

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
29 décembre 2016 (29.12.2016)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2016/207543 A1

(51) Classification internationale des brevets :
A61L 27/10 (2006.01) A61L 27/56 (2006.01)
A61L 27/12 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2016/051524

(22) Date de dépôt international :
22 juin 2016 (22.06.2016)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
1555769 23 juin 2015 (23.06.2015) FR

(71) Déposants : CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE [FR/FR]; 3, rue Michel-Ange, 75016 Paris (FR). UNIVERSITE DE BORDEAUX [FR/FR]; 35 place Pey Berland, 33000 Bordeaux (FR). UNIVERSITE PAUL SABATIER - TOULOUSE III [FR/FR]; 118, route de Narbonne, 31062 Toulouse (FR). INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE TOULOUSE [FR/FR]; 6 Allée Emile Monso, 31029 Toulouse (FR).

(72) Inventeurs : BACKOV, Rénal; Résidence Paul Gauguin, 11 rue des Acacias, 33200 Bordeaux-Cauderan (FR). SOULIE, Jérémie; 14 rue des Casernes, Appt B08, 31400 Toulouse (FR). MERCE, Manuel; Appartement 7, 72-74 avenue Schweitzer, 33600 Pessac (FR). SARDA, Stéphanie; 6 Chemin de Pages, 81100 Castres (FR). SCHMITT, Véro-

nique; Résidence Le Prince Noir, Bât. E, rue Fernand Izer, 33400 Talence (FR).

(74) Mandataires : IPSILON et al.; Le Centralis, 63, avenue du Général Leclerc, 92340 Bourg La Reine (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, 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, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, 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) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

(54) Title : METHOD FOR PREPARING BIOCOMPATIBLE, MONOLITHIC, MACROPOROUS MATERIALS THAT CAN BE USED AS A BONE SUBSTITUTE

(54) Titre : PROCÉDÉ DE PRÉPARATION DE MATÉRIAUX MACROPOREUX MONOLITHIQUES BIOCOMPATIBLES UTILISABLES A TITRE DE SUBSTITUT OSSEUX

(57) Abstract : The present invention relates to a method for preparing biocompatible, monolithic, macroporous materials having controlled macroporosity at low temperature, making it possible, in particular, to access monoliths made from a silica/hydroxyapatite bioceramic material having an open and controlled macroporosity with a uniform macropore size (monodispersity) ranging from approximately ten microns to a few hundred microns, and to the use of said materials, in particular for bone filling.

(57) Abrégé : La présente invention est relative à un procédé de préparation de matériaux macroporeux monolithiques biocompatibles à macroporosité contrôlée à basse température permettant en particulier d'accéder à des monolithes à base d'un matériau bioceramique silice/hydroxyapatite ayant une macroporosité ouverte et contrôlée avec une taille de macropores homogène (monodispersité) allant de la dizaine de microns à quelques centaines de microns, ainsi qu'à l'utilisation de ces matériaux, notamment pour le comblement osseux.



WO 2016/207543 A1

PROCEDE DE PREPARATION DE MATERIAUX MACROPOREUX MONOLITHIQUES BIOCOMPATIBLES UTILISABLES A TITRE DE SUBSTITUT OSSEUX

La présente invention est relative à un procédé de préparation de matériaux
5 macroporeux monolithiques biocompatibles à macroporosité contrôlée à basse
température permettant en particulier d'accéder à des monolithes à base d'un
matériau biocéramique silice/hydroxyapatite ayant une macroporosité ouverte et
contrôlée avec une taille de macropores homogène (monodispersité) allant de la
dizaine de microns à quelques centaines de microns, ainsi qu'à l'utilisation de ces
10 matériaux, notamment pour le comblement osseux, comme support solide pour la
réalisation de réactions chimiques catalysées en phase hétérogène, ou bien encore
comme matériau fonctionnel pour des applications dans le domaine de
l'environnement (piégeage de métaux lourds par exemple).

Les matériaux se présentant sous la forme de monolithes macroporeux à
15 porosité ouverte, en fonction de leur nature chimique, constituent des matériaux de
choix pour de nombreuses applications telles que la chimie séparative comme par
exemple la chromatographie, la filtration, l'adsorption, la catalyse en phase
hétérogène, la fabrication d'électrodes et le stockage de l'énergie en raison de leur
grande surface spécifique, de leur grand volume de pores et de leurs excellentes
20 propriétés mécaniques.

Au sens de la présente invention, une porosité ouverte est une porosité à
laquelle on accède depuis l'extérieur du matériau et qui participe au transport de
matière. Ces matériaux comprennent une surface spécifique élevée et une structure
hiérarchisée.

25 L'os est un matériau hybride constitué principalement par des cellules, du
collagène de type I qui constitue une trame organique protéique et une phase
minérale constituée de cristaux de phosphates de calcium de structure apatitique
(ou apatites) de taille nanométrique. Cette association organique/minéral à grande
échelle en trois dimensions confère à la fois de l'élasticité et de la dureté au tissu
30 osseux lui permettant de résister aux forces qui lui sont appliquées. L'os est donc
dur, dense et très résistant.

En pratique, peut être considéré comme substitut osseux, tout biomatériau
d'origine humaine, animale, végétale ou synthétique, destiné à l'implantation chez
l'homme, dans la perspective d'une reconstitution du stock osseux, par le
35 renforcement d'une structure osseuse ou le comblement d'une perte de substance
osseuse d'origine traumatique ou orthopédique.

La présente invention s'intéresse en particulier aux matériaux d'origine synthétique. Plusieurs classes de matériaux synthétiques (désignés par "matériaux d'implants") sont proposés dans l'art antérieur. Les matériaux d'implants sont généralement bio inertes, c'est-à-dire simplement tolérés par l'organisme, ou
5 biocompatibles, c'est-à-dire qu'ils s'intègrent parfaitement à l'organisme hôte. Ces matériaux synthétiques doivent répondre à un cahier des charges bien spécifique. Le premier critère obligatoire est celui de la biocompatibilité et de la bonne tolérance par l'organisme du substitut et de ses produits de dégradation. Ces matériaux doivent également présenter une macroporosité favorable à la
10 réhabilitation et à l'ostéoconduction. En particulier, la taille des pores du substitut osseux conditionne sa colonisation par des cellules osseuses : les micropores (taille inférieure à 100 μm) sont propices à la diffusion des ions et des liquides nourriciers et les macropores (tailles de l'ordre de 100-600 μm) sont propices à la colonisation cellulaire osseuse et donc à l'ostéoconduction. Les substituts osseux peuvent
15 également être biodégradables avec une résorption lente et progressive. D'autres propriétés peuvent être souhaitées telles que bioactivité, induction osseuse, qualité mécanique (résistance mécanique), etc... En particulier, la bioactivité est définie comme la propriété de permettre des réactions chimiques spécifiques, à l'interface implant - tissu receveur. Elle dépend directement des propriétés chimiques et
20 physico-chimiques du matériau, et s'oppose à la bioinertie (matériaux biocompatibles mais inertes). Dans le cadre des substituts osseux, le but de la bioactivité est la néoformation osseuse pour aboutir à une véritable liaison chimique avec l'os.

Les différents substituts osseux d'origine synthétique actuellement
25 disponibles sur le marché satisfont plus ou moins complètement aux critères souhaités.

Parmi ces substituts osseux, on peut en particulier mentionner les biocéramiques poreuses à base de phosphate de calcium qui ont une composition chimique similaire à la phase minérale de l'os, et en particulier les biocéramiques
30 d'hydroxyapatite (HAp) obtenues par des procédés classiques de frittage de poudres à hautes températures, généralement entre 1100 et 1300°C (Dj. Veljovic *et al.*, *Ceramics International*, 2011, **37**(2), 471-479) ou par des procédés haute température à partir d'émulsions de Pickering. Notamment, Fujii S. *et al.* (*Journal of Colloid and Interface Science*, 2007, **315**(1), 287-296) ont décrit un procédé de
35 préparation de biocéramiques poreuses d'HAp consistant, dans une première étape à préparer une émulsion huile-dans-eau ayant un pH compris entre 6,1 et 7,7, en utilisant le myristate de méthyle comme phase huileuse et des nanoparticules

d'HAp comme émulsifiant particulaire, puis dans une deuxième étape, à effectuer le frittage de l'émulsion ainsi obtenue à une température de l'ordre de 800°C pour obtenir une biocéramique poreuse à base d'hydroxyapatite. Les matériaux ainsi obtenus ne présentent cependant pas toujours une résistance mécanique suffisante et n'ont pas les propriétés physico-chimiques et biologiques de biocéramiques obtenues à basse température. On observe en particulier une diminution de la biorésorbabilité et la bioactivité. De plus, l'utilisation de hautes températures de frittage n'est pas compatible avec la fonctionnalisation des matériaux par des biomolécules (protéine, peptide, facteur de croissance...) dont le rôle sur l'adhésion et/ou la prolifération cellulaire est connu.

On peut également mentionner les matériaux composites macroporeux préparés par évaporation de solvant à partir d'émulsions de Pickering. Par exemple, Yang H *et al.* (Macromolecular Materials and Engineering, 2014, 299, 1070-1080) décrivent un procédé de préparation de tels matériaux consistant tout d'abord à préparer une émulsion huile dans eau dans laquelle la phase huileuse dispersée est constituée de dichlorométhane, tandis que la phase continue est une solution aqueuse d'acide polylactique (PLLA) dans l'eau, ladite émulsion étant stabilisée par des particules d'HAp fonctionnalisées par de l'acide polylactique, lesdites particules étant adsorbées à l'interface huile/eau, puis à évaporer l'émulsion pour obtenir un matériau macroporeux constitué d'une matrice composite HAp/PLLA comportant des macropores interconnectés. La taille des macropores dans ces matériaux est de l'ordre de la centaine de microns. Ces matériaux présentent par ailleurs un module de Young pouvant varier entre 0,16 MPa pour les plus faibles concentrations en particules d'HAp (5,1 % en masse) à 8,40 MPa pour les plus hautes concentrations en particules d'HAp (21,7 % en masse). Cependant, ce procédé ne donne pas non plus entière satisfaction dans la mesure où leur résistance mécanique n'est pas suffisante. De plus, les particules d'hydroxyapatite utilisées sont des particules modifiées par du PLLA, ce qui conduit à un matériau hybride organique/inorganique aux applications limitées. En effet la conception d'un biomatériau ostéoinducteur passe par une fonctionnalisation de la surface des cristaux d'apatites par adsorption ou greffage de la biomolécule (protéine, peptide, facteur de croissance...) sur le matériau minéral.

Dans un domaine technique totalement différent, qui est celui de la chimie séparative et de la filtration, ou de la réalisation de réactions chimiques catalysées en phase hétérogène, il a par ailleurs déjà été proposé, notamment dans la demande de brevet FR 2 965 807, un procédé de préparation de matériaux monolithiques inorganiques macroporeux permettant d'accéder à des monolithes de silice ayant

une macroporosité ouverte et contrôlée avec une taille de macropores allant du micron à quelques centaines de microns. Ces matériaux sont préparés selon un procédé comprenant au moins une étape de minéralisation d'une émulsion huile-dans-eau formée de gouttelettes d'une phase huileuse dispersées dans une phase aqueuse continue et dans laquelle des particules solides colloïdales sont présentes à l'interface formée entre la phase aqueuse continue et les gouttelettes de phase huileuse dispersées. Les particules solides colloïdales peuvent être minérales ou organiques. Selon cette demande antérieure, les particules solides colloïdales sont de préférence des particules minérales choisies dans le groupe des oxydes, hydroxydes et sulfates de métaux. A titre tout à fait préférentiel, ce sont des particules de silice. Les matériaux obtenus selon ce procédé ne peuvent cependant pas être utilisés à titre de substitut osseux dans la mesure où ils ne renferment dans leur structure aucun matériau biocompatible proche du minéral osseux.

Il existe donc un besoin pour un matériau monolithique poreux répondant à l'ensemble du cahier des charges relatifs aux matériaux utilisables à titre de substituts osseux, c'est-à-dire qui présentent une macroporosité suffisante à la colonisation des macropores par le tissu osseux, et qui soit biocompatible, résorbable de façon lente et continue dans le temps, ainsi que pour un procédé de préparation permettant d'accéder de façon simple et à basses températures à un tel matériau.

La présente invention a donc pour premier objet un procédé de préparation d'un matériau poreux minéral biocompatible se présentant sous forme d'un monolithe alvéolaire constitué d'une matrice de silice comprenant des macropores interconnectés ayant une dimension moyenne d_A allant de 100 μm à 500 μm et des micropores de dimension moyenne d_I de 0,7 à 2 nm, et dans lequel au moins une partie de la surface des macropores est recouverte de particules d'hydroxyapatite, ledit procédé comprenant au moins une étape de minéralisation d'une émulsion huile-dans-eau formée de gouttelettes d'une phase huileuse dispersées dans une phase aqueuse continue et dans laquelle des particules solides colloïdales sont présentes à l'interface formée entre la phase aqueuse continue et les gouttelettes de phase huileuse dispersées, ledit procédé étant caractérisé et en ce que :

- la fraction volumique de la phase huileuse est supérieure ou égale à 64 %,
- les particules solides colloïdales sont des particules d'hydroxyapatite,
- la quantité de particules d'hydroxyapatite varie de 0,05 à 50 mg de particules/mL de phase huileuse, et

- ladite étape de minéralisation est réalisée sans agitation, à un pH compris entre 6 et 9, en présence d'au moins un précurseur d'oxyde de silice en une quantité supérieure ou égale à 10% en masse par rapport à la masse de la phase aqueuse.

Selon l'invention, le terme « biocompatible » utilisé dans la présente
5 description pour qualifier un matériau ou une substance, telle que par exemple une huile, signifie que ledit matériau ou ladite substance n'interfère pas et ne dégrade pas le milieu biologique dans lequel il/elle est utilisé(e).

Selon une forme de réalisation préférée de l'invention, la quantité de
particules solides colloïdales d'hydroxyapatite au sein de l'émulsion varie de 1 mg
10 de particules/mL de phase huileuse à 40 mg de particules/mL de phase huileuse, et encore plus préférentiellement de 5 mg/mL à 20 mg/mL de phase huileuse.

La mise en œuvre de ce procédé se fait à basse température (c'est-à-dire à température ambiante, en général entre 20 et 25°C) et permet, de façon surprenante, d'accéder à des monolithes de silice comportant un réseau macroporeux dans lequel
15 les pores sont interconnectés (porosité ouverte) et ont une taille calibrée et homogène pouvant varier entre 100 et 500 μm et dont la biocompatibilité est suffisante pour permettre son utilisation, notamment à titre de substitut osseux. Il est en effet possible, grâce à la présence des particules solides colloïdales d'hydroxyapatite à l'interface de la phase huileuse et de la phase aqueuse, de
20 stabiliser l'émulsion et de permettre une minéralisation homogène de la phase aqueuse conduisant de façon simple et reproductible à un monolithe de silice à macroporosité ouverte dans lequel la taille des macropores découle directement la quantité de particules adsorbées à l'interface huile/eau (procédé de coalescence limitée) et dans lequel au moins une partie de la surface des macropores est tapissée
25 par des particules d'hydroxyapatite dont la présence favorise la colonisation par les cellules du tissu osseux. De plus, la présence des particules solides colloïdales d'hydroxyapatite dans les proportions indiquées ci-dessus, favorise la croissance hétérogène de la silice à l'interface formée entre la phase aqueuse continue et les gouttelettes de phase huileuse lors de l'étape de minéralisation conduisant à un
30 matériau cohésif autour des gouttes d'huile alors que la liaison P-O-Si se fait en principe plus difficilement que la liaison Si-O-Si. Enfin les particules d'hydroxyapatite conserve leur caractère biocompatible bien qu'elles soient utilisées à une taille nanométrique ce qui n'est pas le cas pour tout type de matériau, comme par exemple le carbone qui devient cytotoxique lorsqu'il est
35 utilisé sous forme de nanotubes.

Au sens de la présente invention, on entend par monolithe, un objet solide ayant une dimension moyenne d'au moins 1 mm. Bien entendu dans le cadre de l'utilisation du matériau obtenu selon le procédé de l'invention, c'est-à dire à titre de substitut osseux, lesdits monolithes peuvent avoir des tailles et formes variées en
5 fonction du volume de tissu osseux à remplacer.

Selon l'invention, les micropores sont présents dans l'épaisseur des parois des macropores, les rendant alors microporeuses.

Selon une forme de réalisation particulière et préférée du procédé conforme à l'invention, le procédé comprend, dans cet ordre, les étapes suivantes :

10 i) la dispersion de particules solides colloïdales d'hydroxyapatite dans une phase aqueuse ayant un pH allant de 6 à 9 environ pour obtenir une dispersion aqueuse de particules d'hydroxyapatite ;

ii) la préparation d'une solution aqueuse d'au moins un précurseur de silice, le pH de ladite solution étant de 2 à 5 environ ;

15 iii) le maintien de la solution aqueuse d'au moins un précurseur de silice sous agitation pendant une durée allant de 5 minutes à 10 heures environ pour obtenir une solution aqueuse d'au moins un précurseur de silice hydrolysé ;

iv) l'ajout, à ladite dispersion aqueuse obtenue ci-dessus à l'étape i), de la phase huileuse, sous agitation mécanique jusqu'à obtention d'une émulsion huile-
20 dans-eau,

v) l'ajout, à ladite émulsion obtenue ci-dessus à l'étape iv), de la solution aqueuse d'au moins un précurseur de silice hydrolysé obtenue ci-dessus à l'étape iii) pour obtenir une émulsion huile-dans-eau stabilisée par des particules d'hydroxyapatite et dans laquelle la phase aqueuse comprend ledit précurseur de
25 silice hydrolysé ;

vi) la mise au repos de l'émulsion résultant de l'étape v) jusqu'à obtention d'un matériau solide, puis

vii) l'élimination de la phase huileuse présente dans le matériau solide obtenu ci-dessus à l'étape vi) pour obtenir le matériau attendu sous la forme d'un
30 monolithe de silice macroporeux dans lequel la surface des macropores est tapissée de particules d'hydroxyapatite.

Selon cette forme de réalisation particulière du procédé de l'invention, l'étape iii) provoque l'hydrolyse du précurseur d'oxyde de silice, l'étape v) conduit à la formation de l'émulsion huile-dans-eau dans laquelle les particules solides

colloïdales d'hydroxyapatite s'adsorbent à l'interface eau/huile, tandis que l'étape vi) conduit à la minéralisation de l'émulsion, et donc à l'obtention d'un matériau solide macroporeux, par condensation des précurseurs d'oxyde de silice hydrolysés.

La phase huileuse de l'émulsion est de préférence constituée par une ou
5 plusieurs huiles liquides à température ambiante, pouvant notamment être choisies parmi les esters d'acides gras, les huiles végétales, les huiles essentielles ou toute huile que l'on peut dissoudre avec des solvants organiques volatils tels que le tetrahydrofurane (THF), l'acétone ou l'éthanol. De préférence pour des applications biomédicales, les huiles liquides sont choisies parmi les huiles biocompatibles.

10 A titre d'exemple d'esters d'acides gras, on peut en particulier citer les esters d'acides gras en C_8/C_{10} tels que l'huile de glycérine (ou tricapryline), les triglycérides d'acide caprique et d'acide caprylique, les triglycérides d'acide caprique, d'acide caprylique et d'acide linoléique, les esters de propylène glycol dicaprilate/dicaprate, les esters de butylène glycol dicaprilate/dicaprate, les
15 monoglycérides diacétylés, le décyloléate, etc...

Parmi les esters d'acides gras, on préfère tout particulièrement les triglycérides à chaîne courte pour éviter toute cristallisation de l'huile à température ambiante, tels que le produit vendu sous la dénomination commerciale Stelliesters MCT 55/45 par la société Stéarine Dubois.

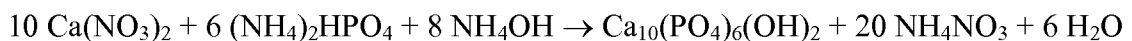
20 La quantité de phase huileuse présente au sein de l'émulsion peut être ajustée en fonction du diamètre des macropores que l'on souhaite obtenir pour le monolithe de silice, étant entendu que plus la fraction volumique huile/eau sera élevée, plus le diamètre des gouttelettes d'huile au sein de l'émulsion sera faible et plus le diamètre des macropores sera faible également.

25 Selon une forme de réalisation préférée de l'invention, la fraction volumique de la phase huileuse de l'émulsion varie de 64 à 90 %, et encore plus préférentiellement de 70 % à 82 %. Ces quantités de phase huileuse permettent d'obtenir un monolithe de silice macroporeux dans lequel les pores sont interconnectés.

30 Pour être colloïdales, les particules solides d'hydroxyapatite présentent généralement une taille inférieure à quelques micromètres. Ainsi les particules d'hydroxyapatite présentent généralement une taille moyenne comprise entre 5 et 5000 nm inclusivement, et de préférence entre 5 et 500 nm inclusivement. Elles peuvent être de forme sphérique ou non, par exemple sous la forme d'aiguilles.
35 Selon une forme de réalisation préférée de l'invention, les particules d'hydroxyapatite sont de forme sphérique.

Selon une forme de réalisation préférée de l'invention, les particules solides colloïdales d'hydroxyapatite sont choisies parmi les nanoparticules vendues sous les dénominations Hydroxyapatite par la société Sigma Aldrich (CAS N° 12167-74-7), Hydroxyapatite Nanopowder par la société MK Nano. Les particules
5 vendues par la société MK Nano sont des particules en forme d'aiguilles dont la largeur est d'environ 20 nm et de longueur environ 60 nm.

Les particules solides colloïdales d'hydroxyapatite peuvent également être obtenues par une méthode classique de synthèse par double décomposition consistant à mélanger une solution de nitrate de calcium et une solution de
10 phosphate de diammonium à pH basique selon la réaction chimique suivante :



Selon cette réaction, un précipité blanc se forme immédiatement après mélange des deux solutions et sédimente. Le milieu réactionnel est laissé à mûrir pendant environ 24 heures, puis le précipité est filtré, lavé et l'eau est lyophilisée.

15 Selon une forme de réalisation particulièrement préférée de l'invention, les particules solides colloïdales d'hydroxyapatite utilisées selon le procédé sont des particules d'hydroxyapatite synthétisées par double décomposition par mélange d'une solution de nitrate de calcium et d'une solution de phosphate de diammonium à pH basique. La quantité de particules d'hydroxyapatite (à quantité
20 d'huile fixée) présente au sein de l'émulsion peut être ajustée en fonction du diamètre des macropores que l'on souhaite obtenir pour le monolithe de silice, étant entendu que plus la quantité de particules sera élevée, plus le diamètre des gouttelettes d'huile au sein de l'émulsion sera faible et plus le diamètre des macropores sera faible également.

25 Avantageusement, la quantité de particules solides colloïdales d'hydroxyapatite présentes dans la phase aqueuse continue varie en fonction de la taille moyenne en volume souhaitée des gouttelettes de la phase huileuse dans l'émulsion et par voie de conséquence, de la taille souhaitée pour les macropores du matériau.

30 Le ou les précurseur(s) d'oxyde de silice sont de préférence choisis parmi le tetraméthoxyorthosilane (TMOS), le tetraéthoxyorthosilane (TEOS), le diméthyl-diéthoxysilane (DMEDES) et les mélanges du DMEDES avec le TEOS ou le TMOS.

Selon une forme de réalisation préférée de l'invention, le précurseur de silice
35 est le TEOS.

La concentration en précurseur(s) d'oxyde de silice au sein de la phase aqueuse de l'émulsion varie de préférence de 10 à 40 % environ en masse par rapport à la masse de la phase aqueuse.

Egalement selon une forme de réalisation préférée de l'invention, la durée de l'étape iii) varie de 3 à 5 heures environ.

L'agitation mécanique réalisée lors l'étape iv) peut notamment être réalisée dans un dispositif destiné à émulsionner tel que par exemple dans des dispositifs vendus sous les dénominations commerciales Ultra-Turrax® ou Rayneri.

L'étape vi) (étape de minéralisation) est effectuée avantageusement à une température proche de la température ambiante. La durée de cette étape peut varier de quelques heures (2 à 3 heures) à quelques semaines (2 à 3 semaines) en fonction du pH du milieu réactionnel.

Le lavage du matériau lors de l'étape vii) permet d'éliminer les résidus organiques provenant de la phase huileuse et se trouvant essentiellement dans les macropores. Ce lavage peut être réalisé à l'aide d'un solvant organique volatil tel que l'acétone, le tétrahydrofurane (THF) ou leurs mélanges.

A l'issue de l'étape vii), le matériau obtenu est de préférence séché à une température comprise entre 15 et 40°C, pendant 10 à 20 jours. Le séchage du matériau peut par exemple être effectué dans un dessiccateur à une température de 25°C environ pendant 10 jours.

Le monolithe de silice obtenu par la mise en œuvre du procédé tel que défini selon le premier objet de l'invention, est nouveau en soi et constitue à ce titre le deuxième objet de l'invention.

L'invention a donc également pour objet le matériau poreux minéral biocompatible obtenu par la mise en œuvre du procédé conforme à la présente invention, ledit matériau étant caractérisé en qu'il se présente sous forme d'un monolithe alvéolaire constitué d'une matrice de silice comprenant des macropores interconnectés ayant une dimension moyenne d_A allant de 100 μm à 500 μm et des micropores de dimension moyenne d_I de 0,7 à 2 nm, et dans lequel au moins une partie de la surface des macropores est recouverte par des particules d'hydroxyapatite.

Dans ce matériau, les parois des macropores ont généralement une épaisseur allant de 0,1 à 10 μm environ, et de préférence de 0,5 à 1 μm environ.

Selon l'invention, les micropores sont présents dans l'épaisseur des parois des macropores, les rendant alors microporeuses.

La surface spécifique du matériau conforme à l'invention varie généralement de 100 à 400 m²/g environ, préférentiellement de 150 à 300 m²/g environ.

5 Comme indiqué précédemment, la nature même du matériau (silice), et la présence des particules d'hydroxyapatite à la surface des macropores du matériau conforme à l'invention permet de favoriser la colonisation des macropores par les tissus osseux, ce qui rend son utilisation à titre de substitut osseux particulièrement avantageuse.

10 Par conséquent, le troisième objet de l'invention est le matériau tel qu'obtenu par le procédé tel que défini selon le premier objet de l'invention ou tel que défini dans le second objet de l'invention, pour une utilisation à titre de substitut osseux, c'est-à-dire comme matériau de comblement osseux.

La présente invention est illustrée par les exemples de réalisation suivants,
15 auxquels elle n'est cependant pas limitée.

EXEMPLES

Les matières premières utilisées dans les exemples qui suivent sont listées ci-après :

- Tetraéthoxyorthosilane à 98 % (TEOS) : société Aldrich ;
- 20 - Huile biocompatible : ester d'acide caprylique et de triglycérides capryliques, vendue sous la dénomination commerciale Stelliesters MCT 55/45° par la société Stéarinerie Dubois ;
- Particules sphériques d'hydroxyapatite de diamètre 50 à 200 nm vendues sous la dénomination commerciale Hydroxyapatite par la société Sigma Aldrich ;
- 25 - Tetrahydrofurane ;
- NaCl ; Acide chlorhydrique ; ammoniacque (Sigma Aldrich)
- phosphate de diammonium (Sigma Aldrich) ;
- nitrate de calcium (Sigma Aldrich)
- Eau déminéralisée.

30 Ces matières premières ont été utilisées telles que reçues des fabricants, sans purification supplémentaire.

Dans les exemples qui suivent, chacune des émulsions préparées avait un volume total de 20 mL, la phase aqueuse de l'émulsion étant constituée par une solution aqueuse de NaCl à 0,5M.

La macroporosité a été caractérisée de manière qualitative par une technique
5 MEB à l'aide du microscope TM-1000 de la société Hitachi. Les échantillons ont été revêtus d'or ou de carbone par dépôt plasma avant leur caractérisation.

Les analyses de diffraction des rayons X ont été réalisées sur des particules d'hydroxyapatite à l'aide d'un diffractomètre à compteur courbe vendu sous la référence INEL CPS 120 utilisant le rayonnement $K\alpha_1$ émis par une anticathode au
10 cobalt ($\lambda=1,78892\text{\AA}$).

Les analyses Infrarouge à transformée de Fourier (IFTR) ont été réalisées dans l'intervalle de longueur d'onde allant de 400 cm^{-1} à 4000 cm^{-1} , à l'aide d'un spectromètre Thermo Nicolet 5700 sur des pastilles constituées de 1 mg de produit à analysé, dispersé dans 300 mg de KBr. Le nombre de scans a été réglé à 64 par
15 spectre avec une résolution de 4 cm^{-1} .

Exemple 1

Préparation d'un matériau macroporeux selon le procédé conforme à l'invention

Dans cet exemple, on a préparé un monolithe de silice macroporeux
20 conforme à l'invention à partir d'une émulsion huile-dans-eau stabilisée par des particules d'hydroxyapatite.

Le protocole général suivant a été utilisé :

1) la solution aqueuse de précurseur de silice a été préparée en mélangeant 1 équivalent massique de TEOS pour 2 équivalents massiques d'une solution d'HCl
25 à 10^{-3} M contenant 0,5 M de NaCl qui a été laissée sous agitation à température ambiante pendant 5 heures.

2) la dispersion de particules d'hydroxyapatite a été préparée en dispersant 1 g de particules dans 10 mL d'eau à 0,5 M en NaCl.

3) l'émulsion huile-dans-eau a été préparée en dispersant 8 ml de Stelliesters
30 55/45° (soit 7,6 grammes d'huile), dans 2 mL de la dispersion de particules d'hydroxyapatite obtenue ci-dessus à l'étape 2), soit 26,3 mg d'hydroxyapatite par gramme d'huile. L'émulsion a été préparée sous agitation à l'Ultra Turrax ® (vendu par la société Janke-Kunkel IKA Labortechnik) à 24 000 tours/min pendant 1 minute.

4) Ajout de la solution aqueuse de précurseur de silice préparée à l'étape 1) dans l'émulsion huile-dans-eau préparée à l'étape 3). La fraction volumique en huile (Φ) de l'émulsion était de 65 % (volume d'huile/volume totale de l'émulsion) à l'issue de l'étape 4).

5) la solidification des émulsions s'est faite au repos pendant 10 jours pour permettre la polycondensation du précurseur de silice (TEOS) au sein de la phase continue de l'émulsion sous la forme d'un monolithe de silice.

6) les monolithes de silice ainsi obtenus ont été lavés pendant 3 fois en 24 H dans des bains contenant un mélange acétone/THF (50/50 : v/v) afin d'éliminer l'huile résiduelle présente au sein des macropores et séchés dans un dessiccateur à température ambiante pendant 15 jours.

Dans cet exemple, les monolithes ont été préparés en utilisant les quantités suivantes :

- Solution aqueuse de précurseur de silice à 33 % en masse de TEOS : 2 mL ; pH = 3

- Ajout de 2 mL de cette solution de TEOS préhydrolysé à l'émulsion.

Le monolithe ainsi obtenu (M_{65}) a été examiné en microscopie électronique à balayage (MEB) à l'aide d'un microscope vendu sous la référence TM-1000 par la société Hitachi.

La figure 1 annexée est la photographie MEB du monolithe M_{65} ainsi obtenu.

Cette figure montre que le monolithe M_{65} se présente sous la forme d'un matériau macroporeux dont les pores sont interconnectés et ont un diamètre supérieur à 100 μm , compatible avec l'application envisagée et dont la surface est tapissée de particules d'hydroxyapatite.

Exemple 2

Préparation de matériaux macroporeux selon le procédé conforme à l'invention

Dans cet exemple, on a préparé des monolithes de silice macroporeux conformes à l'invention à partir d'émulsions huile-dans-eau stabilisées par des particules d'hydroxyapatite.

Dans cet exemple on a tout d'abord procédé à la synthèse des particules d'hydroxyapatite selon le protocole suivant :

La synthèse a été réalisée en ajoutant au goutte à goutte 433,3 mL d'une solution aqueuse de phosphate de diammonium 1.5 M dans 1100 mL d'une solution aqueuse de nitrate de calcium 1 M. L'ajout de la solution de phosphate de diammonium a été réalisé en maintenant le pH du milieu réactionnel à 10 par ajout
5 d'ammoniaque et en maintenant la température de réaction à 100°C. Après formation du précipité, la solution a été filtrée sur Buchner, le précipité a été lavé à chaud avec de l'eau décarbonatée. Le gel récupéré a ensuite été lyophilisé et la poudre obtenue stockée au congélateur.

On a ainsi obtenu des particules d'hydroxyapatite agglomérées allongées
10 dans le sens de la longueur de rapport $\text{Ca/P} = 1,66 \pm 0,01$, de longueur moyenne de 250 nm et de largeur inférieure à 100 nm. Les agglomérats ont été tamisés à 125 μm .

Le diagramme de diffraction des rayons X de ces particules est donné à la figure 2 annexée. Sur cette figure l'intensité est fonction de l'angle 2θ . La courbe
15 correspond aux points expérimentaux relevés pour les particules d'hydroxyapatite synthétisées dans cet exemple et les traits verticaux correspondent aux pics indexés sur les valeurs théoriques de l'hydroxyapatite.

Ce diagramme montre que les particules synthétisées sont bien des particules d'hydroxyapatite et qu'aucune impureté n'a été détectée.

20 Le spectre IFTR des particules synthétisé est donné par la figure 3 annexée, sur laquelle l'absorbance est fonction du nombre d'onde en cm^{-1} .

Les résultats présentés sur cette figure montrent les bandes IR caractéristiques de l'hydroxyapatite, avec notamment des bandes de vibration vers $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ et 600 cm^{-1} , caractéristiques des groupements orthophosphate, et
25 3560 cm^{-1} et 630 cm^{-1} attribuables aux groupements OH.

Les particules d'hydroxyapatite ainsi synthétisées ont ensuite été utilisées pour la stabilisation des émulsions huile-dans-eau préparées dans cet exemple.

Les monolithes de silice ont été préparés selon le protocole général donné ci-dessus à l'exemple 1, seule la fraction volumique en huile de l'émulsion de départ a
30 été modifiée, de la manière suivante :

Monolithe M80/20

La fraction volumique en huile de l'émulsion de départ est de 80% (d'où la notation M80/20), ce matériau correspond au protocole donné dans l'exemple 1.

Monolithe M85/10

La fraction volumique en huile de l'émulsion de départ est de 85% (augmentation de la taille des interconnexions).

Les photographies MEB des monolithes M80/20 et M85/10 ainsi obtenus
5 sont données par les figures 4 et 5 annexées.

Exemple 3

Etude de la biocompatibilité des matériaux conformes à l'invention

1) Protocole des tests de cytotoxicité

Afin d'étudier la biocompatibilité des matériaux conformes à l'invention, les
10 monolithes M80/20 et M85/10 tels que préparés ci-dessus à l'exemple 2 ont été
réduits en poudre (dénommées respectivement P-M80/20 et P-M85/10). Les
poudres ont été stérilisées pendant 25 minutes sous rayonnement UV. La quantité
de chacune des poudres nécessaire au recouvrement de 25 %, 50 % et 100 % de la
surface des puits a été déterminée par pesée afin d'assurer une bonne
15 reproductibilité des résultats.

Les tests de cytotoxicité ont été effectués sur les poudres P-M80/20 et
P-M85/10 en présence d'ostéoblastes humains :

- Type de cellules :

Les cellules testées sont des cellules issues d'implants d'os fémoral humain,
20 cultivées dans un milieu *Iscove's Modified Dulbecco* (IMDM) supplémenté en
sérum de veau fœtal 10% et contenant de la protéine BMP2 (facteur de croissance
ostéo-inducteur) à raison de 10 ng/mL. Les cellules ont été placées dans une étuve à
37°C en présence de CO₂, dans des boîtes de 24 puits.

- Préparation des puits :

25 La quantité de chaque poudre nécessaire à l'expérimentation (25 %, 50 % ou
100 % de recouvrement de la surface des puits) a été pesée. La quantité nécessaire
au recouvrement de la moitié (1/2) d'un puits a été déterminée par pesée, elle est
égale à 0.02 g pour la poudre notée P-M85/10 et à 0,04 g pour la poudre P-M80/20.
Les quantités pour couvrir 1/4 ou la totalité de la surface d'un puits ont été
30 déterminées au *pro rata* de la surface. Les puits ont été complétés par la solution
cellulaire. Des plaques de 24 puits ont été utilisées, chaque puits ayant un volume
de 1 mL.

- Tests de cytotoxicité :

Deux jours avant l'ajout des poudres aux puits, les cellules sont ensemencées dans le milieu de culture à raison de 50 000 cellules / puits afin de permettre leur adhésion et démarrer la phase de prolifération.

- 5 A T0 le milieu de culture est alors remplacé par le milieu expérimental. Les tests en présence des poudres sont arrêtés à J1, J3 et J7. Chaque test est répété 3 fois. Des puits ensemencés avec cellules mais en l'absence des poudres servent de contrôle positifs.

Pour chaque temps expérimental (J0, J1, J3, J7), un test colorimétrique au
10 bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium (MTT) est réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre UV (570 nm) afin de mesurer la viabilité des cellules (seules les cellules vivantes sont détectées).

2) Protocole des tests de prolifération :

Parallèlement un test de prolifération a été réalisé non pas sur les poudres
15 P-M80/20 et M-P85/10 mais sur les matériaux M80/20 conservés sous forme de monolithes, préalablement stérilisés à l'oxyde d'éthylène. Ces monolithes ont été placés dans des puits de culture dont le fond avait été préalablement recouvert d'agarose 1% afin d'empêcher l'adhésion des cellules sur le fond. Les ostéoblastes ont alors été ensemencées à raison de 40 000 cellules / puits dans un volume de
20 50 µL de milieu de culture afin de permettre leur pénétration complète dans le monolithe poreux. Après 3 heures d'incubation 1,5 mL de milieu de culture est alors ajouté avec précaution.

Des observations au microscope électronique à balayage (MEB) ont alors été effectuées à J2 afin de vérifier la présence de cellules en surface et donc leur
25 adhésion sur les monolithes (en surface ou à l'intérieur des macropores).

3) Résultats obtenus

3.1) Résultats des tests de cytotoxicité

Les résultats des dosages MTT sont exprimés en fonction du pourcentage de survie des cellules. Ce pourcentage est obtenu à partir de la valeur moyenne issue
30 des trois expériences pour chaque poudre de monolithe testée. Le 100% est déterminé en l'absence de poudre.

Les résultats obtenus au bout de 1, 3 et 7 jours de culture (J1, J3 et J7) sont respectivement donnés par les figures 6, 7 et 8 annexées sur lesquelles le pourcentage de survie des cellules est donné pour chaque surface de recouvrement.

Sur ces figures les barres de gauche correspondent à la poudre P-M85/10 et les barres de droite à la poudre P-M80/20.

Les résultats montrent peu d'altération de la survie cellulaire pour les 2 matériaux testés. La poudre P-M80/20 montre très peu d'altération de la survie cellulaire particulièrement à des temps courts (J1) puis la poudre P-M85/10 présente une meilleure survie à J7.

3.2) Résultats des tests de prolifération

La figure 9 est une photographie MEB d'un monolithe M80/20 à l'issue du test de prolifération et montrent des cellules osseuses adhérentes à la paroi des macropores. Ces résultats sont encourageants pour le développement de biocéramiques bioactives qui guideraient l'adhésion des cellules osseuses au travers de la macroporosité et aideraient la repousse osseuse.

REVENDICATIONS

1. Procédé de préparation d'un matériau poreux minéral biocompatible se présentant sous forme d'un monolithe alvéolaire constitué d'une matrice de silice comprenant des macropores interconnectés ayant une dimension moyenne d_A allant de 100 μm à 500 μm et des micropores de dimension moyenne d_i de 0,7 à 2 nm, et dans lequel au moins une partie de la surface des macropores est tapissée de particules d'hydroxyapatite, ledit procédé comprenant au moins une étape de minéralisation d'une émulsion huile-dans-eau formée de gouttelettes d'une phase huileuse dispersées dans une phase aqueuse continue et dans laquelle des particules solides colloïdales sont présentes à l'interface formée entre la phase aqueuse continue et les gouttelettes de phase huileuse dispersées, ledit procédé étant caractérisé en ce que :

- la fraction volumique de la phase huileuse est supérieure ou égale à 64 %,
- les particules solides colloïdales sont des particules d'hydroxyapatite,
- la quantité de particules d'hydroxyapatite varie de 0,05 à 50 mg de particules/mL de phase huileuse,
- ladite étape de minéralisation est réalisée sans agitation, à un pH compris entre 6 et 9, en présence d'au moins un précurseur d'oxyde de silice en une quantité supérieure ou égale à 10 % en masse par rapport à la masse de la phase aqueuse.

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la quantité de particules solides colloïdales d'hydroxyapatite au sein de l'émulsion varie de 1 mg de particules/mL de phase huileuse à 40 mg de particules/mL de phase huileuse.

3. Procédé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce qu'il comprend, dans cet ordre, les étapes suivantes :

- i) la dispersion de particules solides colloïdales d'hydroxyapatite dans une phase aqueuse ayant un pH allant de 6 à 9 pour obtenir une dispersion aqueuse de particules d'hydroxyapatite,
- ii) la préparation d'une solution aqueuse d'au moins un précurseur de silice, le pH de ladite solution étant de 2 à 5,
- iii) le maintien de la solution aqueuse d'au moins un précurseur de silice sous agitation pendant une durée allant de 5 minutes à 10 heures pour obtenir une solution aqueuse d'au moins un précurseur de silice hydrolysé,

iv) l'ajout, à ladite dispersion aqueuse obtenue ci-dessus à l'étape i), de la phase huileuse, sous agitation mécanique jusqu'à obtention d'une émulsion huile-dans-eau,

v) l'ajout, à ladite émulsion obtenue ci-dessus à l'étape iv), de la solution aqueuse d'au moins un précurseur de silice hydrolysé obtenue ci-dessus à l'étape 5 iii), pour obtenir une émulsion huile-dans-eau stabilisée par des particules d'hydroxyapatite et dans laquelle la phase aqueuse comprend ledit précurseur de silice hydrolysé,

vi) la mise au repos de l'émulsion résultant de l'étape v) jusqu'à obtention 10 d'un matériau solide, puis

vii) l'élimination de la phase huileuse présente dans le matériau solide obtenu ci-dessus à l'étape vi) pour obtenir le matériau attendu sous la forme d'un monolithe de silice macroporeux dans lequel la surface des macropores est tapissée de particules d'hydroxyapatite.

15 4. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que la phase huileuse de l'émulsion est constituée par une ou plusieurs huiles choisies parmi les esters d'acides gras, les huiles végétales et les huiles essentielles.

5. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, 20 caractérisé en ce que la fraction volumique de la phase huileuse de l'émulsion varie de 64 à 90 %.

6. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les particules d'hydroxyapatite présentent une taille moyenne comprise entre 5 et 5000 nm inclusivement.

25 7. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les particules d'hydroxyapatite sont de forme sphérique ou en aiguille.

8. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les précurseurs d'oxyde de silice sont choisis parmi le 30 tetraméthoxyorthosilane, le tétraéthoxyorthosilane, le diméthyl-diéthoxysilane et les mélanges du diméthyl-diéthoxysilane avec le tétraéthoxyorthosilane ou le tetraméthoxyorthosilane.

9. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que la concentration en précurseur(s) d'oxyde de silice au sein de

la phase aqueuse de l'émulsion varie de 10 à 40 % en masse par rapport à la masse de la phase aqueuse.

10. Procédé selon l'une quelconque des revendications 3 à 9, caractérisé en ce que la durée de l'étape iii) varie de 3 à 5 heures.

5 11. Procédé selon l'une quelconque des revendications 3 à 10, caractérisé en ce qu'à l'issue de l'étape vii), le matériau obtenu est séché à une température comprise entre 15 et 40°C, pendant 10 à 20 jours.

12. Matériau poreux minéral biocompatible obtenu par la mise en œuvre du procédé tel que défini à l'une quelconque des revendications précédentes, ledit
10 matériau étant caractérisé en qu'il se présente sous forme d'un monolithe alvéolaire constitué d'une matrice de silice comprenant des macropores interconnectés ayant une dimension moyenne d_A allant de 100 μm à 500 μm et des micropores de dimension moyenne d_I de 0,7 à 2 nm, et dans lequel au moins une partie de la surface des macropores est recouverte par des particules d'hydroxyapatite.

15 13. Matériau selon la revendication 12, caractérisé en ce que les parois des macropores ont une épaisseur allant de 0,1 à 10 μm .

14. Matériau selon la revendication 12 ou 13, caractérisé en ce que la surface spécifique dudit matériau varie de 100 à 400 m^2/g .

20 15. Matériau poreux minéral biocompatible tel qu'obtenu selon le procédé défini à l'une quelconque des revendications 1 à 11 ou tel que défini à l'une quelconque des revendications 12 à 14, pour une utilisation à titre de matériau de comblement osseux.

FIGURE 1

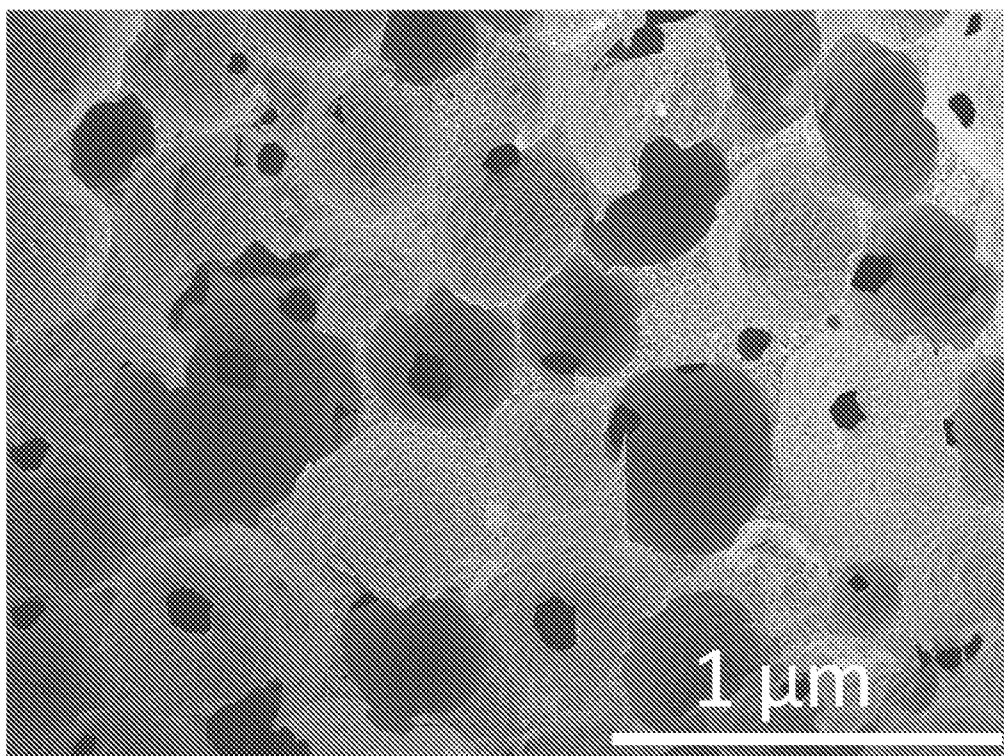


FIGURE 2

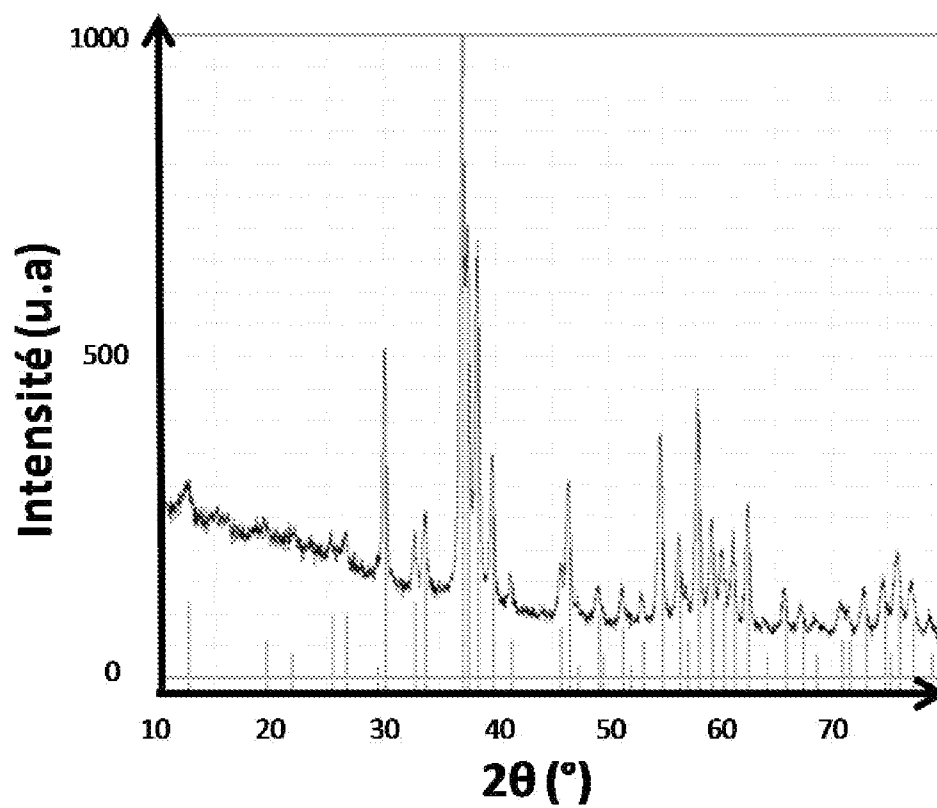


FIGURE 3

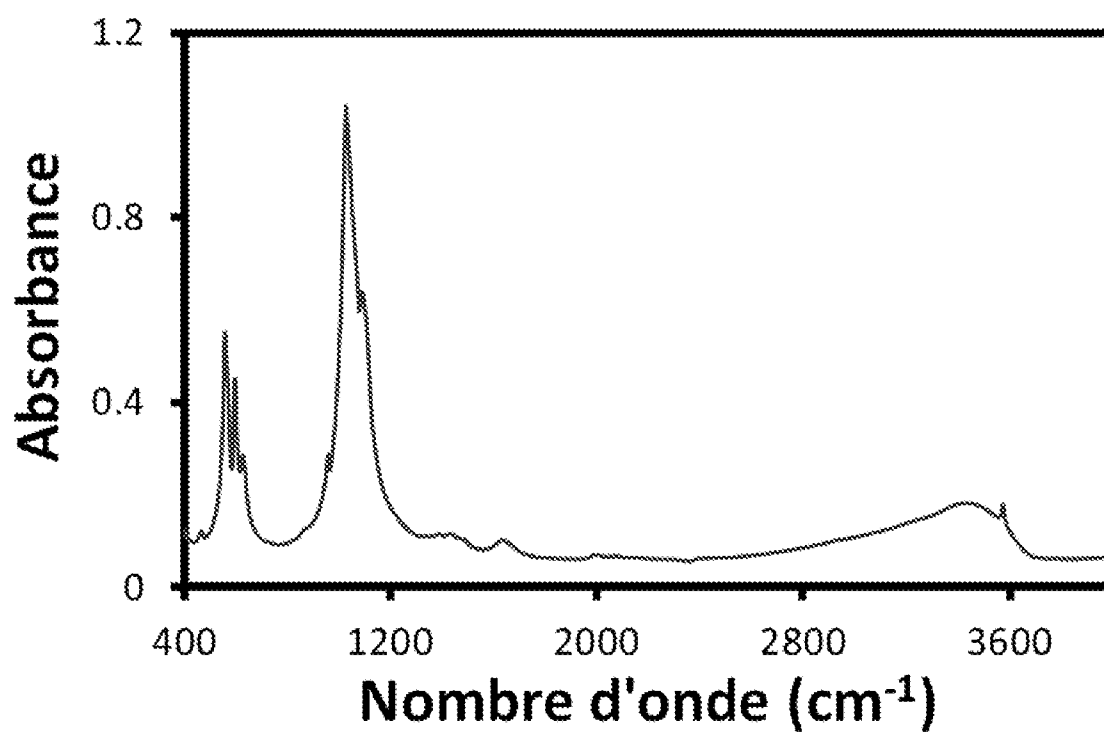


FIGURE 4

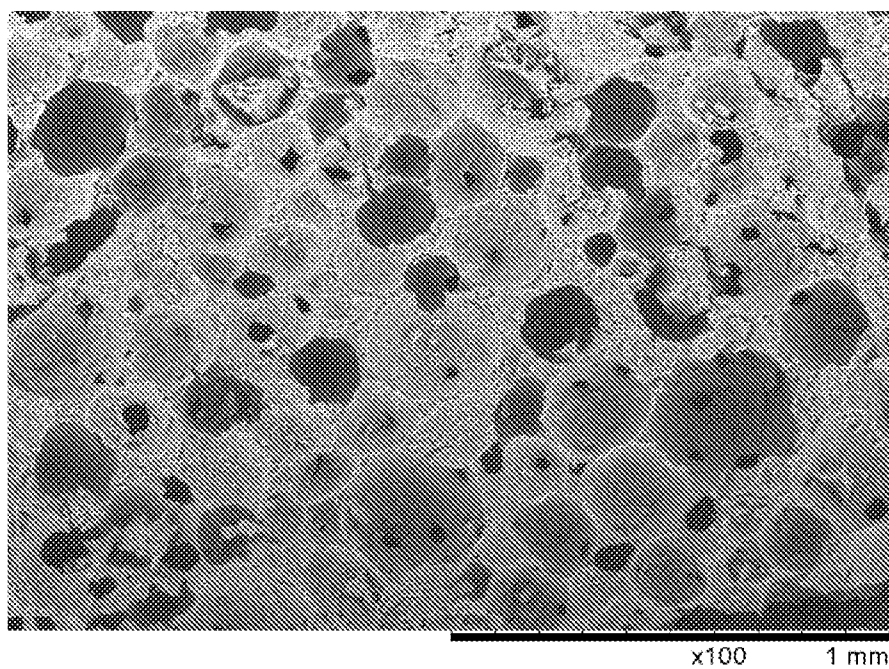


FIGURE 5

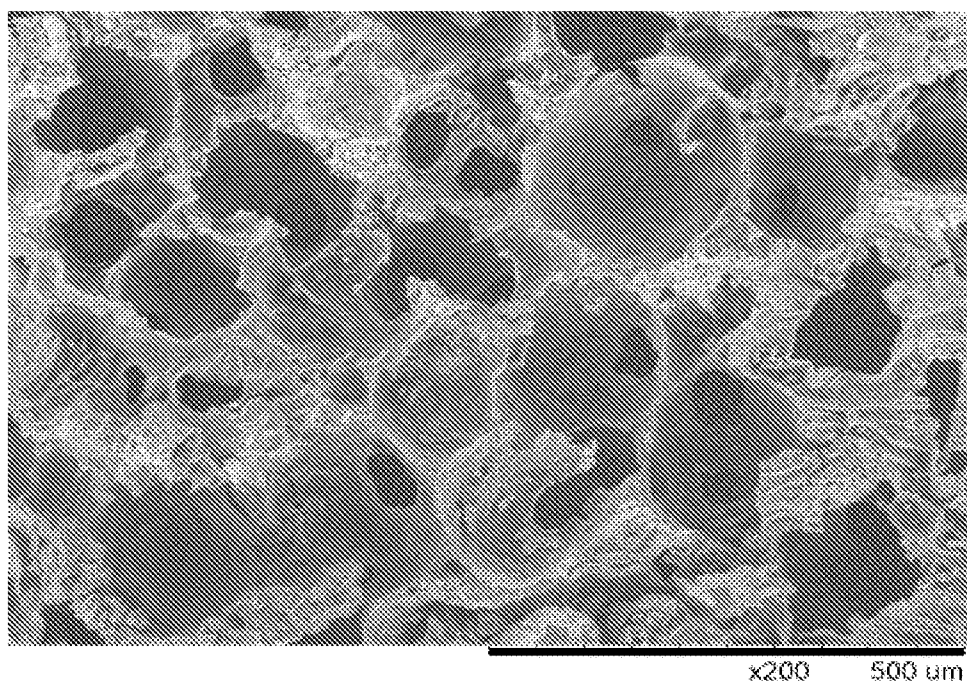


FIGURE 6

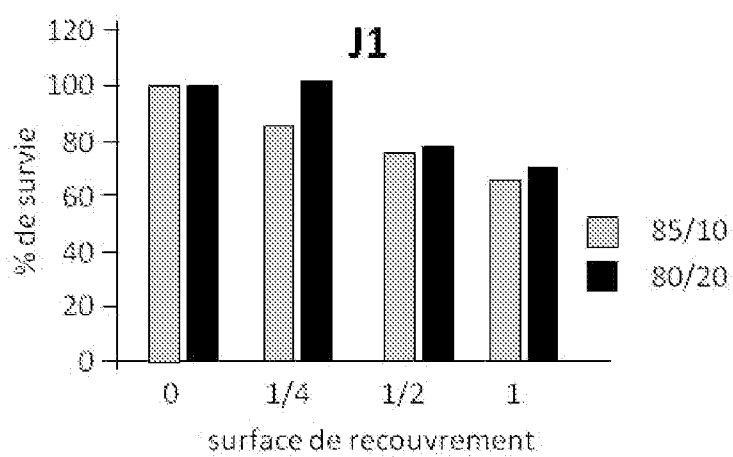


FIGURE 7

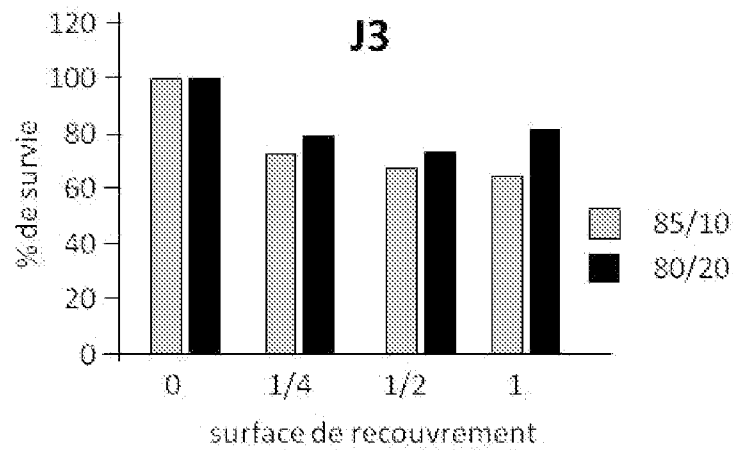


FIGURE 8

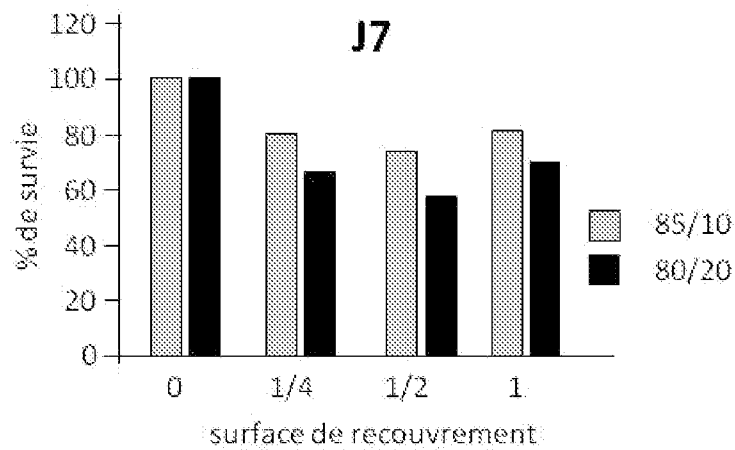
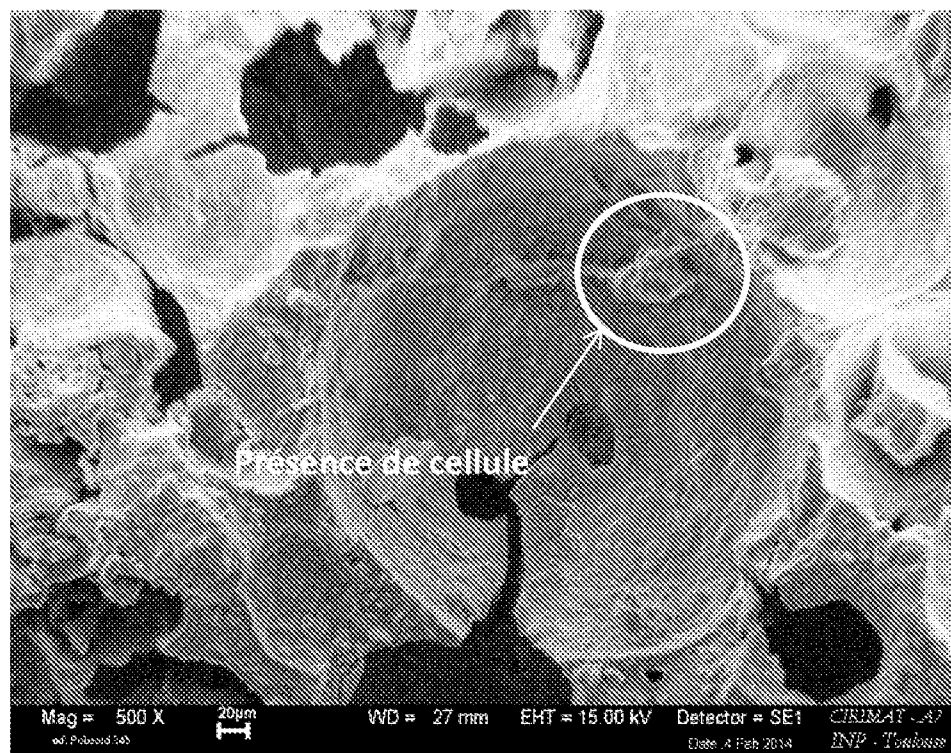


FIGURE 9



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2016/051524

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61L27/10 A61L27/12 A61L27/56
ADD.

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 C04B

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)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FR 2 965 807 A1 (CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]) 13 April 2012 (2012-04-13) the whole document ----- -/--	1-15



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent 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)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"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

"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

"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 such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 September 2016

Date of mailing of the international search report

05/10/2016

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Sierra Gonzalez, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/FR2016/051524

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FLORENT CARN ET AL: "Inorganic monoliths hierarchically textured via concentrated direct emulsion and micellar templatesElectronic supplementary information (ESI) available: XRD profiles, nitrogen physisorption data and pore size distribution calculated from density functional theory, for the xSi-HIPE0.035 series. See h", JOURNAL OF MATERIALS CHEMISTRY, vol. 14, no. 9, 1 January 2004 (2004-01-01), page 1370, XP055267430, GB ISSN: 0959-9428, DOI: 10.1039/b400984c the whole document -----	1-15
A	FR 2 857 961 A1 (CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]; UNIV BORDEAUX 1 [FR]) 28 January 2005 (2005-01-28) the whole document -----	1-15
A	HERTZ A ET AL: "Inorganic materials for bone repair or replacement applications", NANOMEDICINE, FUTURE MEDICINE LTD., LONDON, GB, vol. 2, no. 6, 1 December 2007 (2007-12-01), pages 899-918, XP008102023, ISSN: 1743-5889, DOI: 10.2217/17435889.2.6.899 page 913, right-hand column, last paragraph - page 914, left-hand column, paragraph 1 -----	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/FR2016/051524

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2965807	A1	13-04-2012	EP 2627616 A1 21-08-2013
			FR 2965807 A1 13-04-2012
			JP 2013544743 A 19-12-2013
			US 2013277311 A1 24-10-2013
			WO 2012049412 A1 19-04-2012

FR 2857961	A1	28-01-2005	FR 2857961 A1 28-01-2005
			WO 2005019134 A1 03-03-2005

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2016/051524

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. A61L27/10 A61L27/12 A61L27/56 ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) A61L C04B		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	FR 2 965 807 A1 (CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]) 13 avril 2012 (2012-04-13) le document en entier ----- -/--	1-15
☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents ☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités: "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
19 septembre 2016		05/10/2016
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale		Fonctionnaire autorisé
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Sierra Gonzalez, M

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	FLORENT CARN ET AL: "Inorganic monoliths hierarchically textured via concentrated direct emulsion and micellar templatesElectronic supplementary information (ESI) available: XRD profiles, nitrogen physisorption data and pore size distribution calculated from density functional theory, for the xSi-HIPE0.035 series. See h", JOURNAL OF MATERIALS CHEMISTRY, vol. 14, no. 9, 1 janvier 2004 (2004-01-01), page 1370, XP055267430, GB ISSN: 0959-9428, DOI: 10.1039/b400984c le document en entier -----	1-15
A	FR 2 857 961 A1 (CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]; UNIV BORDEAUX 1 [FR]) 28 janvier 2005 (2005-01-28) le document en entier -----	1-15
A	HERTZ A ET AL: "Inorganic materials for bone repair or replacement applications", NANOMEDICINE, FUTURE MEDICINE LTD., LONDON, GB, vol. 2, no. 6, 1 décembre 2007 (2007-12-01), pages 899-918, XP008102023, ISSN: 1743-5889, DOI: 10.2217/17435889.2.6.899 page 913, colonne de droite, dernier alinéa - page 914, colonne de gauche, alinéa 1 -----	1-15

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/FR2016/051524

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2965807	A1	13-04-2012	EP 2627616 A1	21-08-2013
			FR 2965807 A1	13-04-2012
			JP 2013544743 A	19-12-2013
			US 2013277311 A1	24-10-2013
			WO 2012049412 A1	19-04-2012

FR 2857961	A1	28-01-2005	FR 2857961 A1	28-01-2005
			WO 2005019134 A1	03-03-2005
