

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

①1 N° de publication : 2 940 620

(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

②1 N° d'enregistrement national : 09 59451

⑤1 Int Cl<sup>8</sup> : A 61 L 27/46 (2006.01), A 61 L 27/56

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 23.12.09.

③0 Priorité : 26.12.08 JP 2008332794.

④3 Date de mise à la disposition du public de la  
demande : 02.07.10 Bulletin 10/26.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche préliminaire : *Ce dernier n'a pas été  
établi à la date de publication de la demande.*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : HOYA CORPORATION — JP.

⑦2 Inventeur(s) : SHOJI DAISUKE.

⑦3 Titulaire(s) : HOYA CORPORATION.

⑦4 Mandataire(s) : SANTARELLI.

⑤4 OS ARTIFICIEL POUVANT ETRE RESORBE ET REMPLACE PAR UN OS AUTOGENE, ET PROCEDE POUR SA PRODUCTION.

⑤7 L'invention concerne un os artificiel qui comprend un corps cylindrique comprenant au moins une couche d'un composite d'apatite/collagène et une couche de collagène.  
Elle concerne également un procédé pour sa production. Domaine d'application: Implantation dudit os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène, ledit os artificiel ayant des propriétés analogues à celles des os vivants.

FR 2 940 620 - A1



La présente invention a pour objet un os artificiel ayant des propriétés mécaniques du même ordre que celles des os vivants, qui est résorbé et remplacé par un os autogène lorsqu'il est implanté dans le corps, ainsi qu'un  
5 procédé pour sa production.

Des procédés utilisés pour le traitement de défauts osseux provoqués par des lésions ou des maladies sont la transplantation d'un os autogène prélevé chez un patient proprement dit, la transplantation d'un os similaire prélevé  
10 chez un autre sujet, l'implantation d'un os artificiel constitué d'un métal tel que le titane ou de matières céramiques du type hydroxyapatite, ou bien de matières similaires. Les matières céramiques du type hydroxyapatite peuvent se lier directement aux os en raison de la conduction  
15 osseuse que ne possèdent pas les métaux classiques, les polymères et les matières céramiques du type alumine. En conséquence, elles ont trouvé progressivement des applications comme matériaux de réparation osseuse en remplacement des os autogènes dans des domaines étendus tels que la chirurgie  
20 buccale, la chirurgie neurologique, l'otorhinolaryngologie, la chirurgie orthopédique, etc. Cependant, les os artificiels constitués de matière céramique illustrés par l'hydroxyapatite sont de manière désavantageuse difficiles à manipuler au cours de l'opération car ils sont durs et fragiles. Pour  
25 résoudre ce problème, un composite d'apatite/collagène élastique, spongieux a été élaboré. Bien que ce matériau soit aisément manipulé, il ne peut être utilisé seul dans une partie du corps soumise à un stress en raison de sa faible résistance mécanique.

30 La synthèse des conférences du Congrès annuel 2008 de The ceramic Society of Japan, page 324, colonne inférieure, fait connaître un corps cylindrique poreux perméable qui est formé en roulant un nano-composite d'hydroxyapatite/collagène en forme de feuille ondulée. Cette référence révèle que ce  
35 corps poreux perméable a une excellente capacité de pénétration des tissus et une excellente conduction osseuse, car il

comporte une partie centrale creuse similaire à une cavité médullaire relativement volumineuse, et des pores pénétrants formés sur une surface périphérique pour permettre aux cellules et aux tissus de pénétrer. Cependant, comme ce corps poreux apte à la pénétration est formé par un composite en forme de feuille ondulée et comporte une partie creuse similaire à une cavité médullaire relativement volumineuse, il présente de manière désavantageuse une faible résistance mécanique malgré une excellente capacité de pénétration des tissus et une excellente conduction osseuse.

En conséquence, un objectif de la présente invention consiste à proposer un os artificiel ayant des propriétés mécaniques du même ordre que celles des os vivants ainsi qu'une excellente capacité de pénétration des tissus et une excellente conduction osseuse, qui est résorbé (biodégradé) et remplacé par un os autogène lorsqu'il est implanté dans le corps.

Un autre objectif de la présente invention consiste à proposer un procédé pour la production d'un tel os artificiel.

En résultat de recherches approfondies ayant pour but d'atteindre les objectifs précités, les inventeurs ont trouvé qu'un corps cylindrique comprenant une couche d'un composite d'apatite/collagène et une couche de collagène a une résistance mécanique suffisante ainsi qu'une excellente capacité de pénétration des tissus et une excellente conduction osseuse. La présente invention a été menée à bonne fin sur la base de cette découverte.

L'os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène conformément à la présente invention comprend un corps cylindrique comprenant au moins une couche d'un composite d'apatite/collagène et une couche de collagène.

Suivant une forme préférée de réalisation de la présente invention, le corps cylindrique est obtenu par chevauchement et roulement d'au moins une feuille d'un composite d'apatite/collagène et d'une feuille de collagène.

Suivant une autre forme préférée de réalisation de la présente invention, le corps cylindrique est obtenu par roulement d'une feuille comprenant au moins une couche d'un composite d'apatite/collagène et une couche de collagène.

5 Une partie centrale creuse du corps cylindrique pénétrant d'une surface terminale à l'autre surface terminale a de préférence un diamètre de 100 à 1000  $\mu\text{m}$ . La couche de composite d'apatite/collagène et la couche de collagène ont de préférence des pores ayant des diamètres de 100 à 1000  $\mu\text{m}$   
10 en une densité égale ou supérieure à 1 pour 1  $\text{cm}^2$ . Une couche extérieure du corps cylindrique est de préférence une couche de collagène.

Dans l'os artificiel de la présente invention pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène, des pluralités  
15 des corps cylindriques sont de préférence rassemblées en un faisceau.

Le premier procédé de la présente invention pour la production d'un os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène, qui comprend un corps cylindrique comprenant  
20 au moins une couche d'un composite d'apatite/collagène et une couche de collagène, comprend les étapes de formation d'une feuille d'un composite d'apatite/collagène et d'une feuille de collagène, et le chevauchement et le roulement de la feuille de composite d'apatite/collagène et de la  
25 feuille de collagène sous forme du corps cylindrique.

Le second procédé de la présente invention pour la production d'un os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène, qui comprend un corps cylindrique comprenant au moins une couche d'un composite d'apatite/collagène  
30 et une couche de collagène, comprend les étapes de formation d'une feuille comprenant au moins une couche d'un composite d'apatite/collagène et une couche de collagène, et le roulement de la feuille sous forme du corps cylindrique.

Dans le premier procédé, la feuille de composite  
35 d'apatite/collagène est de préférence formée par compression d'un bloc de composite d'apatite/collagène, et la feuille

de collagène est de préférence formée par compression d'un bloc de collagène.

Dans le second procédé, la feuille comprenant une couche d'un composite d'apatite/collagène ou une couche de collagène est de préférence formée par compression d'un bloc comprenant une couche d'un composite d'apatite/collagène et une couche de collagène.

N'importe lequel des premier et second procédés comprend en outre de préférence l'étape de formation de pores ayant des diamètres de 100 à 1000  $\mu\text{m}$  dans la feuille. Il comprend en outre de préférence l'étape de réunion en un faisceau de pluralités des corps cylindriques. Il comprend en outre de préférence l'étape de réticulation du corps cylindrique. Il comprend en outre de préférence l'étape de réticulation de pluralités des corps cylindriques après leur réunion en un faisceau.

D'autres caractéristiques et avantages ressortiront de la description détaillée qui va suivre, faite en regard du dessin annexé sur lequel :

la figure 1 est une vue schématique représentant un exemple de modes opératoires pour la production de l'os artificiel de la présente invention.

La figure 1 représente un procédé pour la production de l'os artificiel de la présente invention. Une feuille comprenant une couche d'un composite d'apatite/collagène 2a et une couche de collagène 2b peut être obtenue, par exemple, par chevauchement d'un gel d'un composite d'apatite/collagène décrit dans le document US 2005/0271695 A1 (correspondant au document WO 2004/041320 A1) et d'un gel de collagène et leur lyophilisation pour former un corps poreux en deux couches comprenant de manière intégrale une couche de composite d'apatite/collagène 1a et une couche de collagène 1b [figure 1(a)], et compression du corps poreux en deux couches au moyen d'une presse monoaxiale ou d'un dispositif similaire, avant réticulation [figures 1(b) à 1(d)]. Le composite d'apatite/collagène est de préférence riche en

apatite pour la formation d'un os, et le rapport pondéral de l'apatite au collagène dans le composite d'apatite/collagène est de préférence de 6/4 à 9/1. La feuille 2 est de préférence munie de pores 3 de 100 à 1000  $\mu\text{m}$  de diamètre en  
5 une densité égale ou supérieure à 1 pour 1  $\text{cm}^2$  par perforation ou un procédé similaire, à l'avance [figure 1(e)].

La feuille 2 est roulée en une forme cylindrique [figure 1(f)], de préférence en un corps cylindrique 5 ayant une partie centrale creuse 4 de 100 à 1000  $\mu\text{m}$  de diamètre  
10 [figure 1(g)]. Dans ce cas, la feuille 2 est roulée de préférence de telle sorte que la couche de collagène 2b soit disposée à l'extérieur. La couche de collagène 2b étant disposée à l'extérieur, les corps cylindriques réunis en faisceau 5 sont efficacement réticulés pour procurer un  
15 os artificiel avec une meilleure résistance. Bien que le corps cylindrique puisse être utilisé seul comme os artificiel, des pluralités des corps cylindriques sont de préférence réunies en un faisceau pour former un os artificiel 6 [figure 1(h)]. La réticulation est de préférence effectuée  
20 après le roulement de la feuille 2 en un corps cylindrique 5 ou après réunion en un faisceau de pluralités de corps cylindriques 5. Pour augmenter la densité, le corps cylindrique 5 peut être comprimé avant réticulation, si nécessaire. L'os artificiel 6 peut être obtenu en roulant  
25 de manière intégrale une feuille 2 autour de pluralités de corps cylindriques réunis en un faisceau 6. La feuille 2 roulée autour de pluralités de corps cylindriques réunis en un faisceau 6 présente de préférence des pores 3. Cette feuille 2 est de préférence roulée de telle sorte que la  
30 couche de composite d'apatite/collagène 2a soit disposée à l'extérieur.

Bien que la figure 1 représente un exemple de la feuille 2 comprenant de manière intégrale une couche de composite d'apatite/collagène et une couche de collagène, une  
35 feuille de composite d'apatite/collagène et une feuille de collagène peuvent être formées séparément, et appliquées

avec chevauchement et roulées en une forme cylindrique. La feuille de composite d'apatite/collagène et la feuille de collagène sont obtenues par compression des corps poreux lyophilisés correspondants en utilisant une presse monoaxiale ou un dispositif similaire, avant réticulation, comme dans l'exemple représenté sur la figure 1.

[1] Production d'un composite d'apatite/collagène poreux

Le composite d'apatite/collagène poreux est constitué par des pluralités de couches de fibres de composite d'apatite/collagène. Les couches de fibres ont des formes planes d'une épaisseur d'environ 10 à 500  $\mu\text{m}$  et se chevauchent dans des directions aléatoires en des nombres aléatoires. Des piliers constitués des fibres de composite d'apatite/collagène sont disposés à l'état épars entre les couches de fibres. Comme seuls les piliers disposés de manière épars supportent les couches de fibres dans une direction de chevauchement lors de l'examen au microscope, il est possible de considérer que le composite d'apatite/collagène poreux est relativement fragile dans la direction de chevauchement, tandis qu'il présente une grande résistance mécanique dans une direction de couche. Cependant, comme les couches de fibres se chevauchent dans des directions aléatoires, comme décrit ci-dessus, les directions de chevauchement des couches de fibres présentent une moyenne lors de leur examen macroscopique, avec pour résultat une faible anisotropie de résistance mécanique.

Des pores de forme substantiellement plane sont formés entre les couches de fibres avec les piliers. L'épaisseur des pores de forme substantiellement plane est d'environ 0,5 à 10 fois celle des couches de fibres. Lorsque ce composite d'apatite/collagène poreux est inclus dans le corps, il est considéré que des vaisseaux sanguins, des protéines relativement volumineuses et des entités similaires pénètrent aisément dans les pores substantiellement plans, ce qui accélère la formation de l'os. Incidemment, les pores ne

sont pas limités à une forme plane, mais ils peuvent être également sphériques.

(1) Fibres de composite d'apatite/collagène

(a) Matières de départ

5 Les fibres de composite d'apatite/collagène sont formées à partir de matières de départ comprenant du collagène, de l'acide phosphorique ou des sels et des sels de calcium. Bien que cela ne soit pas particulièrement limitatif, le collagène peut être extrait d'animaux ou d'organismes similaires. Les  
10 types, les parties, les âges et les caractéristiques similaires des animaux destinés à l'extraction ne sont pas particulièrement limitatifs. Des collagènes utilisables de manière générale sont des collagènes obtenus à partir des peaux, des os, des cartilages, des tendons, des organes  
15 internes, etc., des mammifères tels que les vaches, les porcs, les chevaux, les lapins et les rats, et d'oiseaux tels que les poules, etc. Des protéines du type du collagène obtenues à partir des peaux, des os, des cartilages, des nageoires, des écailles, des organes  
20 internes, etc., de poissons tels que la morue, le carrelet, des poissons plats, le saumon, la truite, le thon, le maquereau, le vivaneau rouge, la sardine, le requin, etc. peuvent être également utilisés. Le procédé d'extraction du collagène n'est pas particulièrement limité mais peut être  
25 un procédé usuel. Au lieu du collagène extrait de tissus d'animaux, le collagène produit par des technologies de recombinaison de gènes peut également être utilisé.

L'acide phosphorique ou son sel [appelé simplement "acide phosphorique (sel)"] peut être l'acide phosphorique,  
30 le phosphate disodique, le phosphate monosodique, le phosphate dipotassique, le phosphate monopotassique, ou un composé similaire. Les sels de calcium peuvent être le carbonate de calcium, l'acétate de calcium, l'hydroxyde de calcium, ou des sels similaires. L'acide phosphorique (sel)  
35 et le sel de calcium sont de préférence ajoutés sous forme d'une solution ou suspension aqueuse uniforme.

Le rapport en masse de l'apatite au collagène dans le composite d'apatite/collagène résultant peut être ajusté par le rapport en masse des matières de formation d'apatite [acide phosphorique (sel) et sel de calcium] au collagène utilisé. En conséquence, le rapport en masse des matières de formation d'apatite au collagène est déterminé convenablement en fonction d'une composition ciblée des fibres de composite d'apatite/collagène. Le rapport en masse de l'apatite au collagène dans les fibres de composite d'apatite/collagène est de préférence de 6/4 à 9/1 et est par exemple d'environ 8/2.

(b) Préparation d'une solution

Bien que les concentrations de la solution aqueuse d'acide phosphorique (sel) et de la solution aqueuse de sel de calcium ne soient pas particulièrement limitées du moment que l'acide phosphorique (sel) et le sel de calcium sont présents en un rapport désiré, il est préférable pour des raisons de commodité d'une opération d'addition au goutte-à-goutte décrite ultérieurement, que la concentration de la solution aqueuse d'acide phosphorique (sel) soit d'environ 50 à 250 mM et que la concentration de la solution aqueuse de sel de calcium soit d'environ de 200 à 600 mM. Le collagène est généralement ajouté sous forme d'une solution aqueuse dans l'acide phosphorique à la solution aqueuse d'acide phosphorique (sel) à l'avance. La solution aqueuse de collagène dans l'acide phosphorique contient de préférence du collagène à une concentration de 0,5 à 1 % en poids, et de l'acide phosphorique à une concentration de 10 à 30 mM. Plus avantageusement, la concentration en collagène est de 0,8 à 0,9 % en masse et la concentration en acide phosphorique est de 15 à 25 mM. En particulier, la concentration en collagène est égale à environ 0,85 % en masse et la concentration en acide phosphorique est égale à environ 20 mM.

(c) Procédé de production

De l'eau substantiellement en une quantité identique à la quantité de la solution aqueuse de sel de calcium à

ajouter, avantageusement en une quantité de 0,5 à 2 fois, plus avantageusement en une quantité de 0,8 à 1,2 fois, celle de la solution aqueuse de sel de calcium, est introduite dans un récipient de réaction et est chauffée à l'avance à environ 40°C. Une solution aqueuse d'acide phosphorique (sel) contenant du collagène et une solution aqueuse de sel de calcium y sont ajoutées simultanément au goutte-à-goutte. La longueur des fibres de composite d'apatite/collagène synthétisées peut être ajustée en fonction des conditions d'addition au goutte-à-goutte. La vitesse d'addition au goutte-à-goutte est de préférence d'environ 10 à 50 ml/minute, et la vitesse d'agitation d'une solution réactionnelle est de préférence d'environ 50 à 300 tr/min. Pour maintenir la solution réactionnelle à un pH de 8,9 à 9,1, il est préférable de maintenir la concentration d'ions calcium à 3,75 mM ou moins et la concentration d'ions acide phosphorique à 2,25 mM ou moins dans la solution réactionnelle au cours de l'addition au goutte-à-goutte. Si les concentrations d'ions calcium et/ou d'ions acide phosphorique dépassent les intervalles précités, l'auto-organisation du composite est entravée. Les conditions précitées d'addition au goutte-à-goutte confèrent aux fibres de composite d'apatite/collagène auto-organisées une longueur de 1 mm ou moins convenable pour le corps poreux. L'expression "auto-organisation" utilisée ici signifie que l'hydroxyapatite (phosphate de calcium ayant une structure d'apatite), à savoir l'axe C de l'hydroxyapatite, est orienté le long des fibres de collagène propres aux os vivants.

Après achèvement de l'addition au goutte-à-goutte, une dispersion analogue à une bouillie des fibres de composite d'apatite/collagène est lyophilisée. La lyophilisation est effectuée rapidement avec mise sous vide simultanée à l'état congelé à -10°C ou moins.

(2) Préparation d'une dispersion de fibres de composite d'apatite/collagène

Les fibres de composite d'apatite/collagène sont mélangées à un liquide tel que l'eau, une solution aqueuse d'acide phosphorique ou un liquide similaire et sont agitées pour préparer une dispersion analogue à une pâte (bouillie). La quantité de liquide ajoutée est avantageusement de 80 à 99 % en volume, plus avantageusement de 90 à 97 %, tandis que la quantité de fibres de composite est avantageusement de 1 à 20 % en volume, plus avantageusement de 3 à 10 % en volume. De la vapeur d'eau est de préférence fixée aux fibres de composite d'apatite/collagène à l'avance. Dans ce cas, la quantité de liquide ajoutée doit être déterminée en soustrayant la quantité de vapeur d'eau fixée aux fibres de composite d'apatite/collagène.

Le corps poreux résultant a une porosité P (%) qui dépend du rapport en volume des fibres de composite d'apatite/collagène au liquide dans la dispersion, comme représenté par la formule (I) suivante :

$$P = Y/(X + Y) \times 100 \dots (1)$$

dans laquelle X représente le volume des fibres de composite d'apatite/collagène dans la dispersion et Y représente le volume du liquide dans la dispersion. En conséquence, il est possible d'ajuster la porosité P du corps poreux en ajustant la quantité de liquide ajoutée. Les fibres de composite d'apatite/collagène sont coupées par agitation de la dispersion après addition du liquide, avec pour résultat un plus large intervalle de distribution de longueur des fibres, ce qui confère au corps poreux résultant une résistance mécanique améliorée.

Après addition du collagène jouant le rôle de liant à la dispersion du composite, une agitation supplémentaire est effectuée. La quantité de collagène ajoutée est avantageusement de 1 à 10 % en masse, plus avantageusement de 3 à 6 % en masse, sur la base de 100 % en masse des fibres de composite d'apatite/collagène. Comme dans la

production des fibres de composition d'apatite/collagène, le collagène est ajouté de préférence sous forme d'une solution aqueuse dans l'acide phosphorique. Bien que cela ne soit pas particulièrement limitatif, la concentration de collagène dans la solution aqueuse d'acide phosphorique est dans la pratique de 0,8 à 0,9 % en masse (par exemple égale à 0,85 % en masse), et la concentration d'acide phosphorique est de 15 à 25 mM (par exemple égale à 20 mM).

### (3) Gélification de la dispersion

Une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium est ajoutée à une dispersion rendue acide par addition d'une solution aqueuse de collagène dans l'acide phosphorique (sel) pour ajuster son pH à environ 7. Le pH de la dispersion est avantagement de 6,8 à 7,6, plus avantagement de 7,0 à 7,4. Avec la dispersion ajustée à un pH de 6,8 à 7,6, la transformation en fibres du collagène ajouté comme liant peut être accélérée.

Une solution tampon à l'acide phosphorique (PBS) à une concentration d'environ 2,5 à 10 fois est ajoutée à la dispersion et le mélange est agité pour ajuster sa force ionique à une valeur de 0,2 à 0,8. Avec la dispersion ayant une force ionique accrue, la transformation en fibres du collagène ajouté comme liant peut être accélérée.

La dispersion introduite dans une matrice de moulage est maintenue à une température de 35 à 40°C pour sa gélification. La température de chauffage est plus avantagement de 35 à 40°C. Pour une gélification suffisante de la dispersion, le temps de chauffage va avantagement de 0,5 à 3,5 heures, plus avantagement de 1 à 3 heures. Avec la dispersion maintenue à une température de 35 à 43°C, le collagène ajouté comme liant forme des fibres, ce qui transforme la dispersion en un gel. La dispersion gélifiée peut empêcher les fibres de composite d'apatite/collagène de précipiter dans cette dispersion, en produisant ainsi un corps poreux uniforme.

#### (4) Lyophilisation du gel

Un gel contenant les fibres de composite d'apatite/collagène est congelé. Le diamètre moyen des pores du corps d'apatite/collagène poreux dépend du temps de congélation du gel. La température de congélation est avantageusement de  $-100^{\circ}\text{C}$  à  $0^{\circ}\text{C}$ , plus avantageusement de  $-100^{\circ}\text{C}$  à  $-10^{\circ}\text{C}$ , en particulier de  $-80^{\circ}\text{C}$  à  $-20^{\circ}\text{C}$ . Une température de congélation inférieure à  $-100^{\circ}\text{C}$  confère aux pores d'apatite/collagène poreux résultants un trop petit diamètre moyen des pores. Une température supérieure à  $0^{\circ}\text{C}$  ne permet pas la congélation du gel, ou confère au corps poreux un trop grand diamètre moyen des pores.

Le gel congelé est lyophilisé en un corps poreux. A savoir, comme dans les fibres de composite d'apatite/collagène, le gel à l'état congelé à une température de  $-10^{\circ}\text{C}$  ou moins est séché rapidement par mise sous vide. Le temps de lyophilisation n'est pas particulièrement limité du moment que la dispersion est séchée suffisamment, mais il va généralement d'environ 24 à 72 heures.

Le corps en collagène poreux peut également être produit par lyophilisation d'un gel de collagène, comme dans le cas du gel contenant des fibres de composite d'apatite/collagène. Par lyophilisation du gel de composite d'apatite/collagène et du gel de collagène se chevauchant mutuellement, un corps poreux comprenant de manière intégrale une couche de composite d'apatite/collagène et une couche de collagène peut être obtenu. Ainsi, l'intégration à l'état de gel permet d'obtenir une feuille comprenant une couche de composite d'apatite/collagène et une couche de collagène adhérent convenablement l'une à l'autre.

#### [2] Production d'une feuille

On comprime sous forme de feuille au moyen d'une presse monoaxiale ou d'un dispositif similaire (a) un bloc d'un composite d'apatite/collagène poreux et un bloc de collagène poreux, ou (b) un bloc poreux comprenant de manière intégrale une couche de composite d'apatite/collagène et

une couche de collagène, tous deux avant réticulation. Le rapport de compression du corps poreux va avantageusement de 1 à 20 %, plus avantageusement de 3 à 15 %, de préférence de 5 à 12 %. L'expression "rapport de compression" utilisée ici signifie  $(T_1/T_0) \times 100 \%$ , où  $T_0$  représente l'épaisseur du corps poreux avant compression, et  $T_1$  représente l'épaisseur du corps poreux après compression. L'épaisseur de la feuille comprimée va avantageusement de 0,1 à 5 mm, plus avantageusement de 0,1 à 3 mm, de préférence de 0,2 à 1 mm. La pression de compression est avantageusement de 1 à 10 000 kg/cm<sup>2</sup>, plus avantageusement de 100 à 1000 kg/cm<sup>2</sup>. Le temps de compression va de préférence de 1 à 30 minutes. Un chauffage à une température de 30°C à 40°C peut être effectué au cours de la compression.

Pour augmenter la capacité de pénétrabilité de tissus dans l'os artificiel, la feuille est de préférence munie à l'avance de pores de 100 à 1000 µm de diamètre. Bien que cela ne soit pas particulièrement limité, les pores peuvent être formés par perforation ou un procédé similaire. La densité des pores est avantageusement égale ou supérieure à 1, plus avantageusement de 4 à 99, de préférence de 9 à 49, pour 1 cm<sup>2</sup> de la feuille. Les pores sont de préférence distribués uniformément dans la feuille totale.

### [3] Production d'un corps cylindrique

Une feuille coupée à des dimensions convenables est roulée en un corps cylindrique. Lorsqu'une feuille de composite d'apatite/collagène et une feuille de collagène sont formées séparément, ces feuilles sont superposées et roulées. En ce qui concerne une feuille comprenant de manière intégrale une couche de composite d'apatite/collagène ou une couche de collagène, cette feuille intégrale est roulée. Avec l'incorporation d'une couche constituée seulement de collagène, la feuille totale présente une flexibilité et une résistance mécanique accrues, ce qui permet de rouler aisément la feuille sous forme d'un corps cylindrique. Bien que cela ne soit pas particulièrement limité, la feuille

est de préférence roulée autour d'une tige centrale constituée de Teflon (marque commerciale déposée), ou d'une matière similaire. Au moyen de la tige centrale, la feuille peut être roulée aisément, et le diamètre d'une partie centrale creuse dans le corps cylindrique résultant peut être ajusté. Une extrémité de la feuille roulée en un corps cylindrique peut être fixée avec une petite quantité d'eau ou d'une solution aqueuse de collagène, mais est de préférence fixée par un moyen physique tel que la liaison à la presse ou un moyen similaire pour éviter l'intrusion de bactéries ou d'éléments similaires.

Une partie centrale creuse pénétrant dans le corps cylindrique a un diamètre avantageusement de 100 à 1000  $\mu\text{m}$ , plus avantageusement de 200 à 700  $\mu\text{m}$ , de préférence de 200 à 500  $\mu\text{m}$ . La longueur du corps cylindrique va avantageusement de 8 à 1000 mm, plus avantageusement de 10 à 500 mm, de préférence de 10 à 100 mm. Le diamètre du corps cylindrique est avantageusement de 0,5 à 5 mm, plus avantageusement de 1 à 3 mm. Il est considéré qu'une partie centrale creuse ayant un diamètre compris dans l'intervalle précité permet d'obtenir des os artificiels ayant une grande résistance mécanique et une excellente capacité de pénétration de tissus et une excellente conduction osseuse. A ce propos, il est considéré que, comme la partie centrale creuse a un diamètre de 10 à 1000  $\mu\text{m}$ , le corps cylindrique est dépourvu de problèmes tels qu'une mauvaise capacité de pénétration de cellules affectant la formation des os, ce qui peut se produire lorsque le diamètre de la partie centrale creuse est inférieur à 100  $\mu\text{m}$ , et une mauvaise formation des os due à l'intrusion de tissus fibreux, ce qui peut se produire lorsque le diamètre de la partie centrale creuse est supérieur à 1000  $\mu\text{m}$ .

#### [4] Production d'un os artificiel

Le corps cylindrique résultant peut être utilisé seul comme os artificiel, mais des pluralités de corps cylindriques peuvent être réunies en un faisceau pour former un os

artificiel. Le nombre de corps cylindriques réunis en un faisceau va avantageusement de 10 à 1250, plus avantageusement de 12 à 25, bien qu'il soit variable en fonction du diamètre d'un composite d'apatite/collagène cylindrique et d'un site  
5 où l'os artificiel est utilisé. Bien qu'un os artificiel obtenu en réunissant en un faisceau des pluralités de corps cylindriques puisse avoir n'importe quelle forme, il a de préférence une forme circulaire ou rectangulaire. Pour obtenir un os artificiel ayant une dimension désirée (un  
10 diamètre désiré), le nombre de spires de la feuille roulée ou le nombre de corps cylindriques réunis en un faisceau peut être ajusté. Dans ce dernier cas, l'os artificiel comprenant des pluralités de corps cylindriques réunis en un faisceau possède des pluralités de parties centrales  
15 creuses, ce qui fait que l'écoulement d'un liquide corporel augmente lors de l'inclusion dans le corps, avec pour résultat une formation accélérée de l'os. En outre, des pluralités de corps cylindriques réunis en un faisceau augmentent considérablement la résistance du corps  
20 cylindrique à une charge axiale.

Lorsqu'un os artificiel est formé par un seul corps cylindrique, un composite d'apatite/collagène cylindrique est réticulé pour former un corps cylindrique intégral dans lequel le collagène est réticulé avec lui-même. Lorsqu'un  
25 os artificiel est formé par des pluralités de corps cylindriques réunis en un faisceau, des corps cylindriques réunis temporairement en un faisceau sont réticulés pour produire des pluralités de corps cylindriques fixés de manière intégrale les uns aux autres. Le collagène peut  
30 être réticulé par des procédés de réticulation physique en utilisant des rayons  $\gamma$ , des rayons ultraviolets, des faisceaux d'électrons, la déshydratation thermique, et des moyens similaires, ou des procédés de réticulation chimique utilisant des agents de réticulation, des agents de  
35 condensation ou des agents similaires.

Le procédé de réticulation chimique est mis en œuvre en immergeant le composite d'apatite/collagène dans une solution d'un agent de réticulation. Les agents de réticulation peuvent être des aldéhydes, tels que le glutaraldéhyde, le formaldéhyde, et des composés similaires ;  
5 des isocyanates, tels que l'hexaméthylène-diisocyanate et des composés similaires ; des carbodiimides, tels qu'un sel d'acide chlorhydrique de 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)-carbodiimide ; des composés époxy tels que l'éther diéthylique  
10 d'éthylèneglycol et des composés similaires ; la transglutaminase et des composés similaires. Parmi ces agents de réticulation, le glutaraldéhyde est particulièrement préférable du point de vue de la facilité d'ajustement du degré de réticulation et la compatibilité du composite d'apatite/collagène réticulé  
15 avec un corps vivant.

Lorsque du glutaraldéhyde est utilisé comme agent de réticulation, la concentration d'une solution de glutaraldéhyde est avantageusement de 0,005 à 0,015 % en masse, plus avantageusement de 0,005 à 0,01 % en masse. Lorsqu'un  
20 alcool tel que l'éthanol ou un alcool similaire est utilisé comme solvant pour une solution de glutaraldéhyde, la déshydratation peut être effectuée simultanément avec la réticulation du collagène. Pour éliminer le glutaraldéhyde n'ayant pas réagi, le composite d'apatite/collagène réticulé  
25 est immergé dans une solution aqueuse de glycine à une concentration d'environ 2 % en masse et est ensuite lavé à l'eau. En outre, le composite d'apatite/collagène réticulé est immergé dans un alcool tel que l'éthanol pour la déshydratation, et est ensuite séché à température ambiante.

30 La réticulation avec déshydratation thermique est effectuée en maintenant le composite d'apatite/collagène dans une étuve sous vide à une température de 100°C à 160°C et à 0-100hPa pendant 10 à 12 heures.

35 La présente invention est expliquée plus en détail par les exemples ci-dessous, sans envisager de limiter la présente invention à ces exemples.

## Exemple 1

## (A) Synthèse de fibres d'un composite d'apatite/collagène

235 g d'une solution aqueuse de collagène dans l'acide phosphorique (concentration en collagène : 0,85 % en masse, et concentration en acide phosphorique : 20 mM) ont été ajoutés à 168 ml d'une solution aqueuse d'acide phosphorique 120 mM et le mélange a été agité pour préparer une solution aqueuse diluée de collagène dans l'acide phosphorique. En outre, 200 ml d'une suspension d'hydroxyde de calcium 400 mM ont été préparés. 200 ml d'eau pure ont été introduits dans un récipient de réaction et chauffés à 40°C. La solution aqueuse diluée de collagène dans l'acide phosphorique et la suspension d'hydroxyde de calcium ont été introduites simultanément au goutte-à-goutte dans ce récipient de récipient de réaction toutes deux à une vitesse d'environ 30 ml/min et la solution réactionnelle résultante a été agitée à 200 tr/min pour préparer une bouillie contenant des fibres de composite d'apatite/collagène. La solution réactionnelle a été maintenue à un pH de 8,9 à 9,1 au cours de l'addition au goutte-à-goutte. Les fibres de composite d'apatite/collagène résultantes avaient substantiellement une longueur de 1 mm ou moins. La bouillie contenant les fibres de composite d'apatite/collagène a été lyophilisée. Le rapport apatite/collagène dans les fibres de composite d'apatite/collagène est égal à 8/2 en masse.

## (B) Production de fibres de composite d'apatite/collagène poreux

1 g des fibres de composite d'apatite/collagène lyophilisées a été mélangé à 3,6 ml d'eau pure, et le mélange a été agité pour préparer une dispersion analogue à une pâte. Cette dispersion analogue à une pâte a été mélangée à 4 g d'une solution aqueuse de collagène dans l'acide phosphorique et a été agitée, et une solution aqueuse de NaOH 1 N a été ajoutée jusqu'à ce que le pH de la dispersion devienne substantiellement égal à 7. Le rapport des fibres de composite d'apatite/collagène au

collagène était égal à 97/3 en masse. Une solution au PBS à une concentration d'un facteur 10 a été ensuite ajoutée jusqu'à ce que la force ionique de la dispersion soit égale à 0,8. La quantité d'un liquide (eau pure + solution aqueuse diluée de collagène dans l'acide phosphorique + solution aqueuse de NaOH + PBS) était égale à 95 % en volume des fibres de composite d'apatite/collagène.

La dispersion résultante a été placée dans un moule et maintenue à 37°C pendant 2 heures pour provoquer la gélification, ce qui a permis d'obtenir une pièce moulée analogue à une gelée. Cette pièce moulée a été congelée à -20°C, et a été ensuite séchée au moyen d'un lyophilisateur pour obtenir un composite d'apatite/collagène poreux.

(C) Production d'un corps en collagène poreux.

Comme dans le composite d'apatite/collagène poreux, une solution aqueuse à 0,5 % en masse de collagène a été maintenue à 37°C pendant 2 heures pour provoquer la gélification, ce qui a permis d'obtenir un corps en collagène poreux lyophilisé.

(D) Production d'un os artificiel

Un composite d'apatite/collagène poreux de 10 mm x 10 mm x 2 mm a été comprimé en une feuille de composite d'apatite/collagène de 10 mm x 10 mm x 0,15 mm avec une pression de 10 MPa appliquée à sa surface de 10 mm x 10 mm par une presse monoaxiale à température ambiante pendant 60 secondes. De manière similaire, un corps de collagène poreux de 10 mm x 10 mm x 2 mm a été comprimé en une feuille de collagène de 10 mm x 10 mm x 0,15 mm.

La feuille de composite d'apatite collagène et la feuille de collagène ont été superposées et roulées autour d'une tige centrale de 500 µm de diamètre constituée de Teflon (marque commerciale déposée) avec la feuille de collagène à l'extérieur, pour obtenir un corps cylindrique de 10 mm de longueur, et 1,1 mm de diamètre avec une partie centrale creuse de 500 µm de diamètre. Les extrémités des feuilles ont été liées à la presse au corps cylindrique.

16 corps cylindriques ont été produits de la manière précitée, réunis en un faisceau de telle sorte que chacun ait une section transversale substantiellement carrée et réticulés par déshydratation thermique à 140°C pour produire un os artificiel constitué de corps cylindriques réunis en un faisceau.

#### Exemples 2-5

Des os artificiels constitués chacun d'un corps cylindrique d'une feuille de composite d'apatite/collagène et d'une feuille de collagène, ayant une partie centrale creuse d'un diamètre indiqué sur le tableau 1, ont été produits de la même manière que dans l'exemple 1, à l'exception de la modification de l'épaisseur de la tige centrale, autour de laquelle la feuille de composite d'apatite/collagène et la feuille de collagène ont été roulées.

Tableau 1

N°	Diamètre de la partie centrale creuse (µm)
Exemple 1	500
Exemple 2	100
Exemple 3	200
Exemple 4	700
Exemple 5	1000

#### Exemple 6

Un gel de composite d'apatite/collagène produit de la même manière que dans l'exemple 1 a été placé dans un moule et une solution aqueuse à 0,5 % en masse de collagène a été versée sur le gel. L'ensemble a été maintenu à 37°C pendant 2 heures pour provoquer la gélification, ce qui a permis d'obtenir une pièce moulée analogue à une gelée. Cette pièce moulée a été congelée à -20°C et ensuite séchée au moyen d'un lyophilisateur pour obtenir un bloc poreux intégral en deux couches de 10 mm x 10 mm x 4 mm comprenant une feuille de composite d'apatite/collagène de 10 mm d'épaisseur et une feuille de collagène de 10 mm d'épaisseur liées l'une à l'autre.

Ce bloc poreux intégral en deux couches a été comprimé sous une pression de 10 MPa au moyen d'une presse monoaxiale à température ambiante pendant 60 secondes, en une feuille en deux couches de 10 mm x 10 mm x 0,3 mm, comprenant une  
 5 couche de composite d'apatite/collagène de 0,15 mm d'épaisseur et une couche de collagène de 0,15 mm d'épaisseur. Cette feuille en deux couches a été roulée autour d'une tige centrale de 500 µm de diamètre constituée de Teflon (marque commerciale déposée) avec la couche de collagène à l'extérieur,  
 10 pour obtenir un corps cylindrique de 10 mm de longueur et 1,1 mm de diamètre avec une partie centrale creuse de 500 µm de diamètre. Une extrémité de la feuille en deux couches a été liée à la presse au corps cylindrique.

25 corps cylindriques ont été produits de la manière indiquée ci-dessus, réunis en un faisceau de telle sorte que chacun ait une section transversale substantiellement carrée et réticulés par déshydratation thermique à 140°C pour produire un os artificiel constitué des corps cylindriques réunis en un faisceau.

20 Exemples 7-10

Des corps cylindriques formés chacun d'une feuille en deux couches comprenant une couche de composite d'apatite/collagène et une couche de collagène et ayant une partie centrale creuse d'un diamètre indiqué sur le tableau 2 ont  
 25 été produits de la même manière que dans l'exemple 6, à l'exception de la modification de l'épaisseur d'une tige centrale, autour de laquelle la feuille en deux couches a été roulée, et ont été transformés en des os artificiels.

Tableau 2

N°	Diamètre de la partie centrale creuse (µm)
Exemple 6	500
Exemple 7	100
Exemple 8	200
Exemple 9	700
Exemple 10	1000

Comme l'os artificiel de la présente invention pourrait être résorbé et remplacé par un os autogène peut être implanté dans n'importe quelle partie dans le corps, il n'est pas nécessaire d'utiliser un os autogène prélevé  
5 chez un patient proprement dit à l'opposé du procédé classique, ce qui réduit la charge à laquelle est soumis un patient ayant besoin d'une greffe osseuse. En outre, comme il n'est pas nécessaire qu'un os autogène soit prélevé même pour implantation, la charge de travail imposée aux docteurs  
10 lors de l'opération est également réduite. Le procédé de la présente invention permet d'obtenir un os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène, qui a une composition et une structure similaires à celles des os vivants.

15 Il va de soi que la présente invention n'a été décrite qu'à titre explicatif, mais nullement limitatif, et que de nombreuses modifications peuvent y être apportées sans sortir de son cadre.

**REVENDICATIONS**

1. Os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène, caractérisé en ce qu'il comprend un corps cylindrique comprenant au moins une couche d'un composite d'apatite/collagène et une couche de collagène.  
5

2. Os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène suivant la revendication 1, caractérisé en ce que ledit corps cylindrique est obtenu par superposition et roulement d'au moins une feuille d'un composite d'apatite/collagène et d'une feuille de collagène.  
10

3. Os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène suivant la revendication 1, caractérisé en ce que ledit corps cylindrique est obtenu par roulement d'une feuille comprenant au moins une couche d'un composite d'apatite/collagène et une couche de collagène.  
15

4. Os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène suivant l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'une partie centrale creuse dudit corps cylindrique pénétrant d'une surface terminale à l'autre surface terminale a un diamètre de 100 à 1000  $\mu\text{m}$ .  
20

5. Os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène suivant l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que ladite couche d'un composite d'apatite/collagène et ladite couche de collagène ont des pores ayant des diamètres de 100 à 1000  $\mu\text{m}$  et une densité de 1 ou plus pour 1  $\text{cm}^2$ .  
25

6. Os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène suivant l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce qu'une couche extérieure dudit corps cylindrique est une couche de collagène.  
30

7. Os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène suivant l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que des pluralités desdits corps cylindriques sont réunies en un faisceau.  
35

8. Procédé pour la production d'un os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène, qui

comprend un corps cylindrique comprenant au moins une couche d'un composite d'apatite/collagène et une couche de collagène, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes de formation d'une feuille d'un composite d'apatite/collagène et d'une feuille de collagène, et de superposition et de roulement de ladite feuille de composite d'apatite/collagène et ladite feuille de collagène en ledit corps cylindrique.

5  
10  
15  
9. Procédé pour la production d'un os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène, qui comprend un corps cylindrique comprenant au moins une couche d'un composite d'apatite/collagène et une couche de collagène, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes de formation d'une feuille comprenant au moins une couche d'un composite d'apatite/collagène et une couche de collagène, et de roulement de ladite feuille en ledit corps cylindrique.

20  
25  
10. Procédé pour la production d'un os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène suivant la revendication 8, caractérisé en ce que ladite feuille d'un composite d'apatite/collagène est formée par compression d'un bloc d'un composite d'apatite/collagène, et ladite feuille de collagène est formée par compression d'un bloc de collagène.

30  
35  
11. Procédé pour la production d'un os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène suivant la revendication 9, caractérisé en ce que ladite feuille comprenant une couche d'un composite d'apatite/collagène et une couche de collagène est formée par compression d'un bloc comprenant une couche d'un composite d'apatite/collagène et une couche de collagène.

12. Procédé pour la production d'un os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène suivant l'une quelconque des revendications 8 à 11, caractérisé en ce qu'il comprend en outre l'étape de formation de pores ayant des diamètres de 100 à 1000  $\mu\text{m}$  dans ladite feuille.

13. Procédé pour la production d'un os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène suivant

l'une quelconque des revendications 8 à 12, caractérisé en ce qu'il comprend en outre l'étape de réunion en un faisceau de pluralités desdits corps cylindriques.

5 14. Procédé pour la production d'un os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène suivant l'une quelconque des revendications 8 à 12, caractérisé en ce qu'il comprend en outre l'étape de réticulation dudit corps cylindrique.

10 15. Procédé pour la production d'un os artificiel pouvant être résorbé et remplacé par un os autogène suivant la revendication 13, caractérisé en ce que des pluralités desdits corps cylindriques sont réticulées après réunion en un faisceau.

Fig. 1

