

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 389 294**

51 Int. Cl.:
A61L 27/12 (2006.01)
A61L 27/50 (2006.01)
A61L 27/54 (2006.01)
A61L 31/02 (2006.01)
A61L 31/12 (2006.01)
A61L 31/14 (2006.01)
A61L 27/42 (2006.01)
G11B 7/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **10704788 .8**
96 Fecha de presentación: **04.02.2010**
97 Número de publicación de la solicitud: **2396046**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **21.12.2011**

54 Título: **Material de regeneración ósea a partir de combinaciones de monetita con otros compuestos bioactivos de calcio y silicio**

30 Prioridad:
10.02.2009 WO PCT/ES2009/070019

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
24.10.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
24.10.2012

73 Titular/es:
AZUREBIO, S. L. (100.0%)
C/ Ronda de Poniente 4
28760 Tres Cantos (Madrid), ES

72 Inventor/es:
GARCÍA DE CASTRO ANDREWS, ARCADIO;
GARCÍA CARRODEGUAS, RAUL;
PADILLA MONDÉJAR, SUSSETTE y
ACOSTA CONTRERAS, NIURIS

74 Agente/Representante:
PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 389 294 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

MATERIAL DE REGENERACIÓN ÓSEA A PARTIR DE COMBINACIONES DE MONETITA CON OTROS COMPUESTOS BIOACTIVOS DE CALCIO Y SILICIO

5

CAMPO DE LA INVENCION

La invención se encuadra en el sector técnico de los biomateriales, más específicamente en el relativo a fosfatos cálcicos que contribuyen positivamente a la regeneración ósea. Los materiales sintéticos a partir de monetita de la presente invención son de aplicación en múltiples tratamientos de regeneración ósea con aplicación médica y veterinaria en cirugía traumatológica, cirugía maxilofacial, cirugía dental, cirugía ortognática, endodoncia, oftalmología, neurocirugía y/o procesos osteoporóticos, y otras indicaciones en las que es necesaria la regeneración de hueso.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15

La pérdida de masa y calidad ósea es un grave problema de salud que resulta aún más acuciante en pacientes de edad avanzada. En tratamientos odontológicos es frecuente que, tras una intervención, se produzca una pérdida de masa ósea que resulte en complicaciones y patologías. Esto ocurre, por ejemplo, en la reabsorción alveolar posterior a una extracción dental y en la enfermedad periodontal. Por otro lado, tanto en traumatología como en otras intervenciones quirúrgicas, la pérdida ósea es un problema serio de la salud que puede incluso ocasionar la muerte del paciente.

20

Desde hace casi un siglo se utilizan biomateriales para reparar o reemplazar segmentos óseos del sistema musculoesquelético. El uso de injertos de hueso autólogo, es decir, del propio individuo, es un método muy utilizado para rellenar cavidades óseas y para reconstrucciones quirúrgicas. Sin embargo, existe un suministro limitado de hueso y además se somete al paciente a un trauma adicional para obtener el injerto.

25

Otra opción la constituyen los aloinjertos de donantes. Sin embargo, estos presentan una velocidad de reabsorción y neoformación ósea más lenta, menor revascularización y capacidad osteogénica, y mayor respuesta inmunogénica y riesgo de transmisión de agentes patógenos. Una alternativa habitualmente utilizada la constituyen materiales a partir de hueso bovino como el BioOss®, GenOx Inorg® y Orthoss® de uso en odontología. Sin embargo, el uso de estos preparados a partir de material biológico representa problemas de posible contaminación con agentes infecciosos y exige un estricto control de calidad. Con el fin de evitar estos problemas se han desarrollado matrices sintéticas.

30

La investigación en nuevos biomateriales sintéticos para la reparación ósea trata de reducir al máximo la necesidad del injerto óseo, buscando un sucedáneo artificial que con el tiempo se reabsorba y/o integre con el hueso adyacente y, además, sirva de fijación en fracturas osteoporóticas. Las propiedades mecánicas del sucedáneo de mineral óseo deben ser tan cercanas a las del hueso esponjoso como sea posible. El material debe además contribuir a la estabilidad de la fractura y ser suficientemente resistente para disminuir el tiempo necesario de inmovilización o soporte externo. El material sucedáneo debe ser biodegradable, biocompatible y osteoinductor, es decir debe atraer células mesenquimales situadas cerca del implante y favorecer su diferenciación en osteoblastos, y también debe ser osteoconductor, es decir, actuar como guía o patrón para la formación de hueso nuevo.

35

40

Los fosfatos cálcicos tienen especial interés en regeneración ya que se asemejan a la fase mineral del hueso natural y son susceptibles de remodelación ósea y de reabsorción. Los fosfatos cálcicos más comúnmente utilizados incluyen las matrices de hidroxiapatita, fosfato tricálcico, y brushita. Estos materiales pueden administrarse en forma de pastas de cemento, sólidos implantables o formulaciones granulares o pulverulentas.

45

En el desarrollo de matrices de regeneración ósea destacan productos con los que se pretende favorecer la capacidad de regeneración ósea mediante la inducción de un cierto grado de porosidad. La introducción de porosidad en el sistema aumenta considerablemente la superficie de contacto del material en el lugar del implante, y la superficie susceptible de interaccionar con las células de los tejidos circundantes. Ejemplos de gránulos de hidroxiapatita porosa de origen coralino incluyen Interpore® y ProOsteon®. Asimismo, ejemplos de gránulos de hidroxiapatita sintética incluyen Apafill-G® o ENGIpore®. Otros ejemplos comerciales de matrices granulares sintéticas son chronOs® o Cerasorb® de beta-fosfato tricálcico. Este último comercializado en forma de partículas de diferentes tamaños, entre 150 µm y 2000 µm según la necesidad, que se aplican para regeneración alveolar tras su mezcla con sangre del paciente. Otro producto similar, Bi-Ostetic™ esta formado por partículas de 1000 µm a 2000 µm de una mezcla de hidroxiapatita y fosfato tricálcico. Más aún, Collagraft® es otro granulado de hidroxiapatita y fosfato tricálcico que además incorpora colágeno. Otros materiales sintéticos osteoinductores incorporados en productos comerciales como CalMatrix™ incluyen el sulfato cálcico.

En el ámbito de los materiales de creciente interés en la regeneración ósea se encuentra el hidrógeno fosfato de calcio dihidratado [CaHPO₄·2H₂O], de nombre mineralógico “brushita”, que puede encontrarse en la naturaleza o producirse sintéticamente a partir de reacciones ácido-base de fosfatos cálcicos (LeGeros *et al.* 1982 J. Dental Res. 61:343; Brown WE y Chow LC. 1983 J. Dental Res. 62: 672). En el ámbito de la utilización de la brushita recientemente se han descrito combinaciones de brushita con fosfato tricálcico resultantes de un proceso de fabricación con exceso de fosfato tricálcico. Se ha demostrado que un granulado compuesto por 87 % en masa de brushita y 17 % en masa de beta-fosfato tricálcico es más degradable y produce una mayor neo-formación ósea que el granulado comercial BioOss® de hidroxiapatita bovina (Tamimi F. *et al.* 2006 J. Clin. Periodontol 33:922-928).

El hidrogeno fosfato de calcio anhidro [CaHPO₄], de nombre mineralógico “monetita”, es un material significativamente distinto de la brushita, que puede encontrarse como mineral en la naturaleza, o sintetizarse directamente o mediante reacción de descomposición de la brushita. Existen algunos precedentes de uso de monetita en regeneración ósea como por ejemplo descripciones de uso de mineral de monetita natural mezclada con sangre del paciente (Getter L, *et al.* 1972 J. Oral Surg. 30:263–268) o su incorporación en soluciones de proteína (WO98/58602) o polímeros biodegradables (US2005209704). Mas recientemente la monetita, ha sido evaluada en modelos animales de regeneración ósea (Tamimi F. *et al.* 2008 J. Biomed. Mater. Res. 87A:980-988). Sin embargo el uso de la monetita en la regeneración ósea no ha sido explotado por considerarse un material no óptimo en la regeneración ósea por su rápida disolución y poca resistencia. Un ejemplo de esto está recogido en la formulación de gránulos de brushita (Tamimi F. *et al.* 2007 J. Biomed. Mater. Res. 81A:93-102) donde intencionadamente se evitan temperaturas que resultan en la conversión de brushita a monetita

W02007/000608 describe un material sintético que comprende silicio y un ión trivalente seleccionado de entre, ytrio, escandio, aluminio o lantánidos. El silicio incluye sustituciones con silicatos. El fosfato cálcico corresponde a hidroxiapatita o apatita. El compuesto conteniendo calcio se calienta para dar lugar a monetita. El material sintético se utiliza como hueso sintético y material biomédico.

W02008/095307 describe un material endoprotésico biocerámico conteniendo un principio activo, y donde el polvo cerámico hecho de monetita, y otros compuestos bioactivos de calcio se mezclan con un cohesionante y sustancias bioactivas para proporcionar un material sintético.

US6309422 describe un material sintético para regeneración ósea conteniendo un compuesto de cálcico y una proteína: en un ratio, en peso, dl compuesto de calcio y la proteína entre 90:10 y 70:30. Más aun, el compuesto de calcio comprende uno de los siguientes a) Fosfato Cálcico (Ca₃(PO₄)₂), b) Carbonato Cálcico

(Ca(CO₃)), c) Fluorapatita (Ca₁₀(PO₄)₆F₂), d) Monetita (CaHPO₄), o e) Hydroxyapatita (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂). Los compuestos bioactivos de calcio se mezclan con proteína y otros compuestos aditivos biocompatibles.

5 US2005/031704 describe composiciones que comprenden un material sintético compuesto de compuestos bioactivos de calcio y monetita que pueden ser usados como implantes protésicos y recubrimientos de implantes protésicos.

US2002/084194 describe un dispositivo medico recubierto electrolíticamente con una capa de material compuesto: la capa de material compuesto que está depositada electrolíticamente sobre la superficie del dispositivo medico comprende hidroxiapatita, monetita, compuestos bioactivos de calcio y quitosano.

10 US2007/022912 describe un cemento que comprende un material sintético que tras el endurecimiento comprende fosfato de amonio y magnesio y nanoapatita y que al mismo tiempo tiene una resistencia considerable. El material comprende también calcio bioactivo que comprende monetita y fosfatos cálcicos además de aditivos como polímeros y agentes activos. El material sintético es biodegradable.

W02009/077210 describes un material sintético que comprende monetita.

15

SUMARIO DE LA INVENCION

En la presente invención se describen matrices de monetita sintéticas mejoradas a partir de la introducción de otros compuestos bioactivos de calcio que modulan la velocidad de degradación del material resultante, promueven la regeneración ósea, mejoran sus propiedades osteoinductoras, osteoconductoras y biomecánicas.

20

La presente invención incorpora nuevos materiales para regeneración ósea, su método de obtención, y aplicación en cirugía traumatológica, cirugía maxilofacial, cirugía dental, cirugía ortognática, endodoncia, oftalmología, neurocirugía y/o procesos osteoporóticos, y otras indicaciones en las que es necesaria la regeneración de hueso. Los materiales están basados en elementos biocompatibles, biodegradables,

25

osteoconductores y osteoinductores. En particular, la presente invención incorpora materiales sintéticos con un 20 % a un 95 %, preferiblemente entre un 40 % y un 90 %, en masa total de monetita [Ca_{1-x}M_xHPO₄, donde 0 ≤ x ≤ 0,05, y donde M puede ser un ión metálico divalente], que en su composición final incorporan entre un 0 % y un 80 %, preferiblemente entre un 0 % y un 60 %, en masa de compuestos bioactivos de calcio y entre un 5% y un 8% en masa total de compuestos bioactivos de silicio seleccionados entre

30

wollastonita, silicatos cálcicos mixtos, silicato dicálcico, silicato tricálcico, y vidrios y geles bioactivos de sílice y sus combinaciones. La incorporación de estos compuestos bioactivos de calcio y/o silicio permite modular la velocidad de degradación y las propiedades osteoconductoras, osteoinductoras y biomecánicas de matrices que contienen monetita. Los compuestos bioactivos de calcio incluyen fosfatos cálcicos, y los compuestos bioactivos de silicio incluyen silicatos cálcicos, y/o vidrios bioactivos y geles de sílice. Asimismo, los

35

materiales de la presente invención pueden incorporar fármacos y/o agentes biocompatibles, y/o agentes protectores en solución, o como partículas o gránulos, o en forma de fibras, que favorecen la regeneración ósea, manifiestan determinada acción terapéutica, modulan la velocidad de degradación o confieren una mejora de las propiedades mecánicas. Estos materiales pueden fabricarse a partir de reacciones ácido-base que dan lugar a materiales conteniendo brushita, otros productos de la reacción y reaccionantes remanentes.

40

La conversión de la fracción de brushita en monetita mediante tratamiento de calor origina los materiales deseados. Estos materiales pueden fabricarse en forma de polvos, gránulos o como piezas con una forma predeterminada mediante un molde o métodos de conformado tridimensional, y su forma final puede ser modificada mediante tallado, esculpido o pulverizado para dar lugar a la forma final deseada. Los materiales pueden fabricarse para contener agentes biocompatibles y/o fármacos que favorezcan la regeneración ósea,

y pueden obtenerse con distinta resistencia mecánica y grados de porosidad, interconectada o no, y distintos tamaño de poro.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- 5 La presente invención incorpora nuevos materiales para regeneración ósea, su método de obtención, y aplicación en cirugía traumatológica, cirugía maxilofacial, cirugía dental, cirugía ortognática, endodoncia, oftalmología, neurocirugía y/o procesos osteoporóticos, y otras indicaciones en las que es necesaria la regeneración de hueso. Los materiales están basados en elementos biocompatibles, bioactivos, biodegradables, osteoconductores y osteoinductores. En la presente invención los materiales descritos se refieren a las siguientes fórmulas químicas y definiciones:
- 10
- Monetita: nombre mineralógico de hidrogeno fosfato de calcio anhidro $[CaHPO_4]$, también incorpora monetita parcialmente sustituida $[Ca_{1-x}M_xHPO_4]$, donde $0 < x \leq 0,05$, y donde M es un ión metálico divalente como Mg, Sr, Ba, Fe, Zn, entre otros].
 - Brushita: nombre mineralógico de hidrogeno fosfato de calcio dihidratado $[CaHPO_4 \cdot 2H_2O]$, también incorpora brushita parcialmente sustituida $[Ca_{1-x}M_xHPO_4 \cdot 2H_2O]$, donde $0 < x \leq 0,05$, y donde M es un ión metálico divalente como Mg, Sr, Ba, Fe, Zn, entre otros].
 - Dihidrógenofosfato de calcio anhidro: $[Ca(H_2PO_4)_2]$.
 - Dihidrógenofosfato de calcio monohidratado: $[Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O]$.
 - Fosfato tricálcico: $[Ca_3(PO_4)_2]$ indistintamente cualquiera de los polimorfos cristalinos estables, beta-fosfato tricálcico $[\beta-Ca_3(PO_4)_2]$ o alfa-fosfato tricálcico $[\alpha-Ca_3(PO_4)_2]$, y fosfato tricálcico amorfo.
 - Fosfato octacálcico: $[Ca_8H_2(PO_4)_6 \cdot 5H_2O]$.
 - Hidroxiapatitas: Nombre mineralogico de familia de compuestos con fórmula química $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ donde el Ca puede ser sustituido parcialmente por Na, K, Sr, Mg, Zn, el PO_4 puede ser sustituido parcialmente por HPO_4 , CO_3 , SiO_4 , y el OH puede ser sustituido parcialmente por F, Cl, CO_3 . Estas pueden ser tanto bien cristalizadas como poco cristalizadas.
 - Wollastonita: silicato de calcio $[CaSiO_3]$, indistintamente alfa-wollastonita $[\alpha-CaSiO_3]$ ó beta-wollastonita $[\beta-CaSiO_3]$.
 - Silicato cálcico mixto: $[CaM(SiO_3)_2]$ donde M puede ser un ión metálico divalente como Mg, Sr, Ba, Fe, Zn.
 - Silicato dicálcico: $[Ca_2SiO_4]$, indistintamente alfa-silicato dicálcico $[\alpha-Ca_2SiO_4]$, beta-silicato dicálcico $[\beta-Ca_2SiO_4]$, y gamma-silicato dicálcico $[\gamma-Ca_2SiO_4]$.
 - Silicato tricálcico: $[Ca_3SiO_5]$.
 - Vidrios bioactivos de sílice: Materiales vítreos, obtenidos tanto por métodos de fusión como por sol-gel, que incluyen en su composición Si y Ca, que además pueden contener P, Na, Mg, Sr, entre otros, en concentraciones tales que se permitan obtener un material bioactivo. Vidrios bioactivos de sílice incluyen los sistemas SiO_2-CaO , $SiO_2-CaO-P_2O_5$, $SiO_2-CaO-ZnO$, $SiO_2-CaO-MgO$, $SiO_2-CaO-P_2O_5-ZnO$, and/or $SiO_2-CaO-P_2O_5-MgO$
 - Gel de sílice hidratada: $[-Si(OH)_2-O-]_n$.
- 15
- 20
- 25
- 30
- 35
- 40 En particular, la presente invención incorpora materiales sintéticos que contienen entre 20 % y 95 %, preferiblemente entre 40 % y 90 %, en masa total de monetita $[Ca_{1-x}M_xHPO_4]$, donde $0 \leq x \leq 0,05$, y donde M es un ión metálico divalente como Mg, Sr, Ba, Fe, Zn, entre otros], que en su composición final incorporan entre 0 % y 80%, preferiblemente entre 0 % y 60 % en masa total, de otros compuestos de calcio bioactivos y entre un 5% y un 80% en masa total de compuestos bioactivos de sílicio como se recoge en la reivindicación

1. La monetita es un material osteoconductor que por su poca resistencia mecánica y rápida disolución en el organismo o medios biológicos, no resulta favorable para aplicaciones de regeneración ósea. La incorporación de compuestos de calcio bioactivos de la presente invención permite modular la velocidad de degradación de los materiales resultantes y mejora sus propiedades osteoconductoras, osteoinductoras y biomecánicas.

Obviamente, los compuestos sintéticos descritos en la presente invención no están limitados a estos componentes y pueden incorporar otros componentes.

Los "compuestos de calcio bioactivos" incorporados en las matrices de monetita incluyen fosfatos cálcicos distintos de la monetita, entre otros, brushita, el fosfato tricálcico, hidroxiapatitas, y fosfato octacálcico, entre otros.

Los "compuestos bioactivos de silicio" incluyen wollastonita, silicatos cálcicos mixtos, silicato dicálcico, silicato tricálcico, y vidrios y geles bioactivos de sílice. Los vidrios de sílice incluyen vidrios, obtenidos tanto por métodos de fusión como por métodos de sol-gel, que tienen en su composición Si y Ca, que además pueden contener P, Na, Mg, Sr, entre otros, en concentraciones tales que se obtenga un material bioactivo.

Tal y como queda ilustrado, sin limitación por los Ejemplos 1-13, estos compuestos bioactivos de calcio y compuestos bioactivos de silicio, pueden incorporarse a matrices de monetita generadas a partir de reacciones heterogéneas ácido-base que dan lugar a brushita que posteriormente es descompuesta en monetita.

En un primer paso en el proceso de síntesis de los materiales de la presente invención se lleva a cabo una reacción ácido-base en la que el componente ácido es una solución de ácido ortofosfórico [H_3PO_4] o sus sales diácidas de metales alcalinos o alcalino térreos, preferiblemente de Ca o Mg, tales como el dihidrógenofosfato de calcio anhidro o dihidrógenofosfato de calcio monohidratado, y los componentes básicos son compuestos bioactivos de calcio y/o compuestos bioactivos de silicio. La adición del componente básico sólido en exceso a la mezcla de reacción resulta en una matriz de brushita, como producto de la reacción, conteniendo el exceso de compuestos bioactivos de calcio sin reaccionar y/o compuestos bioactivos de silicio. El resultado de la reacción ácido-base, con exceso de los compuestos bioactivos de calcio y/o compuestos bioactivos de silicio actuando como componentes básicos, origina sólidos conteniendo entre un 24 % y un 96 % en masa de brushita y entre un 4 % y un 76 % en masa de compuestos bioactivos de calcio y/o compuestos bioactivos de silicio sin reaccionar según la formulación inicial de la reacción ácido-base. En la formulación de la reacción ácido-base, los componentes sólidos básicos generalmente tienen un tamaño de partícula comprendido entre 0,01 μm y 300 μm , preferiblemente entre 0,05 μm y 100 μm , y se encuentran en una proporción, líquido/sólido, entre 0,4 ml/g y 3 ml/g, preferiblemente entre 0,8 ml/g y 2 ml/g. La mezcla de los componentes de la reacción ácido-base origina una pasta que rápidamente solidifica, por precipitación de la brushita producto de la reacción, con la forma y tamaño del molde que la contiene. Cuando uno de los componentes básicos de la mezcla de reacción es una wollastonita, silicatos cálcicos mixtos, silicato dicálcico, silicato tricálcico y/o vidrios bioactivos de sílice, uno de los productos de la reacción ácido-base, además de la brushita, es un gel de sílice hidratado que embebe la matriz sólida resultante.

Para retardar la reacción ácido-base y permitir una mejor manipulación de la pasta, la solución acuosa preferiblemente incorpora un agente retardador que incluye, entre otros, sin limitación, ácido cítrico [$C_6H_8O_7$] o sus sales alcalinas o amoniacales, ácido sulfúrico [H_2SO_4] o sus sales alcalinas, amoniacales o de metales alcalino térreos, ácido glicólico [$C_2H_4O_3$] o sus sales alcalinas o amoniacales, ácido acético [$C_2H_4O_2$] o sus sales alcalinas o amoniacales, y ácido pirofosfórico [$H_4P_2O_7$], o sus sales alcalinas o amoniacales, entre otros.

En un segundo paso en el proceso de síntesis de los materiales de la presente invención, se lleva a cabo una descomposición de la fracción de brushita en monetita mediante tratamiento térmico a temperaturas entre 40

°C y 400 °C, preferiblemente entre 40 °C y 200 °C. Este tratamiento térmico puede llevarse a cabo en un segundo paso o realizarse simultáneamente a la formación de brushita a partir de la reacción ácido-base. La descomposición de la fracción de brushita da lugar a los materiales de la presente invención conteniendo entre un 20 % y un 95 %, preferiblemente entre un 40 % y un 90 %, en masa de monetita, y entre un 0 % y un 80 %, preferiblemente entre un 0 % y un 60 %, en masa de compuestos bioactivos de calcio y entre un 5% y un 80% en masa total de compuestos bioactivos de silicio.

Tal y como queda ilustrado, sin limitación por los Ejemplos 6, 7 y 13, este método de síntesis también permite la fabricación de matrices de monetita que contienen más de un compuesto bioactivo de calcio y/o compuesto bioactivo de silicio, como por ejemplo la brushita, el fosfato tricálcico; el fosfato octacálcico; hidroxiapatitas; wollastonita y/o vidrios o geles bioactivos de sílice. La incorporación en exceso a la reacción ácido-base de más de uno de estos compuestos de calcio bioactivos origina un producto final que incorpora distintas proporciones de estos compuestos de calcio bioactivos a las matrices de monetita. La presencia de entre un 5% y un 80% en masa total de compuestos bioactivos de silicio representan una realización preferida de la invención. Estos compuestos bioactivos de silicio incluyen wollastonita, silicatos cálcicos mixtos, silicato dicálcico, silicato tricálcico y vidrios y geles bioactivos de sílice. La incorporación de estos compuestos de sílice resulta en materiales con una mayor área superficial y porosidad, mayor cohesión y resistencia mecánica. La incorporación de compuestos bioactivos de sílice tamponan el pH ácido resultante de la disolución y posterior conversión a apatita de la monetita y otros compuestos bioactivos de calcio en la matriz y proporciona matrices que se colonizan rápidamente por células productoras de hueso resultando en su completa osteointegración.

Por tanto, una realización preferida de la presente invención incorpora materiales sintéticos conteniendo entre un 20 % y un 95 %, preferiblemente entre un 40 % y un 90 % en masa total de monetita y entre un 0 % y un 80 %, preferiblemente entre un 0 % y un 60 % en masa total de otros compuestos de calcio bioactivos y entre un 5% y un 80% en masa total de compuestos bioactivos de silicio, y su obtención a partir de reacciones ácido-base de uno o más componentes básicos en exceso, y, cuando es necesaria, la transformación de la fracción de brushita obtenida en monetita.

Tal y como queda ilustrado, sin limitación, en el Ejemplo 8, las matrices de monetita de la presente invención pueden incorporar sustituciones con iones metálicos divalentes (M) como magnesio, estroncio, hierro o zinc, que estimulan la regeneración ósea o colonización y diferenciación celular. La incorporación de estas sustituciones en la fracción de monetita puede llevarse a cabo mediante la incorporación de los iones metálicos a la reacción por adición de las correspondientes sales de dihidrógenofosfato como por ejemplo $Mg(H_2PO_4)_2$, $Zn(H_2PO_4)_2$, $Sr(H_2PO_4)_2$, o de precursores de estas sales, tales como los correspondientes óxidos, hidróxidos, o carbonatos y las cantidades equivalentes de ácido orto-fosfórico. La reacción ácido-base de los dihidrógenofosfatos de calcio y uno o más fosfatos cálcicos básicos en exceso, en presencia de iones metálicos, da lugar a la precipitación de brushita o monetita parcialmente sustituida. La posterior descomposición de la brushita parcialmente sustituida resulta en matrices de monetita parcialmente sustituida que contienen otros compuestos bioactivos de calcio y/o compuestos bioactivos de silicio. Los materiales pueden fabricarse con distintas proporciones de monetita, monetita parcialmente sustituida, y otros compuestos de calcio bioactivos y/o compuestos bioactivos de silicio. En una realización de la presente invención la monetita parcialmente sustituida puede suponer casi la totalidad del material final. En una realización de la invención la cantidad del ión divalente que sustituye a iones calcio es inferior al 5 %, preferiblemente entre 2 % y 4 %, atómico en la fracción de monetita, tal y como queda recogido en la fórmula $[Ca_{1-x}M_xHPO_4]$, donde $0 \leq x \leq 0,05$ y donde M es un ion divalente metálico. Estos materiales demuestran propiedades osteoinductoras y osteoconductoras significativamente mayores, y biodegradabilidad significativamente menor que las de monetita sin sustituir. Por lo tanto, en una realización preferida de la

presente invención la fracción de monetita está parcialmente sustituida por Mg, Zn, y/o Sr. Una realización aún más preferida, ilustrada sin limitación por el Ejemplo 13, incorpora compuestos bioactivos de silicio en combinación con monetita parcialmente sustituida con Mg, Zn, y/o Sr. Estos materiales presentan ventajas significativas sobre materiales sin sustituciones y que no incorporan compuestos de sílice, presentando una mayor consistencia y dureza y capacidad de inducir la formación de hueso tanto *in vivo* como *in vitro*.

Tal y como queda ilustrado, sin limitación, en los Ejemplos 9 y 10, los materiales de la presente invención pueden incorporar "agentes biocompatibles" que modulen la biodegradabilidad, favorezcan la formación de hueso y/o aumenten la resistencia del material, como por ejemplo, albúmina, ácido hialurónico, agarosa, alginato, caseína, colágeno, celulosas, elastina, fibrina, gelatina, quitosano, seda, o de origen sintético como ácido poliláctico, ácido poliglicólico, poliuretano, polipropileno, policaprolactona, polivinilpirrolidona, alcohol polivinílico, poliamidas, policarbonato, politetrafluoretileno, y los derivados y mezclas de estos, entre otros. Algunos de estos agentes biocompatibles pueden incorporarse a las matrices de monetita durante el proceso de fabricación a partir de su disolución en la fase acuosa de la reacción ácido-base, tal y como queda ilustrado, sin limitación, por el Ejemplo 9. En este caso, los materiales en disolución se distribuyen homogéneamente en las matrices de monetita, confiriendo una mayor resistencia y/o mejoras en su capacidad de regenerar hueso y/o su biodegradabilidad. En una realización de la presente invención la concentración de materiales solubles es menor del 15 %, preferiblemente menor del 7 % y más aún inferior al 5 % en masa de los materiales conteniendo monetita.

En otra realización de la invención los agentes biocompatibles son poco solubles en un medio acuoso y se incorporan a la reacción ácido-base en forma de suspensiones, emulsiones, precipitados, polvos, granulados o fibras, tal y como queda ilustrado, sin limitación, por el Ejemplo 10. En el caso de la incorporación en forma de fibras, estas pueden tener unos diámetros que pueden variar entre 10 μm y 2000 μm , preferiblemente entre 50 μm y 1000 μm , y pueden constituir hasta un 70 % en volumen del material conteniendo monetita. Las fibras de rápida disolución *in vivo* favorecen la formación de poros interconectados y la colonización celular por invasión del material por células osteoprogenitoras.

La incorporación de estos agentes biocompatibles no solo confiere a las matrices de monetita una mayor resistencia, sino también mejora las propiedades reológicas de la pasta y contribuye a una mayor capacidad de regenerar hueso. Esto es de especial aplicación en la fabricación de piezas tanto por métodos de conformado tridimensional como a partir de un molde con la forma y tamaño según la aplicación deseada y/o las necesidades del paciente.

Los materiales de la presente invención pueden también formularse para que contengan "agentes farmacológicos" que favorezcan los procesos de regeneración ósea, tal y como queda ilustrado, sin limitación en el Ejemplo 11. Estos agentes farmacológicos incluyen, sin limitación, compuestos o macromoléculas sintéticas o biológicas que favorecen los procesos de regeneración ósea y/o ejercen alguna acción terapéutica. Estos agentes farmacológicos incluyen antibióticos, antiinflamatorios, agentes antitumorales, bisfosfonatos, ácidos nucleicos, y factores de crecimiento celular tales como factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), proteína morfogenética ósea (BMP), factor de crecimiento transformador- β (TGF- β), hormona de crecimiento (GH), factor de crecimiento insulario-1 (IGF1); factor de crecimiento insulario-2 (IGF2), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF).

Estos agentes farmacológicos pueden incorporarse en solución o en forma de polvos o gránulos a la reacción ácido-base. Asimismo, para mejorar la estabilidad de los agentes farmacológicos se pueden añadir a la fase acuosa de la reacción ácido-base agentes estabilizadores y/o protectores como por ejemplo, y sin limitación, trehalosa, sacarosa, rafinosa, manitol, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, albúmina, colágeno y/o gelatina. La adición de estos agentes estabilizadores y/o protectores evita la degradación del agente farmacológicos durante el tratamiento térmico de conversión de la fracción de brushita en monetita y confiere estabilidad a

largo plazo. De forma alternativa, los agentes farmacológicos pueden incorporarse a los materiales de la presente invención por impregnación del producto final de la reacción ácido-base, o por impregnación del producto final tras el tratamiento térmico de conversión de brushita en monetita. La incorporación de agentes estabilizadores y/o protectores evita la degradación de los agentes farmacológicos durante el proceso de impregnación, tratamiento térmico, secado y/o almacenaje.

Tal y como queda ilustrado, sin limitación, por el Ejemplo 12, los materiales conteniendo monetita pueden formularse con diferentes grados de porosidad y con poros de distintos tamaños, aislados o comunicados entre sí. Esto puede llevarse a cabo mediante la incorporación de agentes que resultan en la liberación de gas durante el proceso de reacción ácido-base y endurecimiento de la pasta. Ejemplos de estos agentes porogénicos incluyen, sin restricción, carbonato cálcico, bicarbonato cálcico, bicarbonato sódico o peróxido de hidrógeno, entre otros compuestos. La liberación de gas origina que los materiales tras su endurecimiento tengan una porosidad inducida, esto es, adicional a la porosidad intrínseca del material, de hasta un 60 % en volumen, y diámetros de poro que pueden variar entre 1 μm y 1000 μm . Asimismo también puede aumentarse la porosidad de los materiales de la presente invención mediante la incorporación a la mezcla de reacción ácido-base de aditivos que tras el endurecimiento y posterior disolución originen la formación de poros. Ejemplos de estos aditivos incluyen, sin restricción, sales orgánicas e inorgánicas, azúcares, alcoholes de azúcares, aminoácidos, proteínas, polisacáridos, o polímeros solubles. Asimismo, los materiales de la presente invención pueden fabricarse con una porosidad diseñada llevando a cabo la reacción ácido-base y endurecimiento de la pasta en un molde que una vez eliminado origina una macroporosidad definida como poros o canales típicamente con un diámetro superior a 200 μm .

Los materiales de la presente invención pueden fabricarse en forma de polvos, gránulos, o en forma de piezas con forma, tamaño y macroporosidad predeterminadas por un molde. Los reaccionantes también pueden incorporarse a sistemas de conformación, como impresión tridimensional o extrusión, para la fabricación de piezas tridimensionales con la forma, tamaño y estructura de poro deseadas. Asimismo, una vez endurecida la pasta tras la reacción ácido-base, la forma y tamaño del sólido resultante puede modificarse mediante fragmentación, abrasión, raspado, triturado y/o pulverizado. Este procedimiento puede llevarse a cabo antes o después de la conversión de la fracción de brushita en monetita. Las piezas formadas a partir de los materiales de la presente invención son de aplicación en intervenciones quirúrgicas en las que es necesaria la reconstrucción, o fusión, de masa ósea con una forma y tamaño determinados.

En otra forma preferida de la presente invención el material se produce en forma de gránulos. El tamaño de gránulo puede ser de 50 μm a 4000 μm . Preferiblemente el tamaño de gránulo está en un rango entre 200 μm y 2000 μm . Esta forma granular es de especial interés en la reconstrucción alveolar y otras indicaciones donde es necesaria la neoformación de hueso en una cavidad.

Los materiales conteniendo monetita y otros compuestos bioactivos de calcio y/o compuestos bioactivos de silicio descritas en la presente invención son biocompatibles, biodegradables, osteoinductores y osteoconductores, y tienen interés especial y aplicabilidad en la elaboración de materiales con aplicación médica y veterinaria en cirugía traumatológica, cirugía maxilofacial, cirugía dental, cirugía ortognática, endodoncia, oftalmología, neurocirugía y/o procesos osteoporóticos. Asimismo, tal y como queda ilustrado por el Ejemplo 5, los materiales de la presente invención son de utilidad en el cultivo *in vitro* de células autólogas que implantadas junto con los materiales de la presente invención aceleran el proceso de regeneración ósea. La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes 13 Ejemplos, los cuales son ilustrativos y no pretenden ser limitativos en su alcance.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1: Material de monetita y fosfato tricálcico

Para obtener un material compuesto por monetita y fosfato tricálcico $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$ se mezclan íntimamente las cantidades de reaccionantes indicadas en la Tabla 1 de beta ó alfa-fosfato tricálcico y de dihidrógenofosfato de calcio anhidro $[\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2]$. A la mezcla de polvos se añaden 2,0 mL de una solución 0,8 M de ácido cítrico y la pasta resultante se mezcla rápidamente durante 1 min y se deja reposar durante 24 h en una cámara a 100 % de humedad relativa y temperatura de 50-60 °C para completar la reacción ácido-base y descomponer la brushita formada en monetita. Las pastas endurecidas se secan en la estufa a 100-110 °C y se Trituran y clasifican por tamices para recolectar las fracciones con el tamaño de partículas deseado. La composición final de fases de los granulados obtenidos se determina mediante difracción de rayos X (cualitativa) y análisis termo-gravimétrico (cuantitativa) y se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1

Cantidades de reaccionantes			Composición de fases final	
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (g)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ (g)	A. Cítrico 0,8 M (mL)	% masa CaHPO_4	% masa $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
(β) 1,26	0,96	2,0	96 %	(β) 4 %
(β) 1,42	0,80	2,0	82 %	(β) 18 %
(β) 1,62	0,60	2,0	63 %	(β) 37 %
(β) 1,74	0,48	2,0	41 %	(β) 59 %
(α) 1,42	0,80	2,0	84 %	(α) 16 %
(α) 1,74	0,48	2,0	43 %	(α) 57 %

EJEMPLO 2: Material de monetita y fosfato octacálcico

Para obtener un material compuesto por un 80-85 % en masa de monetita y 15-20 % en masa de fosfato octacálcico $[\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}]$, se mezclan íntimamente 0,60 g de dihidrógenofosfato de calcio anhidro y 1,62 g de fosfato octacálcico. A la mezcla de polvos se añaden 2,0 mL de una solución 0,8 M de ácido cítrico y la pasta resultante se mezcla rápidamente durante 1 min y se deja reposar durante 24 h en una cámara a 100 % de humedad relativa y temperatura de 50-60 °C para completar la reacción ácido-base y descomponer la brushita formada a monetita. La pasta endurecida se deja secar al aire y se Tritura y clasifica por tamices para colectar las fracciones con el tamaño de partículas deseado. El granulado obtenido se esteriliza mediante una dosis de 25 kGy de radiación gamma.

EJEMPLO 3: Material de monetita e hidroxiapatita

Para obtener un material compuesto por un 80-85 % en masa de monetita y 15-20 % en masa de hidroxiapatita $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$, se mezclan íntimamente 0,88 g de dihidrógenofosfato de calcio anhidro y 1,34 g de hidroxiapatita. A la mezcla de polvos se añade 2,0 mL de una solución 0,8 M de ácido cítrico y la pasta resultante se mezcla rápidamente durante 1 min y se deja reposar durante 24 h en una cámara a 100 % de humedad relativa y temperatura de 50-60 °C para completar la reacción ácido base y descomponer la brushita formada a monetita. La pasta endurecida se deja secar al aire y se Tritura y clasifica por tamices para colectar las fracciones con el tamaño de partículas deseado. El material resultante se esteriliza mediante una dosis de 25 kGy de radiación gamma.

EJEMPLO 4: Solubilidad de distintos materiales de monetita con compuestos bioactivos de calcio

Para determinar la velocidad de disolución de materiales con distintas proporciones de monetita y distintos compuestos bioactivos de calcio se toman 100 mg de cada una de ellas, previamente molidas hasta un tamaño de partícula inferior a 100 μm y se colocan en viales. A cada vial se añaden 100 mL de solución tamponada de pH 6,0 (100 mM KCOOCH_3 ; ajustada con KOH y/o HCOOCH_3). Los viales se tapan y se colocan en un agitador orbital a 36,5 $^\circ\text{C}$ durante 30 min. La solución sobrenadante se filtra a través de una membrana de teflón (0,45 μm) y se determina la concentración de calcio (Ca) en el filtrado mediante espectrofotometría de plasma inducido. Se realizan tres réplicas de cada formulación. La media de la concentración de Ca disuelta para cada material después de incubación en la solución tamponada se muestra en la Tabla 2. La cantidad de Ca disuelto, y por tanto la solubilidad del material, depende directamente de la razón monetita/fosfato cálcico existente en el granulado para un mismo tipo de fosfato de calcio. Para materiales conteniendo monetita y diferentes fosfatos de calcio con la misma razón monetita/fosfato de calcio, la solubilidad depende del tipo de fosfato de calcio en el orden fosfato octacálcico > α -fosfato tricálcico > β -fosfato tricálcico > hidroxiapatita.

Tabla 2

Composición de fases final		Ca disuelto en 30 min (mg/L)
% masa CaHPO_4	% masa Fosfato de calcio	
96 %	4 % $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	98 \pm 1
82 %	18 % $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	85 \pm 1
63 %	37 % $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	70 \pm 2
41 %	59 % $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	62 \pm 2
84 %	16 % $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	90 \pm 1
81 %	19 % $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	78 \pm 2
60 %	40 % $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	64 \pm 2
81 %	19 % $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	96 \pm 1
65 %	35 % $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	93 \pm 1

EJEMPLO 5: Colonización celular y regeneración ósea de materiales de monetita con compuestos bioactivos de calcio

Para determinar la capacidad de regeneración ósea de las distintas matrices de monetita conteniendo compuestos bioactivos de calcio, estas se incuban en presencia de células madre de médula ósea de conejo. Brevemente, se recolectan células de médula ósea de conejo y suspenden en 10 mL de Medio Mínimo Esencial con sales de Earl, glutamina y aminoácidos no esenciales (E-MEM) y suplementado con 1mM de piruvato sódico, 1,5 g/L bicarbonato sódico, 60 mg/mL de sulfato de kanamicina y 15% de suero fetal bovino. A pocillos conteniendo 0,5 g del material a evaluar en forma de gránulos entre 200 μm y 2000 μm de diámetro, se añade una suspensión celular conteniendo 10^5 células. La colonización celular de los materiales se determina al cabo de 7 días de incubación mediante método indirecto de tinción por MTT (según Mosman T 1983 J. Immunol. Meth. 65: 55-63). Asimismo para determinar la capacidad de formación de hueso se implantan los distintos materiales en un modelo de conejo a las que se practica un orificio de 1 cm de diámetro en la calota. La evaluación del material se lleva a cabo después de seis semanas tras el implante mediante sacrificio del animal y correspondiente autopsia. Asimismo, uno de los materiales colonizados por células se utiliza como implante en el modelo de regeneración ósea. La Tabla 3 recoge los datos del modelo de crecimiento celular y evaluación *in vivo* de distintos materiales de monetita conteniendo compuestos

bioactivos de calcio. Los efectos observados se clasifican como "Muy abundante: +++++", "Abundante: ++++", "Moderado: +++", "Escaso: ++", "Ausente: +". La incorporación de compuestos bioactivos de calcio resulta en una mejora en la capacidad de soportar el crecimiento celular y su capacidad de regeneración ósea.

Tabla 3

Composición de fases final		Crecimiento celular [evaluación por MTT]	Regeneración ósea [Evaluación <i>in vivo</i>]
% masa CaHPO ₄	% masa Fosfato de calcio		
98%	2% [β -Ca ₃ (PO ₄) ₂]	++	++
82%	18% β -Ca ₃ (PO ₄) ₂]	++++	++++
82%	18% β -Ca ₃ (PO ₄) ₂] + células	No evaluado	+++++
63%	37% [β -Ca ₃ (PO ₄) ₂]	++++	++++
41%	59% [β -Ca ₃ (PO ₄) ₂]	+++	+++
84%	16% [α -Ca ₃ (PO ₄) ₂]	++	+++
0 %	100% [β -Ca ₃ (PO ₄) ₂]	++	++
81%	19% [Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂]	++++	+++
60%	40% [Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂]	++++	+++
0%	100% [Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂]	++	++
81%	19% [Ca ₈ H ₂ (PO ₄) ₆ .5H ₂ O]	++++	+++
0%	100% [Ca ₈ H ₂ (PO ₄) ₆ .5H ₂ O]	++	+

5 **EJEMPLO 6: Materiales de monetita, wollastonita y gel de sílice hidratado con o sin beta-fosfato tricálcico.**

Para obtener un material compuesto por un 38-43 % en masa de monetita, 34-39 % en masa de alfa-wollastonita [α -CaSiO₃] y 21-26 % en masa de gel de sílice hidratada [-Si(OH)₂-O]_n, se añaden 2,66 mL de una disolución acuosa de ácido ortofosfórico (3,5 M) y ácido cítrico (0,8 M) a 2,22 g de alfa-wollastonita con tamaño de partícula inferior a 50 μ m. Los componentes se mezclan rápidamente durante 1 min para obtener una pasta. Alternativamente, para obtener un material con un 38-43 % en masa de monetita, 33-38 % de beta-fosfato tricálcico, 0-2% de alfa-wollastonita, y 21-26% en masa de gel de sílice hidratada amorfa, se mezclan 1,11 g de alfa-wollastonita y 1,11 g de beta-fosfato tricálcico, ambos con tamaño de partícula inferior a 50 μ m, y se añaden 2,66 mL de una disolución acuosa de ácido orto-fosfórico (3,5 M) y ácido cítrico (0,8 M). Los componentes se mezclan rápidamente durante 1 min para obtener una pasta.

Las pastas resultantes de las distintas composiciones se vierten en moldes de silicona con forma de discos de 20 mm de diámetro y 5 mm de altura. Las piezas en forma de disco obtenidas por el endurecimiento de la pasta se dejan reposar durante 24 h en una cámara a 100 % de humedad relativa y temperatura de 20-30 °C para completar la reacción ácido-base. Los discos se secan en estufa a 100-110 °C para descomponer la brushita a monetita y eliminar el agua absorbida en el gel de sílice. La composición de fases de los sólidos obtenidos se determina por difracción de rayos X y análisis térmico como queda recogido en la Tabla 4.

La bioactividad *in vitro* de los materiales se compara con la de un material con la misma forma de disco compuesto por 40 % en masa de monetita y 60 % en masa de beta-fosfato tricálcico. Para esto los discos se incuban durante diferentes períodos de tiempo en fluido fisiológico simulado (pH 7,3 a 36,5 °C) y se determinan los tiempos a los que aparecen los primeros signos y el recubrimiento total de la superficie por apatita globular (según Kokubo y Takadama 2006 *Biomaterials* 27:2907-29). La incorporación de alfa-wollastonita y el gel de sílice hidratado a las matrices de monetita resulta en un aumento de la bioactividad *in vitro* de los materiales resultantes según muestra la Tabla 4.

Tabla 4

Composición de Fases del Material (% en masa)	Inicio del recubrimiento	Recubrimiento total
40% Monetita 37% beta-fosfato tricálcico 23% gel de sílice hidratada	6 h	24 h
40% Monetita 36% beta-fosfato tricálcico 1% wollastonita 23% gel de sílice hidratada	12 h	48 h
40% Monetita 60%/beta-fosfato tricálcico	48 h	96 h

EJEMPLO 7: Material de monetita, vidrio bioactivo y gel de sílice hidratada con o sin fosfato tricálcico.

- 5 Para obtener un material compuesto por un 41-45 % en masa de monetita, 26-30% de vidrio bioactivo de composición $70\text{SiO}_2\text{-}30\text{CaO}$ y gel 27-31 %de sílice hidratada $[-\text{Si}(\text{OH})_2\text{-O-}]_n$, se mezclan 1,54 g de vidrio bioactivo con tamaño de partícula inferior a $100\ \mu\text{m}$ y 0,96 g de dihidrógeno fosfato de calcio anhidro. A la mezcla de polvos se añaden 2,71 mL de una disolución acuosa de ácido glicólico 1,0 M y se mezcla rápidamente durante 1 min para obtener una pasta.
- 10 Alternativamente, para obtener un material compuesto por 41-45 % en masa de monetita 12-16% beta-fosfato tricálcico y 12-16% de vidrio bioactivo, y un 27-31% de gel amorfo de sílice hidratada, se mezclan 1,27 g de vidrio bioactivo de composición $70\text{SiO}_2\text{-}30\text{CaO}$ con tamaño de partícula inferior a $100\ \mu\text{m}$, 0,40 g de beta-fosfato tricálcico con tamaño de partícula inferior a $100\ \mu\text{m}$, y 1,04 g de dihidrógeno fosfato de calcio anhidro. A la mezcla de polvos se añaden 2,71 mL de una disolución acuosa de ácido cítrico 0,8 M, y se mezcla rápidamente durante 1 min para obtener una pasta.
- 15 Las pastas resultantes se introducen en moldes de silicona con cavidades de 20 mm de diámetro y 5 mm de altura. Se deja reposar en el molde durante 48 h en una cámara a 100 % de humedad relativa y temperatura de 50-60 °C para completar la reacción ácido-base y descomponer la brushita producida a monetita. Los discos endurecidos se extraen del molde y se secan en estufa a 100-110 °C para eliminar el agua absorbida
- 20 en el gel de sílice. Los sólidos obtenidos se caracterizan por difracción de rayos X y análisis térmico. Los discos obtenidos de ambos materiales se incuban durante diferentes períodos de tiempo en fluido fisiológico simulado (pH 7,3 a 36,5 °C) y se determinan los tiempos a los que aparecen los primeros signos y el recubrimiento total de la superficie por apatita globular (según Kokubo y Takadama 2006 *Biomaterials* 27:2907-29). Tal y como demuestra la Tabla 5, la bioactividad *in vitro* es mayor para los materiales que
- 25 contienen vidrio bioactivo.

Tabla 5

Composición de Fases del Material (% en masa)	Inicio del recubrimiento	Recubrimiento total
43% Monetita 28% vidrio bioactivo 29% gel de sílice	3 h	24 h
43 Monetita 14% beta-fosfato tricálcico	3 h	24 h

14% vidrio bioactivo		
29% gel de sílice		
100% Monetita	96 h	120 h

EJEMPLO 8: Material de monetita parcialmente sustituida con iones metálicos y fosfato tricálcico

5 Para obtener materiales compuestos por un 85-80 % en masa de monetita parcialmente sustituida por magnesio ó por zinc, y por un 15-20 % en masa de β -fosfato tricálcico, se mezclan íntimamente 0,68 g de dihidrógeno fosfato de calcio anhidro y 1,54 g de β -fosfato tricálcico con tamaño de partícula inferior a 100 μm . A esta mezcla de polvos se añaden 2,0 mL de una disolución de ácido glicólico 1,0 M y de $\text{Mg}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ ó de $\text{Zn}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ 0,4 M. La pasta resultante se mezcla rápidamente durante 1 min y se coloca en moldes de silicona de 15 mm de diámetro y 3 mm de profundidad para conformar discos de estas dimensiones. Los
10 discos en los moldes se dejan reposar durante 24 h en una cámara a 100 % de humedad relativa y temperatura de 50-60 °C para completar la reacción ácido-base y descomponer la brushita producida a monetita. Los discos se extraen de los moldes y se dejan secar al aire. Los materiales resultantes, según análisis por difracción de rayos X, análisis termogravimétrico, microscopía electrónica de barrido y microanálisis por espectroscopía de energía dispersada de rayos X, están compuestas por 80-85 % en masa
15 de monetita parcialmente sustituida por magnesio ó por zinc y 15-20 % en masa de β -fosfato tricálcico. La sustitución del Mg y el Zn en los sitios de Ca del retículo de monetita, según micronálisis realizado sobre granos de esta fase, resultan en un 4 % atómico de sustitución Ca por Mg, y un 3 % atómico de sustitución de Ca por Zn, respectivamente.

20 La capacidad de los materiales sustituidos con Zn o con Mg de promover la adhesión celular se determina mediante ensayo Alamar Blue (según Nakayama *et al.* 1997 *J. Immunol. Methods* 204:205-208). Brevemente, para ello se colocan en los pozos de una placa de cultivo de 24 pocillos, 4 discos de cada una de los materiales (sustituidos con Mg o con Zn, o sin sustituir) y 4 discos de Thermanox™ (control) de igual diámetro, previamente esterilizados con radiación gamma (25 kGy). A cada pocillo se añade 1 mL de una suspensión de un cultivo primario de fibroblastos humanos, $1,4 \times 10^5$ células/mL en medio MEM completo.
25 Las placas se incuban a 37 ± 1 °C durante 1 día y se extrae el medio con las células que aún permanecen en suspensión. A los pocillos conteniendo los discos y células adheridas se añade 1 mL de una disolución de Alamar Blue (dilución 1:10 de Alamar Blue, Serotec, BUFO12A, con MEM sin rojo fenol) y se incuban las placas durante 4 h a 37 ± 1 °C. Se incluye para cada tiempo de lectura un blanco sin material alguno reemplazando la suspensión de células por 1 mL de la disolución del reactivo Alamar Blue. De cada pocillo se
30 extraen 4 alícuotas de 100 μL que se traspasan a pocillos de una placa de 96 pocillos para lectura de densidad óptica a 570 nm y una referencia de 630 nm. Los pocillos con los materiales y células adheridas se lavan con una disolución salina tamponada con fosfato y se añade 1 mL de MEM completo para continuar la incubación a 37 ± 1 °C hasta el próximo tiempo de lectura. Se realizan lecturas los días 1, 4, 7, 14, y 21. La densidad óptica leída es directamente proporcional a la cantidad de células viables adheridas sobre la
35 superficie del material ensayado. La Tabla 6 muestra las lecturas de densidad óptica para cada muestra y período de incubación. Los tres materiales ensayados presentaron una adhesión celular inicial no inferior al 60 % con respecto al control con Thermanox™, y considerable proliferación durante el tiempo de incubación. Las mayores poblaciones celulares estuvieron asociadas en todos los períodos al material con sustitución de Mg, seguida del sustituido con Zn, por último el no sustituido.

40

Tabla 6

Material	Densidad óptica a cada tiempo de incubación (días)
----------	--

	1	4	7	14	21
Sin sustituir	0,178(0,008)	0,307(0,010)	0,290(0,019)	0,330(0,017)	0,315(0,018)
con Mg	0,222(0,009)	0,361(0,016)	0,387(0,020)	0,393(0,012)	0,401(0,020)
con Zn	0,197(0,011)	0,324(0,019)	0,346(0,021)	0,366(0,014)	0,387(0,015)
Thermanox™	0,281(0,016)	0,468(0,018)	0,459(0,025)	0,410(0,016)	0,451(0,016)

EJEMPLO 9: Material conteniendo agentes biocompatibles incorporados en solución

Para obtener materiales que incorporan distintos agentes biocompatibles solubles se disuelve colágeno Tipo I, hialuronato sódico, o quitosano en concentraciones de 0,5 % en masa a una disolución 0,8 M de ácido cítrico. A estas de soluciones se añaden distintas proporciones, de dihidrógenofosfato de calcio anhidro [Ca(H₂PO₄)₂] con beta-fosfato tricálcico [β -Ca₃(PO₄)₂], hidroxiapatita [Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂], ó dióxido [CaMg(SiO₃)₂]. Las pastas resultantes se mezclan rápidamente durante 1 min y se colocan en moldes de silicona de 5 mm de diámetro y 12 mm de profundidad, o de 15 mm de diámetro y 3 mm de profundidad, para conformar cilindros y discos de estas dimensiones. Los cilindros y discos en los moldes se dejan reposar durante 24 h en una cámara a 100 % de humedad relativa y temperatura de 20-30 °C para completar la reacción ácido-base. Se dejan secar al aire, se extraen de los moldes y para obtener los productos finales, la fracción de brushita del material obtenido se transforma en monetita mediante tratamiento de calor seco a 60 °C durante 2 horas.

La resistencia a la compresión se determina sobre los cilindros de 5 mm de diámetro en una máquina biaxial Instron™ 8511. Los ensayos se llevan a cabo a temperatura ambiente a una velocidad de desplazamiento de 1 mm/min hasta la rotura de la muestra.

La capacidad de soportar crecimiento celular se lleva a cabo mediante cultivo durante 7 días de la línea celular HOS (ECACC no. 87070202) similar a osteoblastos sobre los discos de 15 mm de diámetro y observación de la colonización celular mediante microscopía y ensayo de reducción del MTT (según Mosman T 1983 *J. Immunol. Meth.* 65: 55-63; y Slater T.F. *et al.* 1963 *Biochim. Biophys. Acta* 77:383–93). El estudio se realizó a diferentes tiempos durante 7 días.

La capacidad de regeneración ósea se lleva a cabo mediante implante en defectos óseos artificiales creados en tibia de rata y posterior evaluación citológica de los segmentos óseos conteniendo los lugares de implante tras el sacrificio de los animales a los 7, 30 y 120 días. Para la implantación se emplearon los fragmentos provenientes del ensayo de resistencia a la compresión, previamente triturados en forma de gránulos con un tamaño entre 200 μ m y 2000 μ m y esterilizados con radiación gamma (25 kGy).

Los materiales resultantes, su resistencia a la compresión, su capacidad de soportar el crecimiento celular, y su capacidad de regeneración en un modelo animal de rata están recogidos en la Tabla 7. La incorporación de estos agentes biocompatibles a las matrices de monetita resulta en una mejora en la capacidad de soportar células en cultivo y su capacidad de regenerar hueso. Los efectos observados se clasifican como "Muy abundante: +++++", "Abundante: ++++", "Moderado: +++", "Escaso: ++", "Ausente: +".

Tabla 7

% en masa de Componentes inorgánicos	% en masa de Agentes biocompatibles	Resistencia (MPa)	Adhesión y Prolifera-ción celular	Regenera-ción ósea
CaHPO ₄ (95-100%)	Sin aditivo	4±1	++	++
CaHPO ₄ /β-Ca ₃ (PO ₄) ₂ 80-85%/20-15%	Sin aditivo	7±1	++	+++
CaHPO ₄ /β-Ca ₃ (PO ₄) ₂	0,5% Hialurónico	11±2	++++	++++

80-85%/20-15%				
CaHPO₄/β-Ca₃(PO₄)₂ 80-85%/20-15%	0,5% Colágeno	10±1	++++	++++
CaHPO₄/β-Ca₃(PO₄)₂ 65-70%/35-30%	0,5% Quitosano	9±2	+++	+++
CaHPO₄/Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ 80-85%/20-15%	Sin aditivo	6±1	++	+++
CaHPO₄/Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ 80-85%/20-15%	0,5% Hialurónico	8±1	++++	++++
CaHPO₄/Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ 65-70%/35-30%	0,5% Colágeno	7±1	++++	++++
CaHPO₄/Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ 80-85%/20-15%	0,5% Quitosano	7±1	+++	+++
Ca_{0.97}Mg_{0.03}HPO₄ / CaMg(SiO₃)₂ / Silica gel 80-85% / 15-13% / 5-2%	Sin aditivo	5±2	++	+++
Ca_{0.97}Mg_{0.03}HPO₄ / CaMg(SiO₃)₂ / Silica gel 80-85% / 15-13% / 5-2%	0,5% Hialurónico	7±2	++++	++++
Ca_{0.97}Mg_{0.03}HPO₄ / CaMg(SiO₃)₂ / Silica gel 65-70% / 32-29% / 3-1%	0,5% Colágeno	6±1	++++	++++
Ca_{0.97}Mg_{0.03}HPO₄ / CaMg(SiO₃)₂ / Silica gel 80-85% / 15-13% / 5-2%	0,5% Quitosano	7±1	++++	+++

EJEMPLO 10: Piezas conteniendo monetita y fibras de agentes biocompatibles

5 Para obtener materiales incorporando distintos agentes biocompatibles orgánicos en forma de hilos se fabrican hilos de colágeno Tipo I, y por separado también de poliláctido-poliglicólico (50:50), mediante técnicas de electrospinning a partir de soluciones acuosas para el colágeno o de una solución de dimetilformamida para el poliláctido-poliglicólico. El diámetro final de los hilos esta comprendido entre 10 μm y 1000 μm según los parámetros de fabricación utilizados. Los hilos se mezclan íntimamente con 1,55 g de dihidrógeno fosfato de calcio anhidro [Ca(H₂PO₄)₂] y 1,45 g de alfa-wollastonita [α-CaSiO₃] o alternativamente 10 1,46 g de vidrio bioactivo de composición 70SiO₂-30CaO (mol %), y 0.30 g de beta-fosfato tricalcico [β-Ca₃(PO₄)₂], y a la mezcla resultante se añade 3,0 mL, y 1.9 mL respectivamente, de una solución 0,8 M de ácido cítrico. Las pastas resultantes se mezclan rápidamente durante 1 min y se vierten en moldes de silicona a la medida de un hueso y se dejan reposar durante 24 h en una cámara a 100 % de humedad relativa y temperatura de 20-30 °C. Una vez endurecidos los distintos materiales se dejan secar al aire. Para obtener 15 los productos finales, la fracción de brushita del material obtenido se transforma en monetita mediante tratamiento de calor a 100 °C durante 2 horas. Los materiales resultantes contienen un 55-65 % en masa de monetita, un 15-30 % en masa de gel de sílice y 22-33 % de alfa-wollastonita o 9-12 % de vidrio bioactivo (70SiO₂-30CaO), y un 20 % en volumen aproximadamente de fibras de colágeno Tipo I o de polilactido-poliglicólico. La incorporación de fibras resulta en una mayor resistencia mecánica y favorece la colonización 20 celular.

EJEMPLO 11: Materiales de monetita y β -fosfato tricálcico con antibiótico

Para obtener materiales de monetita y beta-fosfato tricálcico con antibióticos se mezclan íntimamente 2,11 g de beta-fosfato tricálcico con un tamaño de partícula inferior a 100 μm y 0,11 g de ceftriaxona sódica y 25 mg de trehalosa. Se añaden 1,53 mL de disolución de ácido orto-fosfórico 2,0 M y la pasta resultante se mezcla rápidamente durante 1 min y se compacta en moldes de silicona de 15 mm de diámetro y 3 mm de profundidad para conformar discos de estas dimensiones. Los discos en los moldes se dejan reposar durante 24 h en una cámara a 100 % de humedad relativa y temperatura de 50-60 $^{\circ}\text{C}$ para completar la reacción ácido-base y descomponer la brushita producida a monetita. Los discos se extraen de los moldes y se esterilizan por rayos gamma.

Para el estudio de liberación de antibióticos se colocaron los discos en viales. A una mitad de los discos se les adiciona tampón de fosfato de pH 7,4 (8 mM K_2HPO_4 , 2 mM KH_2PO_4 , 2,7 mM KCl, 137 mM NaCl) y a la otra mitad tampón de fosfato de pH 4,0 (1 mM KH_2PO_4 , 137 mM NaCl, 2,7 M KCl) en una relación volumétrica sólido/líquido de a 1:10. Los viales se colocan en un agitador orbital regulado a 37 $^{\circ}\text{C}$ durante los 15 días del estudio. La determinación de la concentración de ceftriaxona liberada al medio se realiza mediante espectrofotometría UV y comparación con una curva de calibración previamente preparada. Durante las primeras siete horas del estudio las determinaciones se hacen cada hora y a partir del segundo y hasta el cuarto día se realizan cada 24 h, y en el período restante cada tres días como máximo. En cada determinación se extrae todo el líquido y se repone con tampón fresco. Los perfiles de liberación de ceftriaxona a pH 4,0 y 7,4 resultantes se presentan en la Tabla 8.

Tabla 8

Tiempo (Horas)	Ceftriaxona acumulada, mg/L	
	pH 4,0	pH 7,0
1,4	714	706
2,8	970	1014
3,7	1007	1091
5,5	1064	1194
6,4	1112	1246
24,8	1275	1477
49,2	1388	1698
73,6	1494	1904
144,8	1633	2336
216,0	1778	2778
312,6	1909	2953

EJEMPLO 12: Piezas con colágeno y porosidad inducida

Para obtener materiales con un 80-85 % en masa de monetita, un 15-20 % en masa de beta-fosfato tricálcico, un 0,45 % en masa de colágeno, y con distintos grados de porosidad inducida se incorpora entre un 0,1 % y un 3 % en masa de carbonato cálcico como agente porogénico a una mezcla de 1,42 g beta-fosfato tricálcico y 0,80 g de dihidrógenofosfato de calcio anhidro. A la mezcla de polvos se añaden 2,0 mL de una solución de ácido cítrico 0,8 M y 0,5 % masa/vol. de colágeno Tipo I. La pasta resultante se mezcla rápidamente durante 1 min, se vierte en un molde cilíndrico de 3 mm de diámetro por 6 mm de altura y se deja reposar durante 12 h en una cámara a 100 % de humedad relativa y temperatura de 20-30 $^{\circ}\text{C}$. Una vez endurecidos los distintos

materiales se dejan secar al aire. Para obtener los productos finales, la fracción de brushita del material obtenido se transforma en monetita mediante tratamiento de calor a 45 °C durante 2 horas. Los materiales resultantes demuestran una porosidad inducida, adicional a la microporosidad natural del material, hasta un 50 % y un tamaño de poro entre 50 µm y 800 µm. La capacidad de los materiales resultantes de soportar crecimiento celular se lleva a cabo mediante cultivo durante 7 días de la línea celular HOS (ECACC no. 87070202) similar a osteoblastos y observación de la colonización celular mediante microscopía y ensayo de reducción del MTT (según Mosman T 1983 *J. Immunol. Meth.* 65: 55-63; y Slater T.F. *et al.* 1963 *Biochim. Biophys. Acta* 77:383–93). El estudio se realizó a diferentes tiempos durante 7 días.

Asimismo la eficacia de los materiales resultantes en la regeneración ósea se evalúa en defectos óseos artificiales creados en tibia de rata. Para ello se emplean 90 ratas sanas (*Rattus norvegicus*, Holtzman, ~ 200g). Grupos de 30 animales se emplean para cada período de seguimiento (7, 30 y 120 días). Tres animales de cada grupo reciben implantes bilaterales de un mismo material experimental en defectos de 3 mm de diámetro creados en la región media de la diáfisis de la tibia. En tres animales de cada grupo se dejan los defectos artificiales creados vacíos como control. Los animales se sacrifican por inyección de tiopental después de 7, 30 y 120 días y se recobran los segmentos óseos conteniendo los lugares de implante y de control. Los bloques óseos se fijan en disolución de Bouin y posteriormente, se lavan, descalcifican, deshidratan, y se incluyen en parafina. Se hacen cortes seriados de 6 µm de grosor que se tiñen con hematoxilina y eosina para examen histológico. Se valora la magnitud de neoformación ósea en los sitios de implante. La magnitud de la neoformación ósea se clasifica como "Muy abundante: +++++", "Abundante: ++++", "Moderada: +++", "Escasa: ++", "Ausente: +". Los materiales resultantes obtenidos, su capacidad de permitir el crecimiento celular y la evaluación de su capacidad de regeneración en un modelo animal de rata se muestran en la Tabla 9. La incorporación de porosidad a los materiales resulta en una mayor capacidad de soportar el crecimiento celular y regeneración ósea.

Tabla 9

Materiales (% en masa de Monetita/ % Fosfato Tricálcico)	% en volumen de Porosidad Inducida	Adhesión, extensión y proliferación celular	Regeneración ósea
100%	0%	++	++
80-85%/20-15%	0%	+++	+++
65-70%/35-30%	0%	+++	+++
80-85%/20-15%	10%	++++	++++
65-70%/35-30%	10%	++++	++++
80-85%/20-15%	20%	++++	++++
65-70%/35-30%	20%	++++	+++
80-85%/20-15%	30%	++++	++++
65-70%/35-30%	50%	++++	+++

5 **EJEMPLO 13: Materiales de monetita, sustituidos, o no, con Mg, Zn y Sr, y conteniendo compuestos bioactivos de silicio y/o compuestos bioactivos de calcio.**

Para determinar el efecto beneficioso de la incorporación de compuestos bioactivos de silicio, se preparan distintas matrices de monetita, sustituidas, o no, con Mg, Zn y Sr según figuran en la Tabla 10 y se compara su comportamiento *in vivo* con matrices sin compuestos bioactivos de silicio. Brevemente, las matrices de monetita se obtienen por reacción de un componente básico consistente en beta-fosfato tricálcico, y/o alfa-wollastonita, y/o vidrio bioactivo de composición 70SiO₂-30CaO, con una solución acida de ácido fosfórico en relación estequiométrica o deficiente. Para la síntesis de monetitas sustituidas con iones Zn, Mg ó Sr, se disuelven las cantidades apropiadas de 2ZnCO₃.3Zn(OH)₂, 4MgCO₃.Mg(OH)₂ ó SrCO₃ respectivamente, en la solución de ácido fosfórico. Se usó una relación polvo líquido de 0,8 y 1,2. Tras la adición del líquido al polvo la pasta resultante se mezcla bien durante 30 segundos y se deja fraguar durante 24 horas en una cámara a 60°C y 100% humedad. Una vez endurecidos los diferentes materiales se secan a 60°C, se pulverizan manualmente y tamizan. La fracción de gránulos entre 250 µm y 1000 µm se utiliza para el ensayo *in vivo*. Previa a la implantación los materiales se esterilizaron a 121°C y 1atm de sobrepresión durante 20 minutos.

20 Para el ensayo *in vivo* los gránulos se implantan en huesos de ovejas. Seis orificios de 13mm de profundidad por 8mm de diámetro se taladran en el flanco derecho e izquierdo del humero, tibia y fémur de todas las ovejas hasta un total de 12 ovejas. Cada material experimental se implanta en seis defectos óseos y otros seis defectos se dejan vacíos como control. La regeneración ósea y reabsorción de los materiales en cada defecto se evalúa por rayos X, resonancia magnética nuclear y evaluación histológica a los 12 meses de implantación. La cantidad de hueso formado y regeneración ósea se evalúa y clasifica en "Muy Abundante +++++", "Abundante: ++++", "Moderada: +++", "Escasa: ++", "Ninguna: +" tal y como se recoge en la Tabla 10. La incorporación de compuestos de silicio a las matrices conteniendo monetita de la presente invención, y especialmente aquellos en los que la monetita está parcialmente sustituida por Zn, Mg o Sr tiene un claro efecto beneficioso en la regeneración del hueso.

30 Para determinar la consistencia de los gránulos formados, y hasta cierto punto su dureza, 2g de gránulos entre 250 µm y 1000 µm de diámetro se introducen en bolsas de polietileno conteniendo una pelota de goma. Las botellas se agitan en una agitadora orbital durante 30 minutos y los materiales obtenidos se tamizan para

determinar la fracción de partículas de diámetro inferior a 250 µm. Los materiales con una mayor proporción de partículas mayores de 250 µm se considera que presentan una mayor consistencia y dureza. El grado de consistencia, e indirectamente su dureza, se clasifica como "Muy Consistente +++++", "Consistente: ++++", "Moderadamente Consistente: +++", "Blando: ++", "Muy Blando: +" tal y como se indica en la Tabla 10. La incorporación de compuestos de silicio y la sustitución parcial de la matriz de monetita con Mg, Zn ó Sr presenta una contribución positiva sobre la consistencia y dureza de los materiales resultantes.

Tabla 10

Composición Final de Fases					Consistencia del Gránulo	Regeneración ósea
Ca _{1-x} M _x HPO ₄			Compuestos Bioactivos de Calcio y Silicio			
% masa	M	x	% masa de Fosfato Cálculo	% masa de Compuestos de Silicio		
100 %	-	0	-	-	++	++
80 %	-	0	20 % β-Ca ₃ (PO ₄) ₂	-	+	+++
80 %	-	0	14,4 % β-Ca ₃ (PO ₄) ₂	5,6 % Gel de Sílice	+++	++++
80 %	Zn	0,03	20 % β-Ca ₃ (PO ₄) ₂	-	+++	+++
60 %	-	-	-	5.6% α-CaSiO ₃ 34.4 % Gel de Sílice	+++++	+++++
60 %	Mg	0,03	-	5.6% α-CaSiO ₃ 3.4% Gel de Sílice	+++++	++++
60%	Mg	0,03	7 % β-Ca ₃ (PO ₄) ₂	33 % Gel de Sílice	++++	+++++
60%	Mg	0,03	7 % Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH)	33 % Gel de Sílice	++++	+++++
60 %	-	-	-	10 % Vidrio 70S30C 30 % Gel de Sílice	++++	++++
60 %	Mg	0,03	-	10 % Vidrio 70S30C 30 % Gel de Sílice	++++	+++++
60 %	Sr	0,03	-	10 % Vidrio 70S30C 30 % Gel de Sílice	+++++	+++++
DEFECTOS VACIOS	-	-	-	-	-	+

REIVINDICACIONES

1. Material sintético que comprende:
 - 5 a. un 20 % a un 95 % en masa de monetita $[Ca_{1-x}M_xHPO_4]$ donde $0 \leq x \leq 0,05$ y donde M es un ión metálico divalente;
 - b. entre un 5 % y un 80 % de compuestos bioactivos de silicio seleccionados de entre, wollastonita, silicatos cálcicos mixtos, silicato dicálcico, silicato tricálcico, y vidrios y geles bioactivos de sílice, y/o combinaciones de ellos.
 - 10 c. entre un 0 % y un 60 % de masa total de compuestos bioactivos de calcio distintos a la monetita y seleccionados de entre los fosfatos cálcicos.
 - d. y, opcionalmente, agentes biocompatibles, agentes farmacológicos, y/o agentes protectores.
2. Material según la reivindicación 1 en el que la "x" es igual a cero.
- 15 3. Material según reivindicación 1 donde el ión metálico divalente (M) es magnesio, estroncio, bario, hierro, y/o zinc.
4. Material según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en el que los compuestos bioactivos de calcio son fosfatos cálcicos seleccionados de entre, brushita, fosfato tricálcico, hidroxiapatitas y fosfato octacálcico y sus combinaciones.
- 20 5. Material según la reivindicación 4 en el que el fosfato cálcico es una hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, donde el Ca se sustituye parcialmente por sodio, potasio, estroncio, magnesio y/o zinc; el fosfato se sustituye parcialmente por hidrogenofosfato, carbonato, silicato; y/o el hidroxilo está parcialmente sustituido por flúor, cloro ó carbonato.
- 25 6. Material según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde el compuesto bioactivo de silicio es alfa-wollastonita y/o beta-wollastonita $[\alpha\text{-} \text{ ó } \beta\text{-}CaSiO_3]$.
7. Material según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en el que el compuesto bioactivo de silicio es un silicato cálcico $[CaM(SiO_3)_2]$ que contiene un ión metálico divalente (M) seleccionado de entre magnesio, estroncio, bario, hierro y/o zinc.
- 30 8. Material según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en el que el compuesto bioactivo de calcio silicio es un vidrio bioactivo en los sistemas $SiO_2\text{-}CaO$, $SiO_2\text{-}CaO\text{-}P_2O_5$, $SiO_2\text{-}CaO\text{-}ZnO$, $SiO_2\text{-}CaO\text{-}MgO$, $SiO_2\text{-}CaO\text{-}P_2O_5\text{-}ZnO$, y/o $SiO_2\text{-}CaO\text{-}P_2O_5\text{-}MgO$.
9. Material según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en el que el compuesto bioactivo de silicio es un gel de sílice.
- 35 10. Material según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 9 que incorpora agentes biocompatibles en su composición.
11. Material según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 10 que incorpora agentes farmacológicos en su composición.
12. Material según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 11 en forma de gránulos de entre 50 μm y 4000 μm .
- 40 13. Material según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 12 en forma de monolitos tridimensionales con el tamaño y forma determinadas por un defecto óseo.
14. Procedimiento de obtención de materiales según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 13 que comprende:
 - 45 a. Una reacción ácido-base en medio acuoso en la que el componente ácido es ácido ortofosfórico o sus sales monobásicas de metales alcalinos o alcalino térreos, y el

componente básico se encuentra en exceso y lo constituye uno o más compuestos de silicio bioactivo y opcionalmente compuestos bioactivos de calcio, que están presentes en exceso; y

5 b. descomposición de la fracción de brushita obtenida en la reacción ácido-base en monetita mediante tratamiento térmico.

15. Composición que comprende materiales según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, que incorpora células animales o humanas.

16. Uso de los materiales según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 o de la composición según la reivindicación 15 para la fabricación de materiales de regeneración ósea.