

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
26 de enero de 2012 (26.01.2012)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2012/010721 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
A61L 27/10 (2006.01) *A61F 2/28* (2006.01)

Complutense de Madrid, Avda. Séneca, 2, 28040 Madrid (ES).

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2011/000229

(22) Fecha de presentación internacional:
15 de julio de 2011 (15.07.2011)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P201000957 23 de julio de 2010 (23.07.2010) ES

(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US): **UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID** [ES/ES]; Avda Séneca, 2, E-28040 Madrid (ES).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): **VALLET REGL, Maria** [ES/ES]; Facultad de Farmacia de la Universidad, Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal, S/N, 28040 Madrid (ES). **ARCOS NAVARRETE, Daniel** [ES/ES]; Facultad de Farmacia de la Universidad, Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal, S/N, 28040 Madrid (ES). **BAEZA GARCÍA, Alejandro** [ES/ES]; Facultad de Farmacia de la Universidad, Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal, S/N, 28040 Madrid (ES).

(74) Mandatario: **PLUMET ORTEGA, Joaquín**; Vicerrector de investigación de la, Universidad

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

- con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))
- antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones (Regla 48.2(h))

(54) Title: PURE CERAMIC MACROPOROUS SCAFFOLD ON THE BASIS OF NANOCRYSTALLINE APATITE, METHOD FOR PREPARING SAME AND USES THEREOF

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

(57) Abstract: The invention relates to a pure ceramic scaffold of nanocrystalline ceramic, in which the ceramic includes non-substituted apatite or silicon-substituted apatite. Said scaffold combines the excellent biocompatibility of apatite with improved bioactivity owing to the presence of silicon, wherein the nanocrystalline structure of the ceramic is ideal for the tissue where it will be implanted, and wherein control over the macroporousness is achieved by using the rapid prototyping technique. The invention also relates to the method for preparing said scaffold. Said method includes: preparing the bioceramic, grinding the bioceramic to obtain a multi-modal granulometry, preparing the ceramic ink in an aqueous medium stabilized with a mixture of a monomeric component and a surfactant, manufacturing the macroporous scaffold by means of three-dimensional (3D) printing, and hardening and calcining same. The preferred use of said scaffold is as an implant for bone regeneration.

(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.

WO 2012/010721 A1

TÍTULO

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

SECTOR DE LA TÉCNICA

- 5 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 a través de la técnica de prototipado rápido.

10 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 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
- 15 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 conlleva la hospitalización. Como consecuencia de esas fracturas, la necesidad de diseñar andamios 3D con propiedades químico-estructurales similares al hueso y que
- 20 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 plantea incrementar el proceso quirúrgico y por tanto, puede ocasionar mayor número de complicaciones post-operatorias. Por otro lado, el transplante de otro donante
- 25 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 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
- 30 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
5 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
10 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
15 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,
20 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
25 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
30 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) $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{-(SiO}_4)_x(\text{OH})_{1-x}]$ 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
5 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
10 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
15 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].

20 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
25 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
30 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

5 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

10 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

15 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

20 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 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.

25 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 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.,

30 *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

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 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 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 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 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.

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:

- 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 nanocristalinidad pero es muy frágil y no manipulable y por lo tanto no se puede usar para fines de regeneración ósea.

- 5 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 nanocristalino (debido a la elevada temperatura a la que se trabaja). El resultado son piezas cerámicas altamente
- 10 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 proporcionar un método para obtener andamios:

- con macroporosidad diseñada,
- 15 • 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.

- 20 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
- 25 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.

EXPLICACIÓN DE LA INVENCION.

- La presente invención describe un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica
- 30 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.

- 5 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
10 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.

- 15 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 .

- Respecto a las características técnicas mecánicas, el andamio de la presente invención
20 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.

- 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
25 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.

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

- el control sobre la macroporosidad del andamio preparado mediante este método. Este control se consigue empleando la técnica del prototipado rápido.
- 5 • el andamio preparado mediante este método es cerámico puro, es decir, presenta componente cerámico pero no incluye componente polimérico.
- 10 • 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.
- 15 • 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.

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

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 conducen a la pérdida del carácter nanocristalino en la cerámica.

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:

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

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.

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 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.

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

10 1. SÍNTESIS DEL MATERIAL EN POLVO

- 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
15 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 $0 \leq x \leq 0,5$.

- 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-
20 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^{1-} (iones hidrox). 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
25 sustituidas con silicio. Por tanto, en el caso de que se desee fabricar un andamio 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
30 proceso de síntesis.

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 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

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 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.

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 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.

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,

poliacrilato de sodio, hexametáfosfato de sodio, pirofosfato de sodio decahidratado, o 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.

- 5 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,
- 10 que se tamiza a través de una malla antes de incorporarse a los cartuchos inyectoros del equipo de impresión 3D.

4. FABRICACIÓN DEL ANDAMIO POR PROTOTIPADO RÁPIDO

- 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
- 15 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.
- 20 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

- 25 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
- 30 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 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 nanocrystalino de la cerámica que compone el andamio.

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

- 10 a) Las características técnicas microestructurales son las siguientes:
 - 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
 - 15 ➤ Anchura promedio: 5 – 10 nm
- 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
- 20 c) Las características técnicas mecánicas son las siguientes:
 - 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

- 25 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

- 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-
- 30

2308]. Se partió de tres disoluciones acuosas: nitrato de calcio tetrahidrato, 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 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 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).

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.

- 5 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.

4. Fabricación del andamio cerámico

- 10 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:

- 15 Temperatura de la pasta: 15°C

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

- 20 Ancho de la punta inyectora: 600 micras

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.

- 25

5. Consolidación del andamio

- 30 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.

6. Calcinación del andamio

5 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 nanocrystalino de la fase cerámica, que queda como único componente del andamio.

10 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 $\pm 0,09\%$.

15 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 20 $95 \text{ m}^2/\text{g}$, hecho que se explica por la naturaleza nanocrystalina 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.

	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	94,82	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) μ m

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
- Morfología del cristal: acicular
- 5 ➤ 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
 - Volumen de porosidad del 35%
 - 10 • 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) %
 - Módulo elástico: 122 (+/- 9) MPa

15 **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

20 (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

25 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

30 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 cristallitos de apatita asemejándose así a los del componente mineral del hueso.

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.

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.

REIVINDICACIONES

1. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable en el que la cerámica preparada en la etapa (a) comprende apatita no sustituida o apatita sustituida con silicio.
- 5 2. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según la reivindicación 1, 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 $0 \leq x \leq 0,5$.
3. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según la reivindicación 2, en el que la cerámica
10 comprende un compuesto de fórmula: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5,7}(\text{SiO}_4)_{0,3}(\text{OH})_{1,7}$.
4. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el tamaño medio de cristal de la cerámica es inferior a 50 nm.
5. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo,
15 biocompatible y biodegradable según la reivindicación 4, en el que el tamaño medio de cristal de la cerámica está dentro del intervalo entre 10 nm y 30 nm.
6. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que la morfología del cristal de la cerámica es acicular, estando comprendida la longitud
20 promedio del cristal entre 15 y 50 nm y la anchura promedio entre 5 y 10 nm.
7. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el volumen de porosidad del andamio es del 35% o superior.
8. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo,
25 biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que la tensión máxima previa a la fractura del andamio está dentro del intervalo entre 0,556 MPa y 1,060 MPa.
9. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que
30 la deformación máxima previa a la fractura del andamio está dentro del intervalo entre un 2,85% y un 6,54%.

10. Andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que el módulo elástico del andamio está dentro del intervalo entre 100 y 200 MPa.
11. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable que comprende las siguientes etapas:
- (a) Preparación de una biocerámica con 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.
- (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.
- (d) Fabricación del andamio macroporoso por prototipado rápido mediante impresión tridimensional.
- (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.
12. 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.
13. 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 $0 \leq x \leq 0,5$.
14. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según cualquiera

de las reivindicaciones 11-13, en el que en la etapa (a) la biocerámica se obtiene con una distribución de tamaño de partícula multimodal por medio de la variación gradual de la temperatura durante el proceso de síntesis.

15 15. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según la 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.

10 16. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, 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).

15 17. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de las reivindicaciones 14-16, en el que la distribución de tamaño de partícula menor obtenida en la etapa (b) está centrada en un valor de tamaño de partícula comprendido entre 1 y 20 micrómetros y la distribución de tamaño de partícula mayor obtenida en la etapa (b) está centrada en valores de tamaño superiores a 25 micrómetros.

20 18. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según cualquiera de 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
25 combinaciones de los mismos, pudiéndose utilizar también 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.

30 19. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, 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, poliácido de amonio, poliácido de sodio, hexametáfosfato de sodio, pirofosfato de sodio decahidratado o combinaciones de los mismos, y la proporción de surfactante respecto a la mezcla total constituida por
5 componente monomérico, surfactante y componente cerámico está comprendida entre 2 y 4% en peso.

20. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según las reivindicaciones 18 y 19, en el que la carga cerámica final de la tinta preparada en la
10 etapa (c) es superior al 30% (v/v).

21. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, 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
15 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.

22. Método para la preparación de un andamio tridimensional cerámico puro, de cerámica nanocristalina, bioactivo, biocompatible y biodegradable según cualquiera
20 de las reivindicaciones 11-21, en el que en la etapa (e) de consolidación del andamio las piezas se secan en estufa a temperaturas de entre 60°C y 90°C durante un período igual o superior a 12 horas.

23. Uso del andamio según cualquiera de las reivindicaciones 1-10 para la fabricación de implantes para su aplicación en biomedicina.

25 24. Uso según la reivindicación 23 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
30 para la liberación de sustancias con fines terapéuticos.

1/4

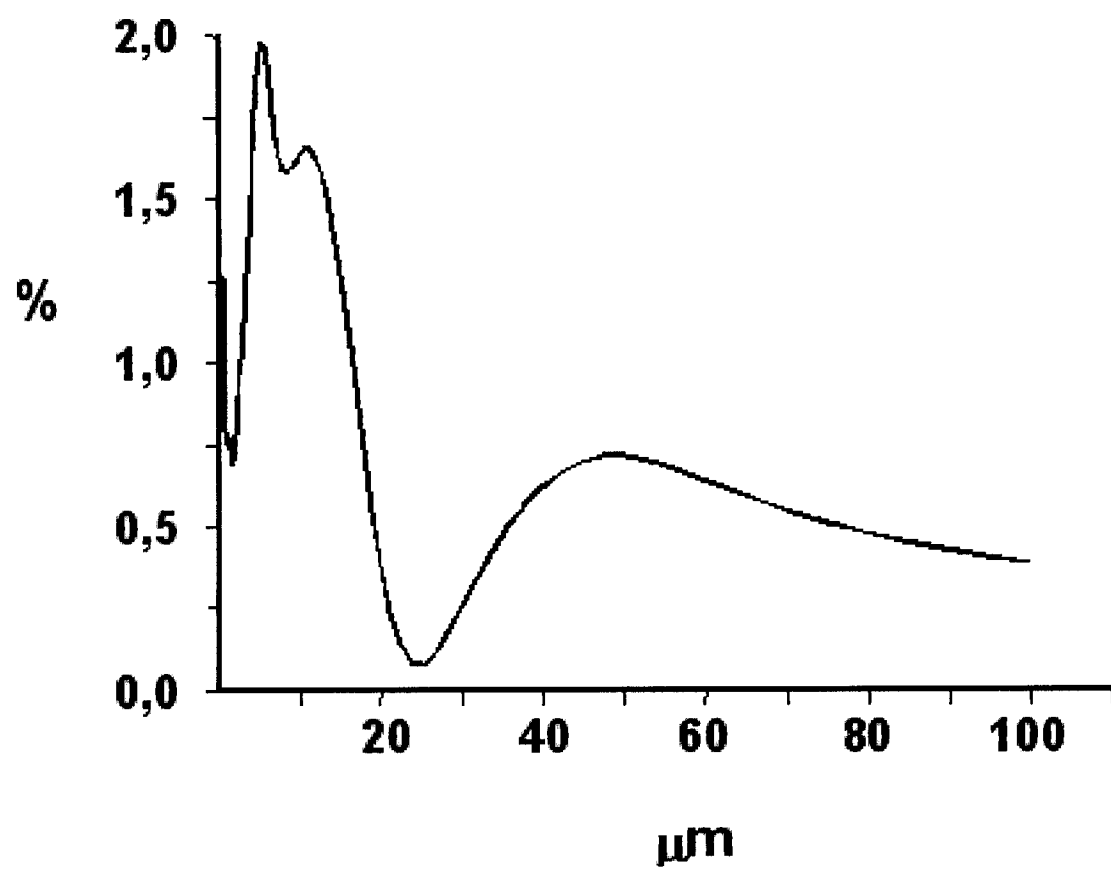


Fig. 1

2/4

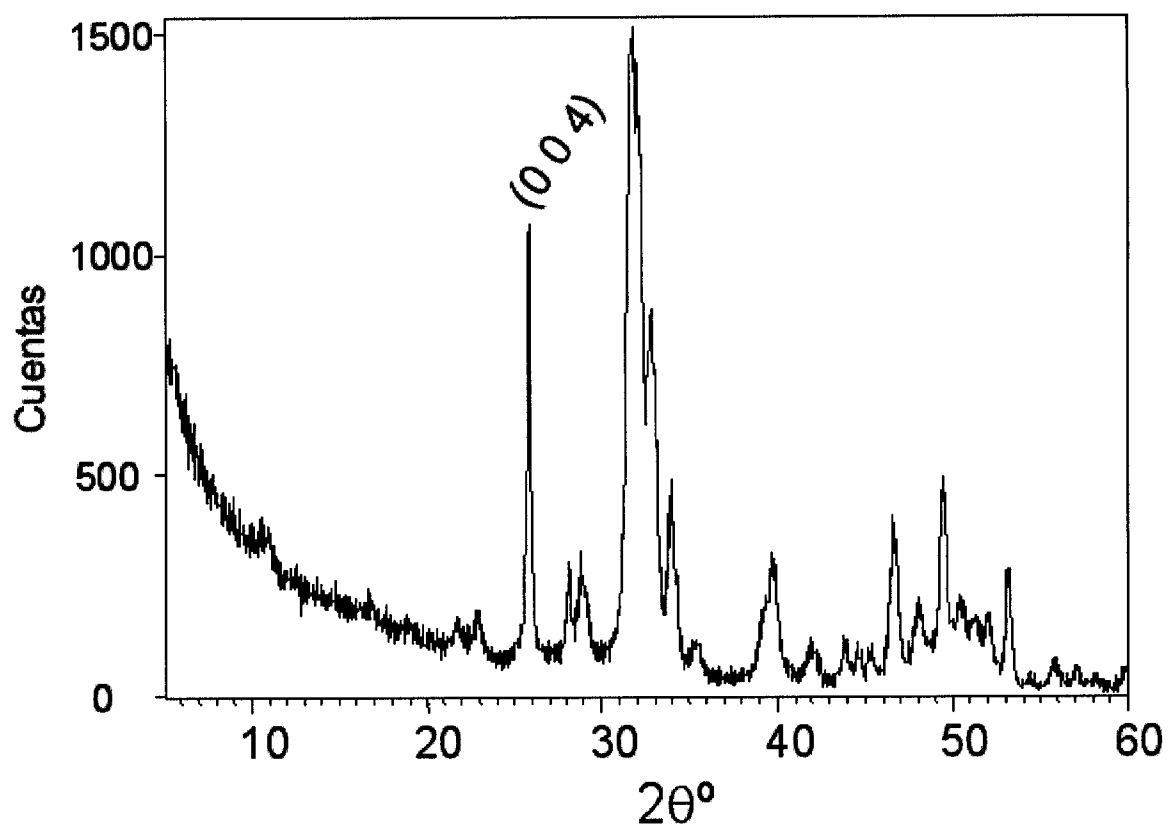


Fig. 2

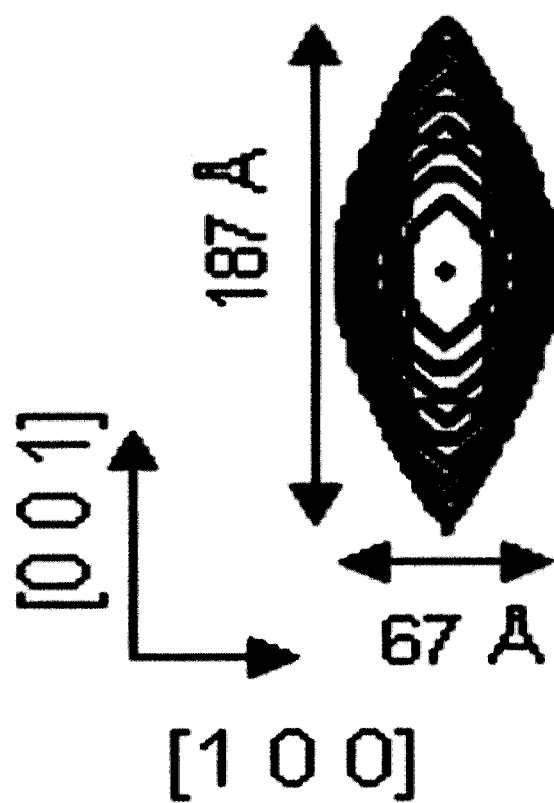


Fig. 3

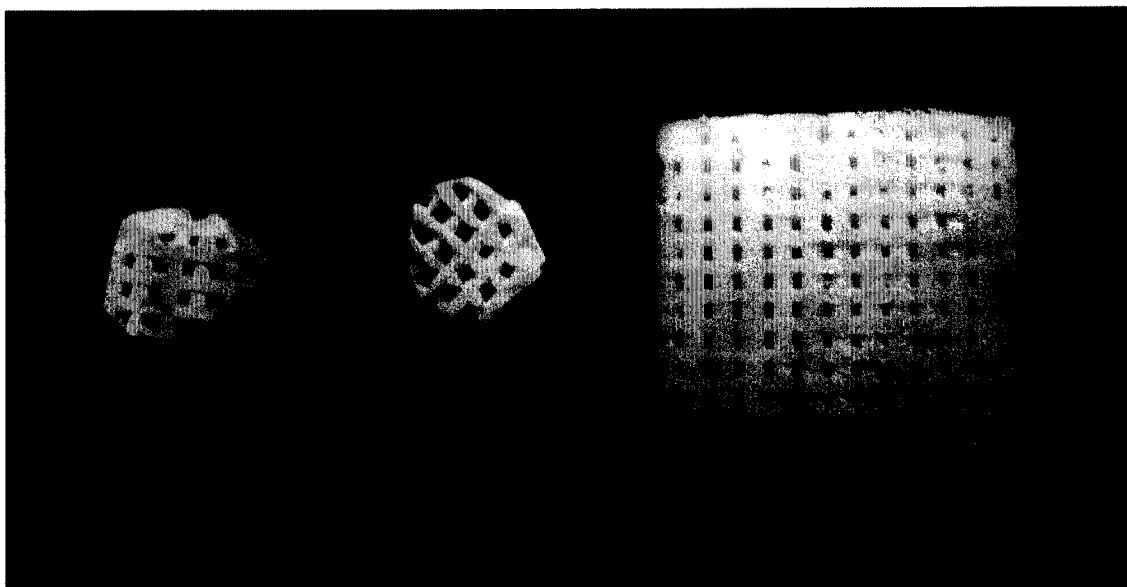


Fig. 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2011/000229

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61L27/10 (2006.01)

A61F2/28 (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61L, A61F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DOROZHKIN, S.V. "Nanodimensional and nanocrystallineapatites and other calcium orthophosphates in biomedicalengineering, biology and medicine" Materials 27.11.2009,Volumen 2 Pages 1975-2045; Table 1, apartados3, 4, 5.1 and 8.1	1-2,4-10,23-24
A	EP 1108698 A1 (ISOTIS B V) 20-06-2001, pages 3-5	1-24
A	SEITZ, H. ET AL: "Three-dimensional printing ofporous ceramic scaffolds for bone tissue engineering"Journal of Biomedical Materials Research. Part B:Applied Biomaterials 24.06.2005, Volumen 74 Páginas782-788; pages 4 and 6.	1-24

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.	
"E" earlier document but published on or after the international filing date	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents , such combination being obvious to a person skilled in the art
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
15/11/2011

Date of mailing of the international search report
(22/12/2011)

Name and mailing address of the ISA/

Authorized officer
A. Urrecha Espluga

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Facsimile No.: 91 349 53 04

Telephone No. 91 3495386

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2011/000229

C (continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ARCOS, D. ET AL. "Silicon incorporation in hydroxylapatite obtained by controlled crystallization" Chemistry of Materials 01.06.2004, Volumen 16 Pages 2300-2308; paragraphs 3-5.	1-24
A	EP 1426066 A1 (YENSSEN BIOTECH CO LTD) 09-06-2004, pages 4-6, examples 4 and 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 Pages 1762-1765; paragraphs 1-3.	1-24

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

Information on patent family members

PCT/ES2011/000229

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP1108698 AB	20.06.2001	CA2328818 A EP20000204593 AU7231000 A WO0144141 A AU3242201 A JP2001224679 A US2002037799 A US6479418 B AU778651 B AT332288 T DE60029186 T	16.06.2001 18.12.2000 21.06.2001 21.06.2001 25.06.2001 21.08.2001 28.03.2002 12.11.2002 16.12.2004 15.07.2006 31.05.2007
----- EP1426066 AB	----- 09.06.2004	----- WO02098474 A CN1389184 A CN1294885 C EP20020742644 US2004191292 A JP2005506114 A JP4391815B2 B RU2308974 C RU2003137823 A AT488257 T ES2356304 T	----- 12.12.2002 08.01.2003 17.01.2007 04.06.2002 30.09.2004 03.03.2005 24.12.2009 27.10.2007 27.03.2005 15.12.2010 06.04.2011
-----	-----	-----	-----

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES2011/000229

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

A61L27/10 (2006.01)

A61F2/28 (2006.01)

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

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

A61L, A61F

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

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

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

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
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

☒ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos

☒ Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.	
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.
15/11/2011

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
22 de diciembre de 2011 (22/12/2011)

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)

Nº de fax: 91 349 53 04

Funcionario autorizado

A. Urrecha Espluga

Nº de teléfono 91 3495386

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°

PCT/ES2011/000229

C (Continuación). DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°
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

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

Solicitud internacional nº

PCT/ES2011/000229

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
EP1108698 AB	20.06.2001	CA2328818 A EP20000204593 AU7231000 A WO0144141 A AU3242201 A JP2001224679 A US2002037799 A US6479418 B AU778651 B AT332288 T DE60029186 T	16.06.2001 18.12.2000 21.06.2001 21.06.2001 25.06.2001 21.08.2001 28.03.2002 12.11.2002 16.12.2004 15.07.2006 31.05.2007
-----	-----	-----	-----
EP1426066 AB	09.06.2004	WO02098474 A CN1389184 A CN1294885 C EP20020742644 US2004191292 A JP2005506114 A JP4391815B2 B RU2308974 C RU2003137823 A AT488257 T ES2356304 T	12.12.2002 08.01.2003 17.01.2007 04.06.2002 30.09.2004 03.03.2005 24.12.2009 27.10.2007 27.03.2005 15.12.2010 06.04.2011
-----	-----	-----	-----