

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 373 286**

21 Número de solicitud: 201000957

51 Int. Cl.:

A61L 27/10 (2006.01)

A61F 2/28 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

22 Fecha de presentación:

23.07.2010

43 Fecha de publicación de la solicitud:

02.02.2012

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

25.04.2012

Fecha de la concesión:

03.05.2013

45 Fecha de publicación de la concesión:

16.05.2013

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
AVDA. SÉNECA, 2
28040 MADRID (Madrid) ES**

72 Inventor/es:

**VALLET REGÍ, Maria;
ARCOS NAVARRETE, Daniel y
BAEZA GARCIA, Alejandro**

54 Título: **ANDAMIO MACROPOROSO CERÁMICO PURO BASADO EN APATITA NANOCRISTALINA, MÉTODO DE PREPARACIÓN Y APLICACIONES.**

57 Resumen:

La invención describe un andamio cerámico puro, de cerámica nanocrystalina, en el que la cerámica comprende apatita no sustituida o apatita sustituida con silicio. Dicho andamio combina la excelente biocompatibilidad de la apatita, con la mejora de la bioactividad debida a la presencia del silicio, con la estructura nanocrystalina de la cerámica, idónea para el tejido donde se pretende implantar, y con el control sobre la macroporosidad que se consigue empleando la técnica del prototipado rápido.

La invención también incluye el método de preparación de dicho andamio. Este método comprende: preparación de la biocerámica, molienda de la biocerámica hasta obtener una granulometría multimodal, preparación de la tinta cerámica en medio acuoso estabilizada con una mezcla constituida por un componente monomérico y un surfactante, fabricación del andamio macroporoso por impresión tridimensional (3D), consolidación y calcinación del mismo.

La finalidad preferente de este andamio es su aplicación como implante para regeneración ósea.

ES 2 373 286 B2

DESCRIPCIÓN

Andamio macroporoso cerámico puro basado en apatita nanocristalina, método de preparación y aplicaciones

5 SECTOR DE LA TÉCNICA

La presente invención se encuadra dentro del campo técnico de fabricación de materiales para la regeneración de tejido óseo. De forma más concreta, la invención se refiere a un andamio bioactivo, biocompatible y biodegradable, macroporoso, de porosidad tridimensional controlada y ordenada, así como a su método de preparación
10 a través de la técnica de prototipado rápido.

ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

La necesidad de tratar los defectos en el tejido óseo, causados por traumas, defectos congénitos o degenerativos, tumores, etc. es un problema que va en aumento debido a
15 la mayor expectativa de vida de la sociedad actual. De especial incidencia son las fracturas osteoporóticas, que afectan a una de cada tres mujeres y a uno de cada doce hombres de edades superiores a los 50 años. Los síntomas de la osteoporosis son silenciosos en su fase temprana, pero en fases más avanzadas causa dolor en la zona afectada, pérdida de estatura con el tiempo, y por último fractura de algún hueso que
20 conlleva la hospitalización. Como consecuencia de esas fracturas, la necesidad de diseñar andamios 3D con propiedades químico-estructurales similares al hueso y que aceleren la regeneración del tejido dañado está cobrando una enorme importancia. Una de las estrategias más habituales en clínica para tratar las fracturas o defectos óseos consiste en el autotransplante del propio paciente. Sin embargo, esta técnica
25 plantea incrementar el proceso quirúrgico y por tanto, puede ocasionar mayor número de complicaciones post-operatorias. Por otro lado, el transplante de otro donante implica un coste elevado en tiempo y material, ya que es necesario disponer de bancos de donantes, y además conlleva el riesgo añadido de transmisión de agentes patógenos (virus o bacterias). Por esta razón es necesario trabajar en la creación de nuevos
30 materiales alternativos que se comporten de igual forma que el hueso, y sean fáciles de producir, esterilizar y almacenar para su posterior uso. Los materiales tradicionales para reemplazo óseo presentan varias desventajas, como son las propiedades físicas no

acordes con el hueso natural, escasa bioactividad o baja tolerancia a las condiciones fisiológicas, entre otras. Por consiguiente, una buena alternativa consiste en desarrollar andamios artificiales, bioactivos, de composición y microestructura similares al hueso. Estos implantes son reconocidos por el organismo receptor como material propio en una fase inicial, estableciéndose una unión fuerte al hueso sin respuesta a cuerpo extraño. Una vez integrados en el tejido óseo, son posteriormente absorbidos de forma controlada presentando además actividad osteogénica.

El término “andamio” se refiere a estructuras artificiales capaces de soportar el crecimiento de tejidos vivos en tres dimensiones. Se trata de materiales porosos sobre los que se colocarán las células óseas y que actúan como andamios o moldes. Con las condiciones fisiológicas adecuadas, se logra que las células produzcan o regeneren el nuevo tejido óseo de modo que, a medida que el andamio se degrada, es reemplazado por la nueva estructura ósea. Se considera como andamio o molde ideal aquel que sea altamente poroso, sin toxicidad y biodegradable, pero lo bastante resistente para soportar la carga estructural del hueso que lo ha de reemplazar.

Los andamios destinados a actuar como implantes para la regeneración ósea deben cumplir ciertos requisitos que incluyen: unas propiedades mecánicas similares a aquellas del sitio óseo a reparar, biocompatibilidad con el tejido óseo y biodegradabilidad.

Entre los parámetros que más influyen en las propiedades mecánicas, la biocompatibilidad y la bioreabsorción de los andamios están la macroporosidad, composición química y cristalinidad. Las condiciones específicas de macroporosidad, composición química y cristalinidad que optimizan las cualidades osteogénicas de un andamio son las siguientes:

- Respecto a la macroporosidad:
El andamio debe presentar una porosidad elevada (incluyendo un tamaño adecuado de poro) que permita la colonización del material implantado por parte de las células, la migración de éstas, y la difusión y transporte de nutrientes y

productos de desecho dentro y fuera de la pieza implantada. Para que se produzca el proceso de colonización por tejido óseo neoformado es necesario que los poros tengan un tamaño superior a 200 μm . Asimismo, el andamio debe favorecer el anclaje de las células en su superficie y ser biocompatible para prevenir la respuesta inflamatoria, propiciando una buena integración con el tejido anfitrión.

- Respecto a la composición química:

El andamio debe estar constituido por materiales adecuados para la función osteogénica. Los materiales utilizados para la regeneración de tejido óseo incluyen materiales inorgánicos cerámicos tanto sintéticos como naturales, como la hidroxiapatita y el fosfato tricálcico, ya que estas cerámicas tienen características muy similares a la hidroxiapatita biológica que compone el hueso natural, es decir, presentan carácter nanocristalino, no son estequiométricas, son deficientes en calcio y son capaces de incorporar diferentes iones en función de la naturaleza de los reactivos y el medio, y además están caracterizadas como materiales biocompatibles, bioactivos y osteoconductivos.

Asimismo, en los últimos años, ha cobrado una gran importancia la sustitución de los materiales cerámicos con silicio. El interés de introducir iones de silicio (Si) en las cerámicas se basa en su presencia en cantidades traza en la hidroxiapatita ósea y en su importancia para los procesos metabólicos asociados al desarrollo de hueso y de los tejidos conjuntivos [Carlise E., *Silicon as a trace nutrient*, Sci. Total Environ., 1988;73:95-106].

La sustitución iónica del fósforo por silicio se ha estudiado en hidroxiapatita (HA), fosfato tricálcico- α (α -TCP) y cementos basados en hidroxiapatita. Se ha comprobado que el modelo más sencillo que explica la incorporación del silicio en dichas estructuras consiste en la sustitución del grupo PO_4^{3-} por el grupo SiO_4^{4-} [Pietak AM, Reid JW, Stott MJ, Sayer M., *Silicon substitution in the calcium phosphate bioceramics*, Biomaterials 2007;28:4023-4032]. Esta sustitución genera un déficit de carga eléctrica que es necesario compensar para recuperar la neutralidad y evitar un elevado coste energético. Como mecanismos de compensación se han propuesto fórmulas químicas de hidroxiapatita sustituida

con silicio (representado abreviadamente como Si-HA) $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_{3-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{1-x}]$ y de fosfato tricálcico- α sustituido con silicio (representado abreviadamente como Si- α -TCP) $[\text{Ca}_3(\text{P}_{1-x}\text{Si}_x\text{O}_{4-x/2})_2]$ considerando vacantes de $(\text{OH})^{1-}$ y de O^{2-} [Pietak AM, Reid JW, Stott MJ, Sayer M., *Silicon substitution in the calcium phosphate bioceramics*, Biomaterials 2007;28:4023-4032].

Existe evidencia científica sobre la mejora en la bioactividad de las cerámicas de fosfato cálcico sustituidas con silicio y dicha mejora se atribuye a varios factores que actúan sinérgicamente. En primer lugar, la sustitución iónica con silicio facilita la precipitación de HA biológica *in vivo* y esto favorece la adsorción de proteínas, y la adhesión y proliferación de los osteoblastos [Sayer M, Stratilatov A, Reid J, Calderin L, Stott M, Yin X, et al., *Structure and composition of silicon stabilized tricalcium phosphate*, Biomaterials 2002;24:369-382; Vandiver J, Dean D, Patel N, Botelho C, Best S, Santos J, et al., *Silicon addition to hydroxyapatite increases nanoscale electrostatic, van der Waals and adhesive interactions*, J. Biomed. Res. 2005;78A:352-363]. Por otro lado, el ión silicato liberado en la matriz extracelular o presente en la superficie del implante podría influir directamente en los osteoblastos, osteoclastos y en la síntesis del colágeno [Keeting P, Oursler M, Wiegand K, Bonde S, Spelsberg T, Riggs B., *Zeolite A increases proliferation, differentiation and TGF-beta production in normal adult human osteoblast-like cells in vitro*, J. Biomed. Mater. Res. 1992;7:1281-1289; Xynos I, Edger A, Buttery D, Hench L, Polak J., *Gene-expression profiling of human osteoblasts following treatment with the ionic products of Bioglass 45S5 dissolution*, J. Biomed. Mater. Res. 2001;55:151-157]. Asimismo, se ha demostrado que la implantación *in vivo* de Si-HA ha incrementado el crecimiento óseo un 14,5% más en comparación con la HA no sustituida. Se ha observado también la formación de fibrillas de colágeno en la superficie de Si-HA 6 semanas después de su implantación, en comparación con las 12 semanas necesarias para observar el mismo efecto cuando se utiliza HA no sustituida [Patel N, Best S, Bonfield W, Gibson I, Hing K, Damien E, et al., *A comparative study on the in vivo behaviour of hydroxyapatite and silicon substituted hydroxyapatite granules*, J. Mater. Sci. Mater. Med. 2002;13:1199-1206].

- Respecto a la cristalinidad:

Las cerámicas que componen el andamio deben presentar carácter nanocristalino para asemejarse así, en la mayor medida posible, a la hidroxiapatita biológica. El carácter nanocristalino potencia la bioactividad y biocompatibilidad de la cerámica e induce una mayor velocidad de reacción de la misma [T. Traykova, C. Aparicio, M.P. Ginebra, J.A. Planell, *Nanomedicine*, 2006, 1, 91; Y.F. Chou, I. Wulur, J.C.Y. Duna, B.J. Wu. *Handbook of nanostructured biomaterials and their applications in nanobiotechnology*. Ed H.S. Nalwa, American Scientific Publishers, Stevenson Ranch, 2005, vol 2, pp 197-222; B. Ben-Nissan. *MRS Bull*, 2004, 29, 28; Y.F. Chou, W. Huang, J.C.Y. Duna, T.A. Millar, B.M. Wu. *Biomaterials*, 2005, 26, 285].

En el ámbito de la ciencia de los materiales, un material nanocristalino es un material comprendido de muchos cristales, la mayoría de los cuales presentan una o más dimensiones del orden de 100 nm o menos (normalmente, sin presentar ni cristales de tamaño micrométrico ni de una fase amorfa intergranular) [Sergey V. Dorozhkin, *Nanodimensional and Nanocrystalline Apatites and Other Calcium Orthophosphates in Biomedical Engineering, Biology and Medicine*, Materials 2009, 2, 1975-2045]. Sin embargo, en el ámbito de las biocerámicas, existe un acuerdo general por el cual se considera nanocristalina a toda cerámica comprendida de muchos cristales donde ninguna de las dimensiones de dichos cristales supera los 50 nm (al ser éste, por regla general, el tamaño máximo que presentan los nanocristales de apatita en los huesos de los vertebrados). Aunque las dimensiones de los cristales de apatita biológica que aparecen en la bibliografía varían debido a los diferentes métodos de tratamiento y técnicas analíticas, éstas están generalmente alrededor del nivel nanométrico con valores en los intervalos de 30–50 nm (longitud), 15–30 nm (ancho) y 2–10 nm (espesor) [Wang, L.; Nancollas, G.H.; Henneman, Z.J.; Klein, E.; Weiner, S., *Nanosized particles in bone and dissolution insensitivity of bone mineral*, Biointerphases 2006, 1, 106–111].

Un último parámetro a tener en cuenta en el andamio, además de todos los anteriormente referidos, es la morfología de los cristales de la cerámica que compone

dicho andamio. Los cristales de la apatita biológica que compone el hueso de los vertebrados presentan morfología acicular, por ello, una de las características requeridas en los andamios destinados a actuar como implantes para la regeneración ósea será la morfología acicular de los cristales de la apatita que constituya dicho andamio.

La fabricación de formas libres sólidas es una tecnología de manufacturación recientemente incorporada al ámbito biomédico. Esta tecnología es también conocida como prototipado rápido o procesado en capas. Hoy en día existen diferentes técnicas de fabricación de sólidos de formas libres como la estereolitografía, sinterizado selectivo por láser, modelado por deposición de fundidos, manufacturación laminada e impresión 3D.

Actualmente se ha planteado la fabricación de andamios tridimensionales utilizando polímeros naturales como el colágeno, fibrina o el quitosano [Bensaid W y col., *A biodegradable fibrin scaffold for mesenchymal stem cell transplantation*, Biomaterials 2003, 24, 2497–502]. La investigación con polímeros biodegradables también está arrojando un gran número de materiales prometedores, especialmente con polímeros tipo poli(hidroxiácido) tales como, policaprolactona, ácido poliláctico, ácido poliglicólico o copolímeros de los mismos [Heo et al., *J. Biomed. Mater. Res.*, 89A, 108, 2009; Chu et al., *Rapid Prototyping J.*, 14, 293, 2008]. Sin embargo, el uso de polímeros presenta la desventaja de que sus productos de degradación pueden originar concentraciones locales elevadas de productos de desecho ácidos, dificultando el desarrollo celular dentro del andamio, e incluso inducir una respuesta inflamatoria *in vivo* [Kohn D. H. y col., *Effects of pH on human bone marrow stromal cells in vitro: implications for tissue engineering of bone*, J Biomed Mater Res, 2002, 60, 292–9]. Recientemente se ha investigado la fabricación de andamios híbridos polímero/cerámico para regeneración tisular [Russias, J. y colaboradores, *Fabrication and in vitro characterization of three-dimensional organic/inorganic scaffolds by robocasting*, J. Biomed. Mater. Res., A, 83, 2, 2007, 434-445]. Sin embargo, esta técnica presenta como principales desventajas no sólo la posibilidad de que, como en los casos anteriores, puedan generarse concentraciones ácidas locales al degradarse el

componente polimérico sino también el escaso control sobre la degradación de la pieza, siendo ésta muy lenta.

A la vista de lo expuesto, la fabricación de andamios constituidos exclusivamente por
5 cerámicas (es decir, andamios que no incluyen fracción polimérica), también llamados
andamios cerámicos puros, es objeto de gran interés en el sector de la técnica descrito.
La fabricación de andamios cerámicos puros mediante la técnica de prototipado
rápido se suele hacer generando previamente un molde polimérico sacrificable que
actúa como negativo de la pieza que se quiere fabricar. Posteriormente se rellena el
10 molde con una suspensión acuosa del cerámico y se elimina el molde por pirólisis a
temperaturas de más de 1000°C [descripción de ejemplo, Chu, G. et al.,
Hydroxyapatite implants with designed internal architecture, J. Mater. Sci.: Mater.
Med., 12, 2001, 471-478]. La principal desventaja de esta técnica es el escaso control
sobre la microporosidad del material final, ya que puede verse alterada en el proceso
15 de calcinación para eliminar el molde. Otra desventaja importante consiste en la
posible aparición de elementos tóxicos como subproductos en el proceso de
eliminación del molde polimérico. En general, el conjunto de técnicas de prototipado
rápido para diseñar y controlar la macroporosidad tridimensional (3D) de andamios
implantables de origen polimérico están ampliamente desarrolladas [Wai-Yee Yeong
20 et al., *Trends in Biotechnology*, 643, 22, 2004; Peltola et al., *Annals Medicine*, 40,
268, 2008].

Una segunda estrategia utilizada para obtener andamios cerámicos puros por
prototipado rápido requiere incorporar las partículas cerámicas a una matriz
25 polimérica soluble o fusible, posterior fraguado del polímero, calcinación de la
materia orgánica y sinterizado final del andamio para dotarle de consistencia. En base
a esta estrategia, son varios los métodos descritos para la fabricación de andamios 3D
con aplicación en regeneración ósea. Por ejemplo, la patente US 2004/0191292A1 se
refiere a la preparación de andamios 3D para la regeneración de tejido óseo, basados
30 en micropartículas compuestas por Si, Ca y P vehiculizadas en una matriz polimérica
orgánica, donde la proporción de ésta última varía entre un 20% y 80% de la masa
total del andamio. La patente US 2008/0103227A1 se refiere a la preparación de

materiales porosos con estructura jerarquizada, que implica la preparación de una pasta cerámica aplicada a un andamio de origen polimérico, por ejemplo poliuretanos. La patente US 2001/0016353A1 se refiere a la preparación de andamios compuestos por cerámicas reabsorbibles mediante un método de replicación. Este procedimiento
 5 implica la impregnación de estructuras textiles orgánicas con los precursores cerámicos, requiriendo la posterior sinterización para formar el andamio cerámico. La patente US 6,283,997B1 se refiere a la preparación de estructuras cerámicas y cerámica/polímero donde la fracción polimérica es fotocurable y posteriormente eliminada por tratamiento térmico, aplicando técnicas de estereolitografía.

10

En resumen, la preparación de andamios cerámicos puros requiere la eliminación de una importante cantidad de materia orgánica, no inferior al 20% en masa respecto a la masa total del andamio [patente US 2004/0191292A1], para lo cual existen dos opciones:

- 15 a) Calcinar a una temperatura (no superior a 600°C) suficiente para eliminar la fracción polimérica pero sin alcanzar la temperatura de sinterización de las partículas de la cerámica. En este caso, el andamio resultante conserva la nanocrystalinidad pero es muy frágil y no manipulable y por lo tanto no se puede usar para fines de regeneración ósea.
- 20 b) Calcinar a una temperatura (1000-1200°C) superior a la de la opción anterior para eliminar el material polimérico y sinterizar la fase cerámica resultante procediendo posteriormente al endurecimiento del andamio obtenido. Mediante esta opción se garantiza la estabilidad mecánica del andamio a expensas de la pérdida del carácter nanocrystalino (debido a la elevada
 25 temperatura a la que se trabaja). El resultado son piezas cerámicas altamente cristalinas, de baja bioactividad, no reabsorbibles y con microestructuras muy diferentes al componente mineral del hueso.

La presente invención solventa los inconvenientes del actual estado de la técnica al
 30 proporcionar un método para obtener andamios:

- con macroporosidad diseñada,

- que presentan componente cerámico basado en biocerámicas bioactivas, biodegradables, biocompatibles y nanocristalinas pero no incluyen componente polimérico,
- y que no requieren la posterior calcinación de vehículos poliméricos, ni de procesos de sinterización a alta temperatura.

Por tanto, los andamios fabricados mediante el método de la invención combinan la excelente biocompatibilidad de la hidroxiapatita, con la mejora de la bioactividad debida a la presencia del silicio, el cual juega un papel importante en el proceso de formación ósea y mineralización y, por último, la estructura nanocristalina del material, más acorde con el tejido donde se pretende implantar. Además, el control sobre la macroporosidad que se consigue empleando la técnica del prototipado rápido y la posibilidad de diseñar piezas a medida para cada situación, hacen de la presente invención una excelente alternativa a los métodos actuales.

15

EXPLICACIÓN DE LA INVENCION.

La presente invención describe un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable en el que la cerámica comprende apatita no sustituida o apatita sustituida con silicio. En concreto, la cerámica del andamio de la presente invención comprende un compuesto de fórmula: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$, donde $0 \leq x \leq 0,5$.

Entre las características que hacen que el andamio de la presente invención sea novedoso está el carácter nanocristalino de la cerámica que compone dicho andamio. Gracias a esta característica, el andamio de la presente invención es más apropiado para el tejido donde se pretende implantar (óseo) que los anteriores andamios que se han preparado hasta ahora. El tamaño medio de cristal de la cerámica que compone el andamio de la presente invención es inferior a 50 nm. De forma más concreta, el tamaño medio de cristal de la cerámica que compone el andamio de la presente invención está dentro del intervalo entre 10 nm y 30 nm.

Por otra parte, la morfología del cristal cerámico que compone el andamio de la presente invención es acicular, asemejándose así a la del componente mineral del hueso. La longitud promedio de dicho cristal cerámico de la invención está comprendida entre 15 y 50 nm y la anchura promedio entre 5 y 10 nm.

5

Respecto a las características técnicas relativas a la morfología del poro, el andamio de la presente invención presenta una porosidad con entrecruzamiento tridimensional, el volumen de porosidad del andamio es del 35% o superior y el grosor de la pared del mismo es superior a 600 μm .

10

Respecto a las características técnicas mecánicas, el andamio de la presente invención presenta un valor de tensión máxima previa a fractura comprendido entre 0,556 y 1,06 MPa, una deformación máxima previa a fractura entre 2,85 y 6,54 % y un módulo elástico entre 100 y 200 MPa que es similar al del hueso trabecular.

15

En resumen, el andamio de la presente invención combina la excelente biocompatibilidad de la apatita, con la mejora de la bioactividad debida a la presencia del silicio, con la estructura nanocristalina de la cerámica, idónea para el tejido donde se pretende implantar, y con el control sobre la macroporosidad que se consigue empleando la técnica del prototipado rápido.

20

La invención describe, asimismo, un método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable. Las principales ventajas que proporciona el método descrito en la presente invención son:

25

- el control sobre la macroporosidad del andamio preparado mediante este método. Este control se consigue empleando la técnica del prototipado rápido.
- el andamio preparado mediante este método es cerámico puro, es decir,

30

polimérico.

- 5 • la biocerámica del andamio preparado mediante este método comprende apatita no sustituida o apatita sustituida con silicio. De esta forma el andamio preparado mediante el presente método combina la excelente biocompatibilidad de la apatita con la mejora de la bioactividad debida a la presencia del silicio.
- 10 • la biocerámica del andamio preparado mediante este método presenta carácter nanocristalino y morfología acicular (en forma de agujas) para garantizar el comportamiento bioactivo, biodegradable y biocompatible del implante.
- el andamio preparado mediante este método no requiere la posterior calcinación de vehículos poliméricos, ni procesos de sinterización a alta temperatura.

15 El método de la presente invención se lleva a cabo mediante prototipado rápido empleando un equipo de impresión tridimensional (3D).

20 En los métodos de fabricación de andamios cerámicos que forman parte del estado de la técnica ha sido necesaria la incorporación de la cerámica en el seno de un componente polimérico para dar consistencia a la pieza durante el proceso de deposición 3D. El método de la presente invención, a diferencia de los métodos anteriores descritos en el estado de la técnica, no requiere la incorporación de la cerámica en el seno de polímeros para que la pieza final sea consistente. De esta forma se consigue evitar la etapa de calcinación del polímero y la posterior sinterización de la cerámica restante, proceso que requiere temperaturas superiores a 1000°C que
25 conducen a la pérdida del carácter nanocristalino en la cerámica.

30 El método de la presente invención, se fundamenta en el uso de una pasta o tinta acuosa de alta carga cerámica en forma de suspensión que presenta dos o más distribuciones de tamaño de grano distintas. A dicha tinta se le añade una pequeña cantidad de un componente monomérico y de un agente surfactante o dispersante, de manera que la proporción en peso de la suma componente monomérico + surfactante debe ser inferior al 5 % respecto a la masa total de la tinta cerámica. De esta manera

se consigue que la tinta cerámica alcance un punto de viscosidad suficiente para fluir por el inyector del equipo de impresión 3D. Al depositar, mediante extrusión, capas sucesivas de tinta cerámica sobre una placa caliente, el andamio solidifica basándose en tres fenómenos:

- 5 • Al presentar la tinta cerámica una distribución de tamaño de grano multimodal, es decir, al coexistir dos o más distribuciones de tamaño de grano distintas en la misma tinta cerámica, se produce la acomodación de unos granos con otros en función de sus distintos tamaños.
- 10 • El agente surfactante o dispersante favorece la repulsión entre las partículas de la cerámica permitiendo así que la suspensión cerámica sea estable en medio acuoso.
- El componente monomérico recubre la superficie de los granos de cerámica formando una película que polimeriza uniendo de esta forma las fronteras de grano. Conviene resaltar el hecho de que se trata de una

15 capa o película que recubre la superficie de los granos y no de una masa polimérica que embute a los mismos.

20 El posterior tratamiento térmico para eliminar dichos aditivos orgánicos implica calentar a una temperatura entre 300°C y 600°C, pero en ningún caso superior a 600°C, ya que de esta forma se asegura la eliminación completa de los aditivos orgánicos sin comprometer el carácter nanocristalino de la fase tipo apatita que constituye el andamio.

25 En la presente invención se reivindica asimismo el uso de los andamios biocerámicos de la presente invención para la fabricación de implantes para cirugía traumatológica, cirugía maxilofacial, cirugía periodontal, cirugía ortognática, cirugía oral, cirugía de fisura palatina, tratamientos dentales, hueso osteoporótico, regeneración alveolar, fisuras óseas, fusiones óseas, relleno y regeneración ósea vertical y horizontal y

30 técnicas de ingeniería de tejidos, así como para la liberación de sustancias con fines terapéuticos.

En la presente invención, las expresiones “cerámica(s) nanocristalina(s)” o “cerámica(s) de carácter nanocristalino” o “nanocerámica(s)” son equivalentes e intercambiables y se refieren a cerámicas donde ninguna de las dimensiones de los cristales que componen dicha cerámica supera los 50 nm.

5

Se debe tener en cuenta que el uso en esta descripción y en las reivindicaciones de los artículos el/la, un/a/o incluye la referencia al plural a no ser que en el contexto se indique explícitamente lo contrario.

10 De forma más detallada, el método de la presente invención comprende las siguientes etapas:

1. SÍNTESIS DEL MATERIAL EN POLVO

15 Tal y como se ha comentado anteriormente en la presente invención, la cerámica que compone el andamio fabricado según el método reivindicado en la presente invención presenta una composición química basada en hidroxiapatitas nanocristalinas o bien no sustituidas o bien sustituidas con silicio. De forma más específica, las composiciones utilizadas para la preparación de la cerámica del presente método comprenden un compuesto de fórmula química: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$, donde $0 \leq x \leq 0,5$.

20

La cerámica se obtiene en forma de polvo según el método detallado en la literatura [D. Arcos, J. Rodríguez-Carvajal and M. Vallet-Regí, Silicon incorporation in hydroxylapatite obtained by controlled crystallization, *Chem. Mater.* 2004, 16, 2300-2308], mediante la precipitación controlada de disoluciones acuosas de sales precursoras de los componentes principales de la cerámica: Ca, P (que se encuentra en forma de ión fosfato), Si (que se encuentra en forma de ión silicato), y OH^- (iones hidroxilo). La adición de la sal precursora de silicio o alcóxido de silicio es opcional, únicamente se requiere para la fabricación de andamios basados en cerámicas sustituidas con silicio. Por tanto, en el caso de que se desee fabricar un andamio
25
30 basado en hidroxiapatitas no sustituidas se omitiría la adición de la disolución de la sal precursora del silicio.

La reacción se ajusta continuamente a pH básico mediante la adición de un agente basificante para garantizar así unas condiciones constantes a lo largo de todo el proceso de síntesis.

- 5 Con la finalidad de obtener una distribución de tamaño de partícula multimodal, la temperatura del medio de reacción se hace variar durante la síntesis dentro de un intervalo entre la temperatura ambiente y la temperatura de ebullición del disolvente (agua) durante un intervalo de tiempo entre 30 minutos y tres horas pues durante este periodo de tiempo se produce la nucleación y crecimiento de los cristalitos. De esta
- 10 forma, cambios en la temperatura a lo largo de ese período implican heterogeneidad en el tamaño del grano. Se obtiene así una cerámica en forma de polvo y con una distribución de tamaño de grano multimodal.

2. RECOGIDA Y MOLIENDA DEL MATERIAL EN POLVO

- 15 El material en polvo obtenido en la etapa anterior se seca a una temperatura entre 50°C y 80°C y se muele en un molino de bolas rotatorio. La granulometría se controla periódicamente hasta obtener al menos dos poblaciones diferentes de tamaño de partícula. La distribución de menor tamaño de partícula debe estar centrada en un valor de tamaño de partícula comprendido entre 1 y 20 micras y la distribución de
- 20 mayor tamaño de partícula debe estar centrada en valores de tamaño de partícula superiores a 25 micras. Estas distribuciones de tamaño garantizan el acomodamiento de las partículas durante el posterior depósito en el proceso de impresión 3D.

25 3. PREPARACIÓN DE LA SUSPENSIÓN CERÁMICA

- Esta etapa comienza con la preparación de una disolución monomérica en agua destilada donde la cantidad de componente monomérico a añadir varía entre el 2 y 4% en peso respecto a la masa de la mezcla final constituida por componente monomérico, surfactante y componente cerámico. Dicho componente monomérico se
- 30 puede seleccionar entre acrilamidas, metacrilamidas, metilenbisacrilamidas, dimetacrilato de polietilenglicol, o combinaciones de los mismos. También pueden utilizarse polisacáridos como agar, agarosa, carragenina, alginato, o combinaciones de

los mismos. En concreto, han demostrado ser especialmente eficaces metacrilamida y N,N'-metilenbisacrilamida.

5 Sobre esta disolución se incorpora un surfactante en cantidades entre el 2 y 4% en peso respecto a la masa de la mezcla final constituida por componente monomérico, surfactante y componente cerámico. Dicho surfactante se selecciona entre polimetacrilato de amonio (por ejemplo, metacrilatos de amonio del tipo Darvan 811, Dolapix PC 67 o Dispex A40), polimetacrilato de sodio, poliácido de amonio, poliácido de sodio, hexametáfosfato de sodio, pirofosfato de sodio decahidratado, 10 combinaciones de los mismos. En concreto, han demostrado ser especialmente eficaces los acrilatos y metacrilatos de amonio del tipo Darvan 811, Dolapix PC 67 o Dispex A40.

15 Se mantiene dicha disolución acuosa en agitación continua y se añade sobre ella el material en polvo obtenido en la etapa 2. La carga cerámica de dicha mezcla final en suspensión es siempre superior al 30% (v/v). El contenido total de aditivos orgánicos (monómero + surfactante) no debe superar el 5% en peso respecto a la masa total de la suspensión final. De esta forma se obtiene una pasta cerámica de elevada viscosidad, que se tamiza a través de una malla antes de incorporarse a los cartuchos inyectores 20 del equipo de impresión 3D.

4. FABRICACIÓN DEL ANDAMIO POR PROTOTIPADO RÁPIDO

25 La fabricación del andamio se lleva a cabo mediante prototipado rápido usando un equipo de impresión 3D. La tinta cerámica en forma de suspensión obtenida en la etapa 3 se introduce en un inyector manteniéndose a una temperatura entre 5°C y 20°C durante el periodo de tiempo en el que se encuentra en el interior del inyector. Mediante extrusión con presión por medio de aire comprimido o pistón mecánico se hace que la tinta cerámica fluya a través de la punta inyectora para luego depositarse capa a capa sobre una placa calentada a temperaturas entre 50°C y 90°C.

30

De esta forma se construyen los andamios con formas libres y porosidad diseñada mediante el depósito capa a capa de la tinta cerámica descrita. El periodo de depósito

transcurrido entre capas sucesivas debe ser igual o superior a 30 segundos, evitando así el colapso de las capas que constituyen el andamio.

5. CONSOLIDACIÓN DEL ANDAMIO

- 5 Las piezas obtenidas en la etapa anterior se secan en estufa a temperaturas de entre 60 y 90°C durante un periodo igual o superior a 12 horas. Estas condiciones están directamente relacionadas con la baja cantidad de aditivos orgánicos añadidos así como con la naturaleza acuosa de la tinta cerámica. El andamio, después de ese periodo de, como mínimo, 12 horas, queda así consolidado por secado total de la tinta
- 10 cerámica y por el contacto de los aditivos poliméricos en la superficie de los granos de cerámica.

6. CALCINACIÓN DEL ANDAMIO

- Una vez que las piezas han adquirido suficiente consistencia, se tratan a una
- 15 temperatura entre 300°C y 600°C, pero en ningún caso a una temperatura superior a 600°C hasta eliminación total de los aditivos orgánicos incorporados. De este modo obtenemos piezas libres de materia orgánica, conservando el carácter nanocristalino de la cerámica que compone el andamio.

- 20 A continuación se adjunta un resumen de las características técnicas principales medidas en los andamios fabricados mediante el método reivindicado en la presente invención:

a) Las características técnicas microestructurales son las siguientes:

- 25
- Tamaño de cristal promedio: 10 a 30 nm
 - Morfología del cristal: acicular, similar por tanto a la apatita biológica que se encuentra en el tejido óseo:
 - Longitud promedio: 15 – 50 nm
 - Anchura promedio: 5 – 10 nm

30

b) Las características técnicas relativas a la morfología del poro son las siguientes:

- Porosidad diseñada con entrecruzamiento tridimensional

- Volumen de porosidad diseñada: 35% o superior
- Grosor de la pared del andamio: superior a 600 μm

c) Las características técnicas mecánicas son las siguientes:

- 5
- Tensión máxima previa a fractura: 0,556 – 1,06 MPa
 - Deformación máxima previa a fractura: 2,85 - 6,54 %
 - Módulo elástico: 100 – 200 MPa (similar al hueso trabecular)

MODO DE REALIZACIÓN DE LA INVENCION

10 A continuación se detalla un ejemplo de un modo de realización de la invención para la preparación de andamios macroporosos de hidroxiapatita sustituida con silicio de fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5,7}(\text{SiO}_4)_{0,3}(\text{OH})_{1,7}$.

1. Síntesis del material en polvo

15 El método de la invención comenzó con la síntesis de la cerámica de fórmula química $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5,7}(\text{SiO}_4)_{0,3}(\text{OH})_{1,7}$ siguiendo el procedimiento detallado en la literatura [D. Arcos, J. Rodríguez-Carvajal and M. Vallet-Regí, Silicon incorporation in hydroxylapatite obtained by controlled crystallization, Chem. Mater. 2004, 16, 2300-2308]. Se partió de tres disoluciones acuosas: nitrato de calcio tetrahidrato,

20 monohidrógeno fosfato de amonio y tetraetil ortosilicato en la proporción estequiométrica. Estas soluciones son las precursoras de los componentes principales de la cerámica: Ca, fosfato y silicato, respectivamente. Las disoluciones se incorporaron gota a gota sobre el medio de reacción en agitación continua. El pH de la reacción se ajustó continuamente a un valor entre 10 y 12 mediante la adición de una

25 disolución de hidróxido de amonio para garantizar así unas condiciones constantes a lo largo de todo el proceso de síntesis. La temperatura al inicio de la reacción era de 20°C y se incrementó a una velocidad de 1°C por minuto hasta 80°C (temperatura al término de una hora). Una vez alcanzada la temperatura final, se mantuvo durante 12 horas en agitación. Se obtuvo la cerámica en forma de polvo y con una distribución de

30 tamaño de grano multimodal.

2. Molienda y granulometría

El material en polvo obtenido en la etapa 1 se lavó con agua destilada hasta obtener pH = 7 en los líquidos de lavado. Una vez lavado, el material en polvo se secó a 60°C en estufa y se molió en molino de bolas. Para ello se incorporaron 65 gramos de material en un vaso de ágata de 250 ml de capacidad con 3 bolas de ágata de 2 cm de diámetro. Se llevó a cabo un primer proceso de molienda de 60 minutos de duración. A este primer proceso le siguieron otros procesos de molienda idénticos al primero salvo por el tiempo de duración (en estos procesos la duración era de 15 minutos) hasta obtener una granulometría con al menos dos poblaciones de tamaño de partícula distinto: una población de tamaño de partícula pequeño centrada en valores de tamaño de partícula en torno a 10 micrómetros de diámetro (en concreto, la mediana de dicha distribución era igual a 12 micrómetros) y una distribución de tamaño de partícula mayor centrada en valores de tamaño de partícula en torno a 50 micrómetros (en concreto, la mediana de dicha distribución era igual a 48 micrómetros) (ver figura 1).

15 **3. Preparación de la tinta cerámica**

Esta etapa comenzó con la preparación de una disolución del componente monomérico. Para ello se prepararon 25 ml de una disolución en agua destilada de N,N'-metilenbisacrilamida (0,3 gramos) y metacrilamida (1,5 gramos). Se mantuvo dicha disolución en agitación continua. Tras 6 horas de agitación, cuando los monómeros se encontraban totalmente disueltos, se añadieron 1,2 gramos de Darvan 811 que actuaba en calidad de agente surfactante. La mezcla se dejó durante una hora en agitación y se incorporaron lentamente 30 gramos del material en polvo obtenido en la etapa anterior manteniendo la agitación continua. De esta forma se consiguió una pasta cerámica de alta viscosidad.

25 Para eliminar las partículas de tamaño superior a 100 micras, la pasta cerámica se cribó a través de un tamiz con 100 micras de tamaño de malla. Con ello se consiguió una tinta cerámica de alta viscosidad, capaz de fluir por una punta inyectora de 600 micras, a una temperatura de 15°C y con una presión de 0,035 bares.

30 **4. Fabricación del andamio cerámico**

Esta etapa comenzó con la generación de un fichero CAD o fichero que contiene el diseño en 3D asistido por ordenador del andamio. En dicho fichero se especificó la

morfología externa, el patrón de porosidad y el tamaño de los poros del andamio. Dicho fichero se cargó en el equipo de impresión 3D y se fijaron asimismo cada uno de los parámetros de fabricación que permitía el equipo:

Temperatura de la pasta: 15°C

- 5 Temperatura de la placa de depósito (donde se depositan las capas de pasta cerámica): 55°C

Velocidad de impresión: 300 micras/segundo

Presión de inyección: 0,035 bares

Ancho de la punta inyectora: 600 micras

10

La tinta cerámica en forma de suspensión obtenida en la etapa 3 se introdujo en un inyector manteniéndose a una temperatura de 15°C durante el periodo de tiempo en el que la tinta se encontraba en el interior del inyector. Mediante extrusión con presión por medio de aire comprimido o pistón mecánico se hizo que la tinta cerámica fluyera a través de la punta inyectora para luego depositarse capa a capa sobre una placa precalentada a una temperatura de 55°C. La velocidad de impresión se ajustó a un valor que permitiera un mínimo de 30 segundos entre capa y capa, favoreciendo así el secado de las capas inferiores y evitando el colapso del andamio.

15

20 **5. Consolidación del andamio**

El andamio obtenido en la etapa anterior se llevó rápidamente a una estufa precalentada a 70°C, y se mantuvo dentro de la estufa durante 12 horas. Tras este periodo, las piezas estaban totalmente secas y las partículas de cerámica consolidadas a través del contacto de los aditivos poliméricos en su superficie.

25

6. Calcinación del andamio

Las piezas consolidadas resultantes de la etapa anterior se sometieron a una temperatura de 600°C durante 2 horas, eliminando toda la materia orgánica pero sin modificar el carácter nanocristalino de la fase cerámica, que queda como único componente del andamio.

30

La tabla 1 recoge los valores de superficie específica y composición química en peso obtenidos para diez lotes de andamios de la fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5,7}(\text{SiO}_4)_{0,3}(\text{OH})_{1,7}$. A partir de los datos de la tabla se observa, en primer lugar, la presencia del silicio en todos los lotes. Dada la dificultad que supone la incorporación de silicio a la fase apatita, principalmente por la posibilidad de que el precursor de silicio añadido en la reacción pueda perderse con los líquidos de lavado, resulta especialmente notorio y satisfactorio el hecho de que el Si esté presente en todos los lotes con un margen de error de $\pm 0,09\%$.

10 Por otra parte, la superficie específica es una variable que se relaciona con el tamaño de cristal. Cuando la cerámica está tratada a alta temperatura y, como resultado de ello, los cristales de la misma son grandes, el valor de la superficie específica es muy pequeño (inferior a $10 \text{ m}^2/\text{g}$). Para los diez lotes de andamios preparados mediante el método de la presente invención, el valor de la superficie específica oscila entre 80 y 15 $95 \text{ m}^2/\text{g}$, hecho que se explica por la naturaleza nanocristalina de la cerámica.

Asimismo queda demostrada la reproducibilidad del método pues las diferencias en porcentajes, entre los distintos lotes, para cada uno de los distintos elementos de cada lote están dentro del rango de incertidumbre del método de análisis utilizado.

20

	Superficie específica (m²/g)	% Ca	% H	% O	% P	% Si
1	94,92	42,13	0,18	38,49	18,66	0,47
2	90,2	41,84	0,18	38,64	18,83	0,45
3	95,35	39,82	0,18	41,38	18,21	0,37
4	89,14	40,00	0,18	40,84	18,56	0,37
5	95,39	41,93	0,18	38,35	19,01	0,49
6	92,05	41,95	0,18	38,23	19,18	0,41
7	94,62	44,84	0,18	34,89	19,65	0,40
8	79,85	44,73	0,18	34,65	20,18	0,34
9	82,53	44,77	0,18	34,84	19,88	0,33
10	85,23	42,99	0,18	37,11	19,29	0,43

Tabla 1

Mediante el método de la presente invención y siguiendo específicamente el modo de realización descrito, se prepararon dos series de andamios con las siguientes características:

SERIE 1.

- Tamaño de cristal promedio: 12,7 nm
- Morfología del cristal: acicular
 - Longitud promedio: 18,7 nm
 - Anchura promedio: 6,7 nm

b) Las características técnicas relativas a la morfología del poro son las siguientes:

- Porosidad diseñada con entrecruzamiento tridimensional
- Volumen de porosidad del 37%
- Grosor de la pared del andamio: 700 (+/- 10) μm

c) Las características técnicas mecánicas son las siguientes:

- Tensión máxima previa a fractura: 0,727 (+/- 0,171) MPa
- Deformación máxima previa a fractura: 3,98 (+/- 1,13) %
- Módulo elástico: 120 (+/- 12) MPa

SERIE 2.

- Tamaño de cristal promedio: 16,1 nm
- 5 • Morfología del cristal: acicular
 - Longitud promedio: 23,8 nm
 - Anchura promedio: 8,5 nm
- b) Las características técnicas relativas a la morfología del poro son las siguientes:
 - Porosidad diseñada con entrecruzamiento tridimensional
 - 10 • Volumen de porosidad del 35%
 - Grosor de la pared del andamio: 720 (+/- 8) μm
- c) Las características técnicas mecánicas son las siguientes:
 - Tensión máxima previa a fractura: 0,926 (+/- 0,132) MPa
 - Deformación máxima previa a fractura: 4,87 (+/- 1,67) %
 - 15 • Módulo elástico: 122 (+/- 9) MPa

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1 muestra la distribución del tamaño de partícula de un material en polvo de fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5,7}(\text{SiO}_4)_{0,3}(\text{OH})_{1,7}$ obtenido tras el proceso de molienda correspondiente a la etapa 2 del método de preparación de andamios reivindicado en la presente invención. En dicha gráfica, los valores de frecuencia de partículas (expresados en %) se representan frente al tamaño de partícula (expresado en μm). Al observar la figura, se pueden diferenciar fácilmente dos poblaciones de tamaño de partícula. La primera de ellas está centrada en valores de tamaño de partícula en torno a 10 micrómetros de diámetro (en concreto, la mediana de dicha distribución es igual a 12 micrómetros), constituyendo la población de tamaño de partícula pequeño. La segunda población, más amplia, está centrada en valores de tamaño de partícula en torno a 50 micrómetros (en concreto, la mediana de dicha distribución es igual a 48 micrómetros), constituyendo la población de tamaño grande. Esta distribución es esencial en el proceso, puesto que durante el depósito por impresión 3D, las partículas de la población de tamaño pequeño rellenan los espacios intergranulares dejados por las partículas de la población de tamaño grande.

La figura 2 muestra un diagrama de difracción de rayos X (intensidad de reflexión (cuentas) frente a ángulo de reflexión (2θ)) correspondiente a un andamio de hidroxiapatita sustituida con silicio de fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5,7}(\text{SiO}_4)_{0,3}(\text{OH})_{1,7}$ obtenido según el método de la presente invención. La anchura del perfil de los máximos de difracción es indicativa del pequeño tamaño de cristal que forma dicha fase, en otras palabras, mediante este difractograma se comprueba el carácter nanocristalino de la hidroxiapatita sustituida con silicio del andamio. El máximo identificado con los índices 0 0 4 representa una familia de planos cristalinos paralelos entre sí, perpendiculares al eje c y paralelos a los ejes a y b de la celda unidad de la fase apatita. Dicho máximo presenta una intensidad anómalamente elevada y un perfil más estrecho, lo que indica que el cristal ha crecido más en la dirección del eje c, lo que conduce a una morfología acicular de los cristalitas de apatita asemejándose así a los del componente mineral del hueso.

15

La figura 3 muestra una representación del tamaño y morfología del cristal de la hidroxiapatita sustituida con silicio, de fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5,7}(\text{SiO}_4)_{0,3}(\text{OH})_{1,7}$, del andamio que se ha obtenido según el método de la presente invención. El gráfico se ha construido a partir de la información, obtenida por difracción de rayos X, acerca del crecimiento del cristal en todas y cada una de las direcciones, y se representa a lo largo de la dirección [001] (dirección del eje c de la celda unitaria de la apatita) y [100] (dirección del eje a de la celda unitaria de la apatita). Dicha figura demuestra el carácter nanocristalino y la morfología acicular de los cristales de hidroxiapatita sustituida con silicio, donde el tamaño de cristal es de 18,7 nm y 6,7 nm a lo largo de las direcciones [001] y [100], respectivamente. Es importante señalar que el sistema cristalino de la apatita es un sistema cristalino hexagonal donde la magnitud a es igual a b pero distinta de c.

20
25

La figura 4 presenta algunos ejemplos de la apariencia exterior de los andamios macroporosos cerámicos puros, de cerámica nanocristalina no sustituida y sustituida con silicio, obtenidos siguiendo el método de preparación expuesto en la presente invención.

30

REIVINDICACIONES

1. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable que comprende las siguientes etapas:
- 5
- (a) Preparación de una biocerámica de estructura nanocristalina a partir de la precipitación controlada de disoluciones acuosas de sales precursoras de los componentes principales de la cerámica de forma que se obtenga una distribución de tamaño de grano multimodal en la cerámica.
- 10
- (b) Molienda de la biocerámica nanocristalina en polvo obtenida en el apartado anterior hasta obtener una granulometría con al menos dos distribuciones diferentes de tamaño de partícula.
- (c) Preparación de la tinta cerámica suspendida en medio acuoso y estabilizada con una mezcla comprendida por un componente monomérico al que se le añade un agente surfactante donde el contenido total de dicha mezcla debe ser inferior o igual al 5% en peso respecto a la masa total de la suspensión que constituye la tinta cerámica.
- 15
- (d) Fabricación del andamio macroporoso por prototipado rápido mediante impresión tridimensional.
- 20
- (e) Consolidación del andamio por secado de la tinta cerámica.
- (f) Calcinación del andamio sometiendo la pieza a una temperatura entre 300°C y 600°C,
2. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según la reivindicación 11, en el que la biocerámica preparada en la etapa (a) comprende apatita no sustituida o apatita sustituida con silicio.
- 25
3. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según la reivindicación 12, en el que la biocerámica preparada en la etapa (a) comprende un compuesto de fórmula: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$ donde $0 \leq x \leq 0,5$.
- 30

4. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, biocativo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 11-13, en el que en la etapa (a) la biocerámica se obtiene con una
- 5 distribución de tamaño de partícula multimodal por medio de la variación gradual de la temperatura durante el proceso de síntesis.
5. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, biocativo, biocompatible y biodegradable según la
- 10 reivindicación 14, en el que en la etapa (a) se hace variar la temperatura dentro de un intervalo entre 10°C y 95°C durante un intervalo de tiempo entre 30 minutos y tres horas.
6. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de
- 15 cerámica nanocristalina, biocativo, biocompatible y biodegradable según la reivindicación 15, en el que en la etapa (a) la temperatura al inicio de la reacción es de 20°C y se incrementa a una velocidad de 1°C por minuto hasta 80°C (temperatura al término de una hora).
- 20
7. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, biocativo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 14-16, en el que la distribución del tamaño de partícula menor obtenida en la etapa (b) está centrada en un valor de tamaño de partícula comprendido
- 25 entre 1 y 20 micrómetros y la distribución del tamaño de partícula mayor obtenida en la etapa (b) está centrada en un valores de tamaño superiores a 25 micrómetros.
8. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, biocativo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de
- 30 las reivindicaciones 11-17, en el que el componente monomérico de la mezcla empleada para estabilizar la tinta cerámica en la etapa (c) se selecciona entre acrilamidas, metacrilamidas, metilenbisacrilamidas, dimetacrilato de polietilenglicol o

- combinaciones de los mismos, aunque también pueden utilizarse polisacáridos como agar, agarosa, carragenina, alginato o combinaciones de los mismos, y la proporción de componente monomérico respecto a la mezcla total constituida por componente monomérico, surfactante y componente cerámico está comprendida entre 2 y 4% en peso.
- 5
9. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, biocativo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 11-18, en el que en la etapa (c) el surfactante que se añade sobre la disolución monomérica se selecciona entre polimetacrilato de amonio, polimetacrilato de sodio, poliacrilato de amonio, poliacrilato de sodio, hexametáfosfato de sodio y pirofosfato de sodio decahidratado o combinaciones de los mismos, y la proporción de surfactante respecto a la mezcla total constituida por componente monomérico, surfactante y componente cerámico está comprendida entre 2 y 4% en peso.
- 10
- 15
10. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, biocativo, biocompatible y biodegradable según las reivindicaciones 18 y 19, en el que la carga cerámica final de la tinta preparada en la etapa (c) es superior al 30% (v/v).
- 20
11. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, biocativo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 11-20, en el que en la etapa (d) de fabricación del andamio la tinta cerámica se introduce en un inyector manteniéndose a una temperatura entre 5°C y 20°C mientras está en el interior del inyector y se deposita capa a capa sobre una placa calentada a temperaturas entre 50°C y 90°C teniendo en cuenta que el periodo de depósito transcurrido entre capas sucesivas debe ser igual o superior a 30 segundos.
- 25
- 30
12. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, biocativo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 11-21, en el que en la etapa (e) de consolidación del andamio

las piezas se secan en estufa a temperaturas entre 60°C y 90°C durante un período igual o superior a 12 horas.

13. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocrystalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable obtenible por un procedimiento de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

14. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocrystalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable, según reivindicación 13, en el que la cerámica preparada en la etapa (a) comprende apatita no sustituida o apatita sustituida con silicio.

15. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocrystalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según reivindicación 14, en el que la cerámica comprende un compuesto de fórmula: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$ donde $0 \leq x \leq 0,5$.

16. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocrystalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según la reivindicación 14, en el que la cerámica comprende un compuesto de fórmula: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5,7}(\text{SiO}_4)_{0,3}(\text{OH})_{1,7}$.

17. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocrystalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 13-16, en el que el tamaño medio del cristal de la cerámica es inferior a 50 nm.

18. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocrystalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según la reivindicación 17, en el que el tamaño medio del cristal de la cerámica está dentro del intervalo entre 10 nm y 30 nm.

19. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocrystalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 13-18, en el que la morfología del cristal de la cerámica es acicular, estando comprendida la longitud promedio del cristal entre 15 y 50 nm y la anchura promedio entre 5 y 10 nm.

20. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 13-19, en el que el volumen de porosidad del andamio es del 35% o superior.

5

21. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 13-20, en el que la tensión máxima previa a la fractura del andamio está dentro del intervalo entre 0,556 MPa y 1,060 MPa.

10

22. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 13-21, en el que la deformación máxima previa a la fractura del andamio está dentro del intervalo entre un 2,85% y un 6,54%.

15

23. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 13-22, en el que el módulo elástico del andamio está dentro del intervalo entre 100 y 200 MPa.

20 24. Uso del andamio según cualquiera de las reivindicaciones 13-23 para la fabricación de implantes para su aplicación en biomedicina.

25 25. Uso según la reivindicación 24 donde las aplicaciones biomédicas del andamio se seleccionan entre cirugía traumatológica, cirugía maxilofacial, cirugía periodontal, cirugía ortognática, cirugía oral, cirugía de fisura palatina, tratamientos dentales, hueso osteoporótico, regeneración alveolar, fisuras óseas, fusiones óseas, relleno y regeneración ósea vertical y horizontal y técnicas de ingeniería de tejidos, así como para la liberación de sustancias con fines terapéuticos.

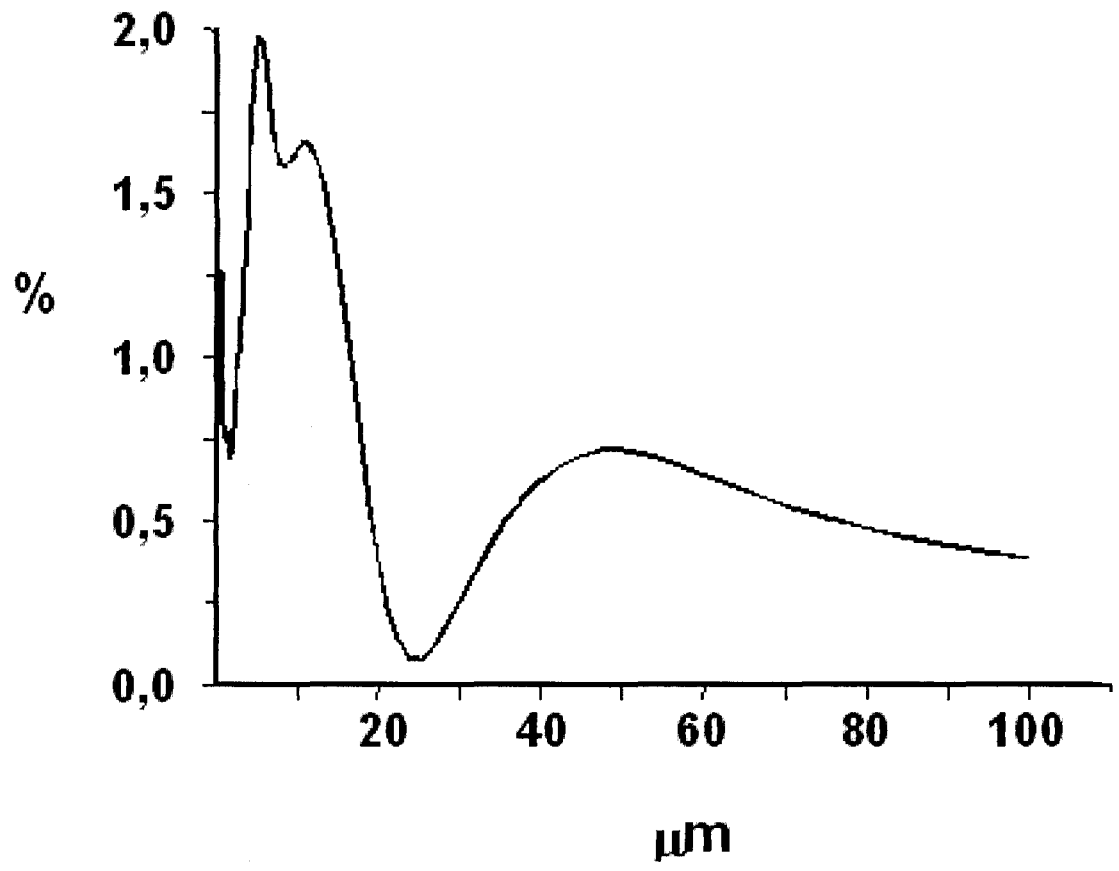


Fig. 1

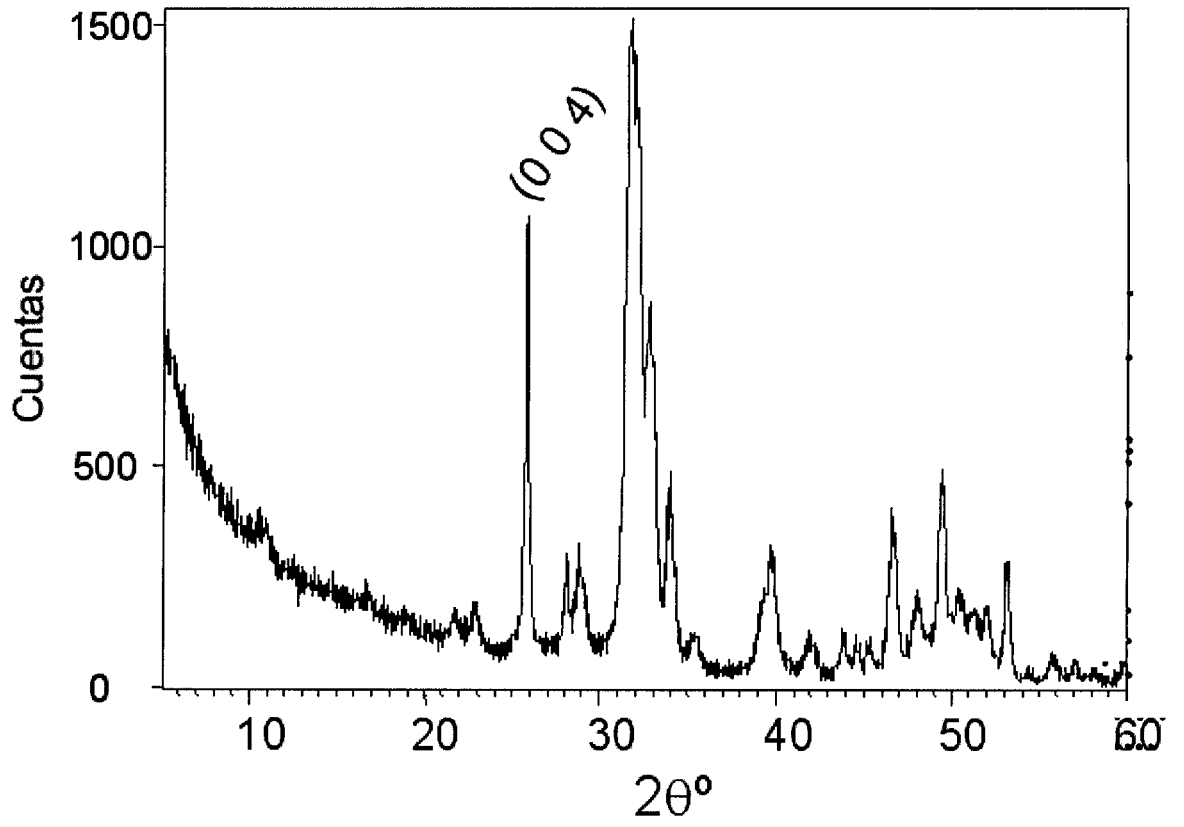


Fig. 2

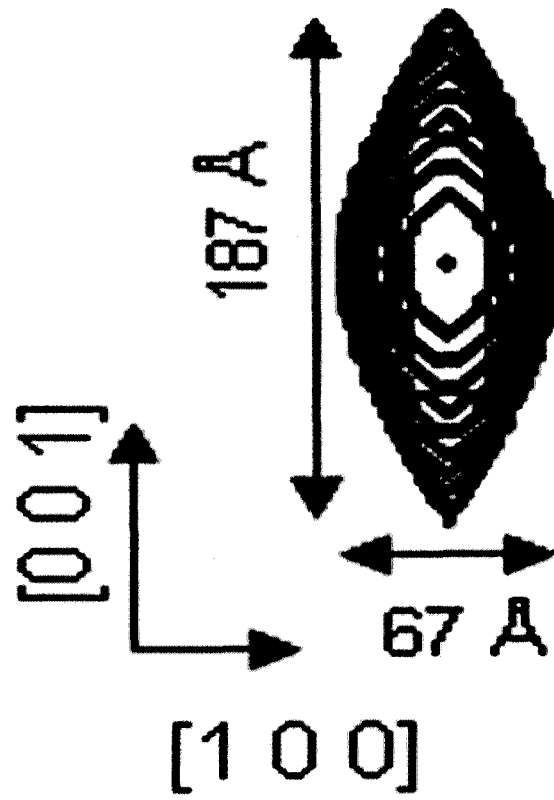


Fig. 3

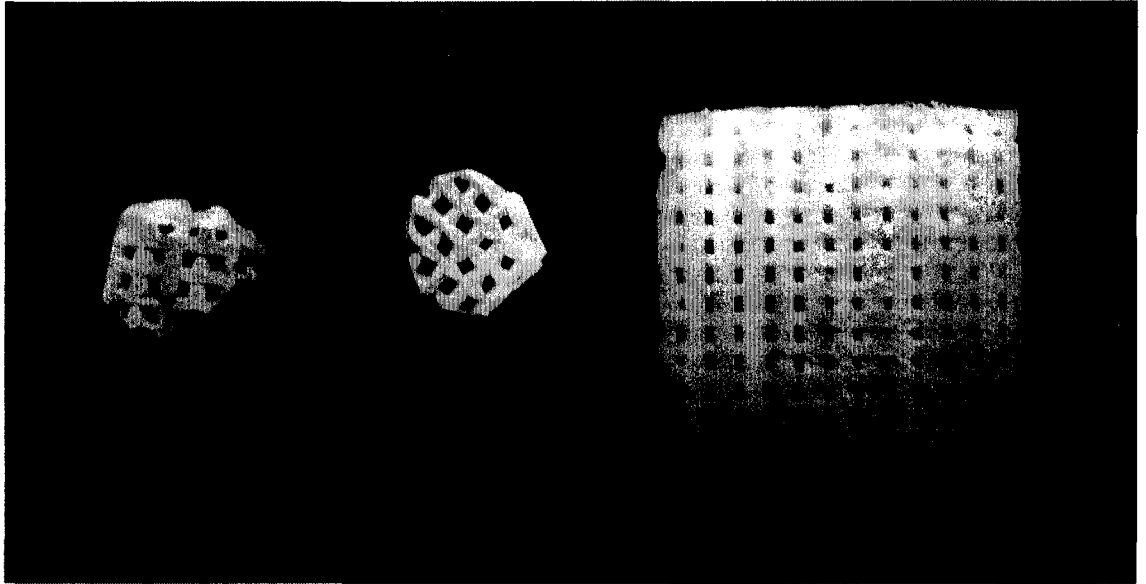


Fig. 4

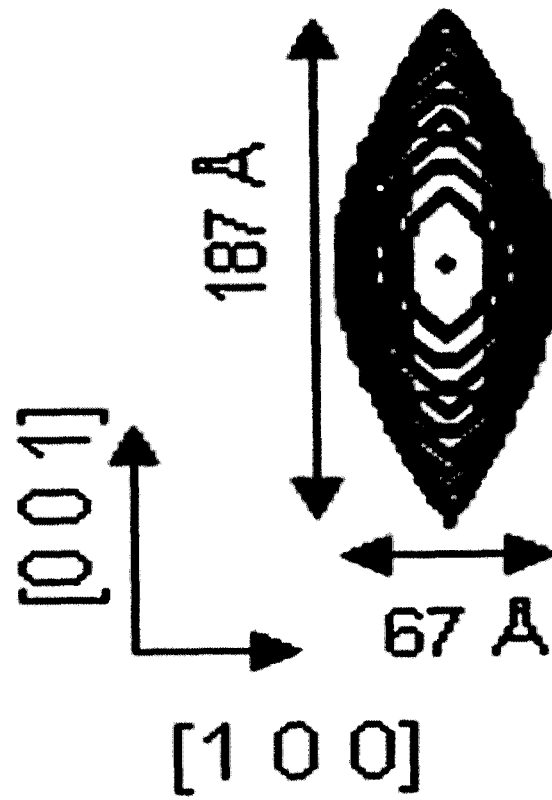


Fig. 3

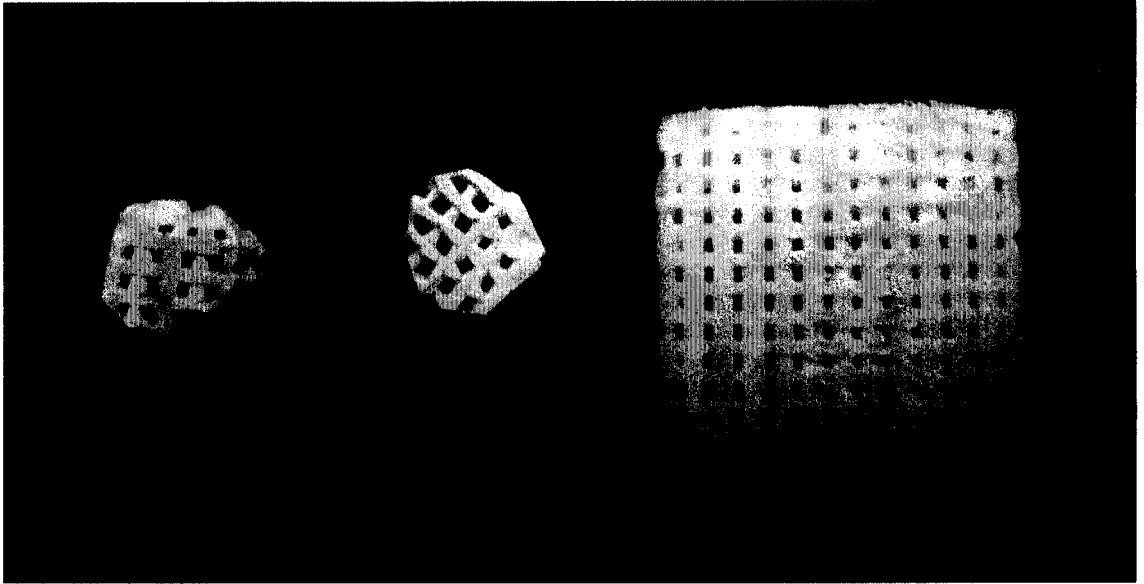


Fig. 4



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201000957

②② Fecha de presentación de la solicitud: 23.07.2010

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **A61L27/10** (2006.01)
A61F2/28 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	DOROZHKIN, S.V. "Nanodimensional and nanocrystalline apatites and other calcium orthophosphates in biomedical engineering, biology and medicine" Materials 27.11.2009, Volumen 2 Páginas 1975-2045; Tabla 1, apartados 3, 4, 5.1 y 8.1.	1-2,4-10,23-24
A	EP 1108698 A1 (ISOTIS B V) 20.06.2001, páginas 3-5.	1-24
A	SEITZ, H. et al.: "Three-dimensional printing of porous ceramic scaffolds for bone tissue engineering" Journal of Biomedical Materials Research. Part B: Applied Biomaterials 24.06.2005, Volumen 74 Páginas 782-788; páginas 4 y 6.	1-24
A	ARCOS, D. et al. "Silicon incorporation in hydroxylapatite obtained by controlled crystallization" Chemistry of Materials 01.06.2004, Volumen 16 Páginas 2300-2308; apartados 3-5.	1-24
A	EP 1426066 A1 (YENSSEN BIOTECH CO LTD) 09.06.2004, páginas 4-6, ejemplos 4 y 6.	1-24
A	JONG YOUNG KIM et al. "Development of a bone scaffold using HA nanopowder and micro-stereolithography technology" Microelectronic Engineering 08.02.2007; Volumen 84 Páginas 1762-1765; apartados 1-3.	1-24

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe 31.03.2011	Examinador A. Urrecha Espluga	Página 1/4
---	---	----------------------

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61L, A61F

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, TXTUS, XPESP, NPL.

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 31.03.2011

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 3-10, 11-22	SI
	Reivindicaciones 1-2, 23-24	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 3,11-22	SI
	Reivindicaciones 1-2, 4-10, 23-24	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	DOROZHKIN, S.V. "Nanodimensional and nanocrystalline apatites and other calcium orthophosphates in biomedical engineering, biology and medicine" Materials 27.11.2009, Volumen 2 Páginas 1975-2045; Tabla 1, apartados 3, 4, 5.1 y 8.1	
D02	EP 1108698 A1 (ISOTIS B V)	20.06.2001
D03	SEITZ, H. et al: "Three-dimensional printing of porous ceramic scaffolds for bone tissue engineering" Journal of Biomedical Materials Research. Part B: Applied Biomaterials 24.06.2005, Volumen 74 Páginas 782-788; páginas 4 y 6.	

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

El objeto de la invención es un andamio tridimensional cerámico puro de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable.

El documento D01 recoge las aplicaciones y propiedades de las apatitas nanocristalinas. Dentro de ellas se destaca la fabricación de andamios porosos para su uso como implantes (Tabla 1, apartados 3, 4, 5.1 y 8.1)

El objeto técnico de las reivindicaciones 1-2, 23-24 carece de novedad a la luz de lo divulgado en D01 (Art. 6 LP).

En cuanto a las reivindicaciones dependientes 4-10, relativas a las características morfológicas y propiedades de los andamios obtenidos, se considera que, en la medida que éstas responden a la definición genérica recogida en la reivindicación 1 de la solicitud, carecen de novedad y/o actividad inventiva ya que los andamios obtenidos en el estado de la técnica con la misma composición presentarán análogas propiedades (Art. 6 y 8 LP).

El documento D02 divulga un procedimiento para la obtención de un andamio tridimensional cerámico macroporoso que comprende las etapas de: preparar una suspensión del material cerámico, añadir una fase orgánica, secar la pasta obtenida y eliminar la fase orgánica por descomposición térmica (entre 200-800°C). El material cerámico puede ser hidroxiapatita, y el material orgánico añadido monómeros de metacrilato. El andamio obtenido presenta una porosidad superior al 40% (páginas 3-5).

El documento D03 divulga un procedimiento de obtención de andamios tridimensionales cerámicos (de hidroxiapatita) por prototipado rápido (páginas 4 y 6).

Ninguno de los documentos citados, ni ninguna combinación relevante de los mismos, divulga un andamio tridimensional de cerámica nanocristalina en el que la cerámica sea $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5,7}(\text{SiO}_4)_{0,3}(\text{OH})_{1,7}$, ni un método para la obtención del mismo por prototipado rápido en el que la proporción de componente orgánico en la preparación de la pasta sea inferior al 5% en peso.

Por tanto, el objeto técnico de las reivindicaciones 3,11-22 es nuevo e implica actividad inventiva (Art. 6 y 8 LP).