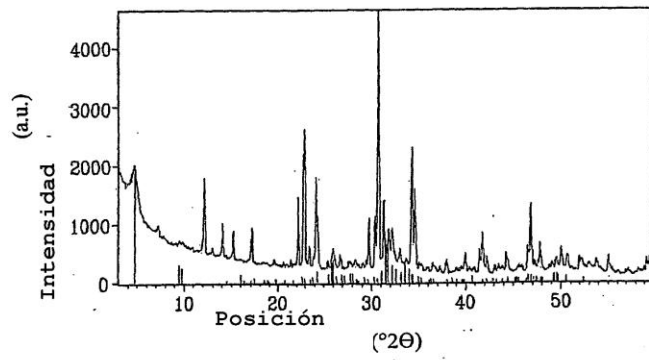
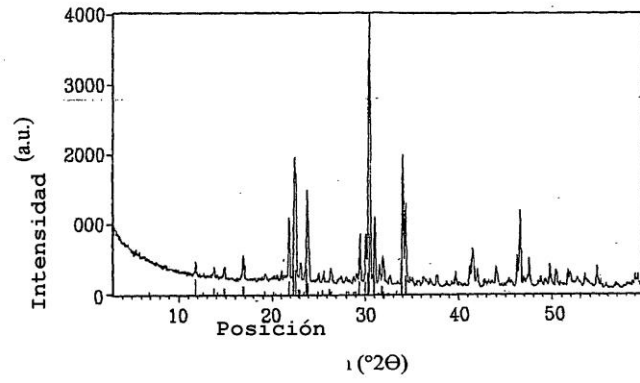


FIG 7

FIG 8

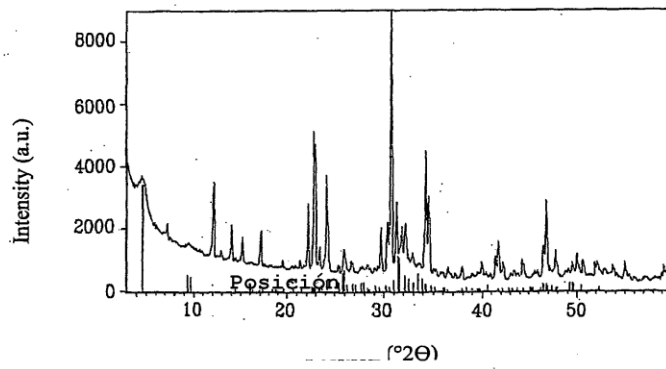
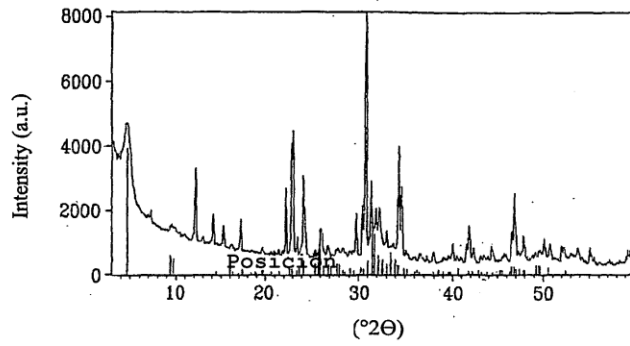


FIG 9

FIG 10

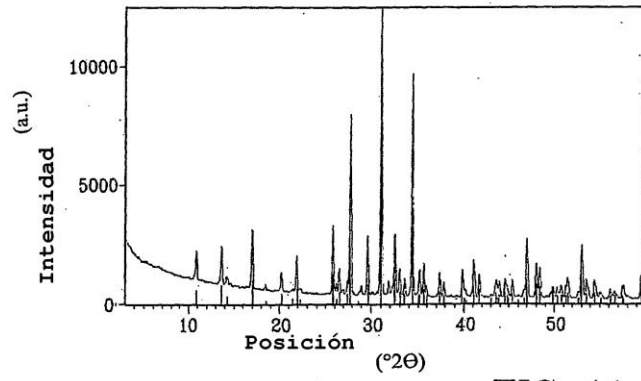
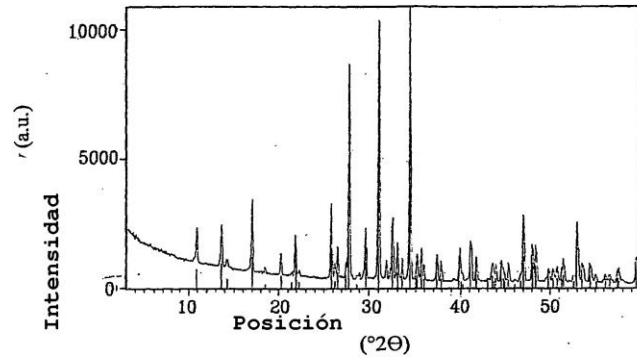


FIG 11

FIG 12

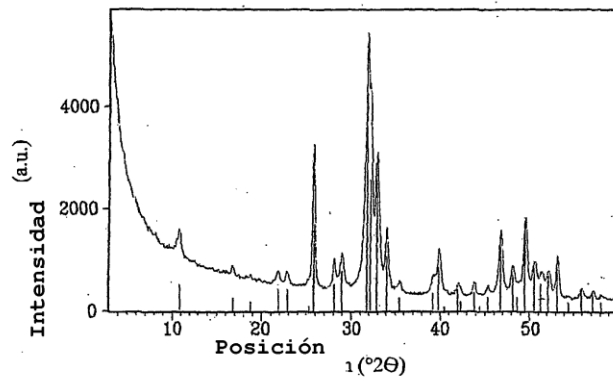
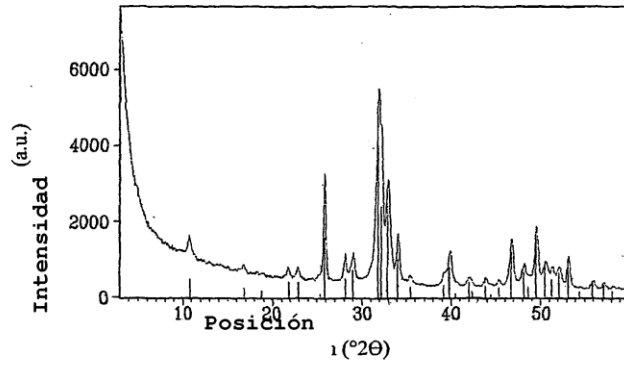


FIG 13