

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 372 751**

51 Int. Cl.:
A61L 27/40 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **03766568 .4**
96 Fecha de presentación: **28.07.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1539260**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **15.06.2005**

54 Título: **CEMENTO ÓSEO COMPUESTO.**

30 Prioridad:
29.07.2002 US 399203 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
26.01.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
26.01.2012

73 Titular/es:
POLY-MED, INC.
6309 HIGHWAY 187
ANDERSON, SC 29625, US

72 Inventor/es:
SHALABY, Shalaby, W.

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 372 751 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Cemento óseo compuesto

Antecedentes de la invención

5 Un área principal en la aplicación clínica de los biomateriales que presentan un reto formidable para los médicos, científicos de materiales y bioingenieros es pertinente a su uso para la reparación/reemplazo de tejidos óseos y particularmente huesos craneomaxilofaciales. Con relación a esto existe (1) la incapacidad de la mayoría de los biomateriales para formar una interfaz activa con los tejidos naturales; (2) la disponibilidad limitada de materiales con vida media adecuada para permitir que los tejidos naturales crezcan gradualmente y de forma predecible en los sitios defectuosos, ocupados temporalmente por un andamio absorbible transiente diseñado para soportar el crecimiento del hueso; (3) escasez de biomateriales que puedan aplicarse fácilmente y con precisión en los sitios defectuosos irregulares; (4) falta de insertos o andamios de biomaterial bioactivo para la regeneración de los huesos que se conformen a los sitios defectuosos estructuralmente regulares y se transformen en artículos sólidos que tienen un modulus que se aproxime al de los huesos típicos; y (5) complicaciones asociadas con la liberación ocasional de iones metálicos de transición desde los implantes metálicos lo que puede causar reacciones alérgicas en ciertos pacientes. Aunque se han dirigido grandes esfuerzos hacia la solución de estos problemas en los implantes ortopédicos, se ha dado atención limitada a los implantes craneomaxilofaciales. La promesa de la ingeniería de tejidos y particularmente, del crecimiento de tejidos dirigido alrededor del implante o de lo que pueda denominarse, ingeniería de tejidos *in situ*, ha creado nuevas direcciones practicas en relación con los implantes actuales para la reparación o reemplazo de huesos. Estos últimos son principalmente metálicos y están diseñados para un encaje mecánico con el hueso o su uso en conjunción con cemento óseo.

A pesar de la atención relativamente limitada dada a los implantes craneomaxilofaciales por los médicos con relación a las preocupaciones acerca del uso de materiales metálicos, sean hecho esfuerzos impresionantes por parte de los científicos de biomateriales para explorar el uso de materiales poliméricos absorbibles. Esto es entendible si se reconoce el hecho de que en la mayoría de las aplicaciones craneomaxilofaciales, los requerimientos de soporte de carga para los implantes son en general mucho más bajos que los necesarios para implantes ortopédicos. Y los requerimientos mecánicos menos demandantes para los implantes craneomaxilofaciales coincidieron con el modulus relativamente bajo de polímeros en comparación con los metales. Esto, a su vez, proporciona un incentivo fuerte para explorar el uso de polímeros bioabsorbibles durante las tres últimas décadas. Sin embargo, la disponibilidad limitada de estos polímeros en términos de tipos y formas ha comprometido su aceptación por parte de los médicos. De la familia craneomaxilofacial de implantes, y a su familia maxilofacial, y más específicamente los implantes intraorales, atrajeron la atención de la mayoría de los investigadores. En su estudio de los implantes intraorales, estos investigadores utilizaron polímeros absorbibles para reparar defectos óseos maxilares, mandibulares y faciales. Los polímeros comerciales y experimentales utilizados por estos investigadores eran, en su mayor parte, basados en homopolímeros tales como poli (l-láctido) (PLLA), copolímeros aleatorios de l-láctido/dl-láctido (PDLL), l-láctido/carbonato de trimetileno (PLL/TMC), poliglicólido (PGA), terpolímeros de l-láctido, d-láctido y glicólido (PDLLG), poliglicólido autor reforzado (SR-PGA), y en un menor grado, poli p-dioxanona (PDS), así como mezclas de estos polímeros. Desafortunadamente, en la mayor parte de las aplicaciones exploradas, estos materiales no satisficieron completamente los requerimientos generales para implantes craneomaxilofaciales exitosos, y particularmente los intraorales, a saber: (1) la estabilidad mecánica y química durante el periodo esperado de rendimiento funcional; (2) compatibilidad biomecánica del implante y del hueso circundante, principalmente en término de modulus; (3) capacidad para soportar la osteointegración y, por lo tanto, una cura oportuna y estabilidad mecánica; y (4) facilidad de fabricación y modulación de la forma. Las aplicaciones de los polímeros bioabsorbibles como implantes quirúrgicos maxilofaciales ha sido revisada por Mayer y Hollinger [Chapter 9 in Biomedical Applications of Synthetic Biodegradable Polymer, J. O. Hollinger, Ed., CRC Press, New York, 1995]. La mayor parte de estas y aplicaciones más recientes relacionadas con el uso de (1) suturas de PLA para la fijación interna de la fractura de sínfisis mandibular y atrogénica en monos; (2) barras de PDLLA para la fijación de fracturas mandibulares en monos; (3) placas y tornillos de PLA para la reducción de fracturas mandibulares en monos; (4) tornillos de fijación de PDS para la fijación de una fractura del ángulo mandibular; (5) placas óseas de PLA/PGA reforzadas con textiles de PGA para la reparación de fracturas mandibulares y de cráneo; (6) placas PDS para la reconstrucción del suelo orbital; (7) placas de SR-PLLA para la fijación de osteotomías transversas desfavorables; y (8) placas y tornillos de PLA para la fijación de fracturas del arco zigomático en conejos. En prácticamente todas las aplicaciones craneomaxilofaciales antes mencionadas, el tipo de materiales poliméricos y la forma de los implantes fueron menores que lo ideal debido a la limitación impuesta a los investigadores clínicos y científicos en términos de disponibilidad de los tipos y formas de polímeros específicos para el sitio. Y esta fue la fuerza impulsora para llevar a cabo la presente invención.

De acuerdo con lo anterior, esta invención se relaciona con una mezcla de micropartículas absorbibles alojada en una construcción textil para formar un artículo conformable sellado que se transforma en una masa biocompatible rígida que soporta la regeneración ósea como parte de la ingeniería de tejidos *in situ* (o dirigida localmente). Aunque ha habido un gran número de citaciones en la técnica anterior relacionada con la regeneración de huesos, ninguna

se ha relacionado con la novedosa metodología para la regeneración ósea descrita en esta invención. Ejemplos típicos de la técnica anterior se delinearán más abajo.

5 En un intento para el desarrollo de un nuevo andamio para la ingeniería de tejidos óseos, Zhang y Zhang [Journal of Biomedical Material Research, 61, 1, (2002)], prepararon un andamio compuesto tridimensional de matrices macroporosas de HAP/ β -TCP biocerámicas que alojaban quitosano. En comparación con las biocerámicas porosas puras, las esponjas con quitosano alejado potenciaban la resistencia mecánica a través del refuerzo de la matriz biocerámica. Las esponjas que alojaban quitosano también hacían que los andamios compuestos tuvieran una alta relación de área superficial/volumen que lleva a un incremento en el número de células adheridas a los andamios compuestos. Los resultados de los experimentos con fluidos corporales simulados mostraron que había crecido una alta densidad de apatitas en forma de aguja orientadas aleatoriamente sobre la superficie del andamio, sugiriendo que el material tiene buena bioactividad. Los experimentos de cultivos celulares mostraron que las células de osteoblastos MG63 estaban unidas y proliferaban sobre la superficie del andamio compuesto y migraban sobre las paredes del poro. Las células también tenían casi la misma actividad de fosfatasa alcalina sobre los andamios compuestos que en las placas de cultivo de tejidos durante los primeros 11 días de cultivo.

15 Hacia el desarrollo de un nuevo material sustituto de los hueso, Yokoyama y colaboradores [Biomaterials, 23, 1091, (2002) prepararon un cemento de fosfato de calcio que consistía de quitosano, glucosa y una solución de ácido cítrico como componente líquido, y fosfato tricálcico (α -TCP) y fosfato de tetracalcio (TeCP) como componentes en polvo. Este cemento podría ser moldeado a la forma deseada debido a su consistencia similar a goma de mascar después de mezclarlos, y demostró una buena biocompatibilidad tanto con tejidos suaves como duros. En este estudio, los componentes líquidos de 20% y 45% de ácido cítrico se utilizaron para investigar la influencia del ácido, y los resultados indicaron que la concentración de ácido cítrico en el componente líquido influye tanto sobre las propiedades mecánicas como sobre la biocompatibilidad del cemento.

La EP 0 477 979 A2 divulga un agente de relleno biológico que comprende un compuesto que está hecho de quitina o un derivado de la misma y un material de refuerzo. El quitosano se utiliza como producto similar al algodón.

25 Jue-Yeon Lee et al., describe en "Enhanced bone formation by controlled growth factor delivery from chitosan based biomaterials", Journal of Controlled Release, vol 78, no. 1-3, 17 January 2002, p. 187-197, el desarrollo de quitosano, como una herramienta para obtener una alta eficacia formadora de hueso. Las matrices compuestas de quitosano-poli(láctido) y recubiertas con quitosano sobre tales matrices son tratadas allí.

30 La WO 01/41821 A1 divulga una composición autoposicionable inyectable que comprende un componente líquido con base en agua que comprende al menos un polímero catiónico y una o más sales de monofosfato y un componente en polvo que comprende al menos dos fuentes de fosfato de calcio, cuya composición forma una pasta termoposicionable inyectable para ser calentada para su solidificación.

35 Una comunicación hecha por Zhao y colaboradores [Biomaterials, 23, 3227, (2002)] describe la preparación y evaluación histológica de una red biomimética, tridimensional de hidroxiapatita/quitosano-gelatina (HAP/CS-Gel) como un andamio compuesto para la ingeniería de tejidos óseos. En su estudio, los autores demostraron la factibilidad de utilizar la técnica de separación de fases para preparar tal andamio. Mostraron adicionalmente la adhesión, proliferación y expresión de osteoblastos de calvaria de rata sobre estos andamios altamente porosos. Los andamios compuestos de HAP/CS-Gel fueron caracterizados por su composición biomimética, y están en curso estudios adicionales sobre las densidades celulares, porosidades de los andamios así como la implantación *in vivo*.

40 Hallazgos consistentes sobre el papel del zinc en el crecimiento óseo impulsaron estudios recientes sobre el desarrollo y efectividad de las cerámicas de fosfato de calcio liberadoras de zinc para promover la formación ósea con fosfato de β -calcio que contenía zinc (ZnTCP) en cerámicas como vehículo de zinc [Kawamura, H et al., Journal of Biomedical Material Research, 50, 184 (2000)]. Un compuesto de cerámica representativo estaba hecho de ZnTCP e hidroxiapatita (HAP) con una relación molar Ca/P de 1.60 en ZnTCP/HAP de 1.60. Así, se encontró que este compuesto promueve significativamente la proliferación celular osteoblástica MC3T3-E1 en ratones *in vitro* con un contenido de zinc de 1.2 % en peso. Y una formación ósea de aproximadamente 1.60 ZnTCP/HAP en un implante en un fémur de conejo se incrementó en un 51% con un contenido de zinc de 0.316 % en peso en comparación con una composición de la misma relación molar Ca/P sin zinc. La formación ósea alrededor de los implantes monofásicos de ZnTCP en fémures de conejos pareció ser una función del contenido de zinc teniendo una formación máxima de hueso a 0.316 % en peso. De forma interesante, no hubo una diferencia estadísticamente significativa en la formación de hueso máxima debida a ZnTCP y fosfato de β -tricalcio con el mismo porcentaje en peso.

55 Las proteínas morfogénicas de hueso (BMP) han demostrado estimular la producción de hueso *in vivo* cuando se combinan con un material portador apropiado, tal como un colágeno, fosfato de calcio, o polímeros de 2-hidroxiácidos [Ursit, M.R. in Encyclopedia Handbook of Biomaterials & Bioengineering-Materials and Applications, Vol. I, Marcel Dekker, New York, 1995, pp. 1093-1122]. El reconocimiento de la necesidad potencial de una matriz absorbible en forma de pasta, que pueda ser moldeada en la forma del nuevo hueso deseado y endurecida *in situ*

por contacto con los fluidos acuosos llevo a Andriano y colaboradores [J. Biomedical Material Research Applied Biomaterials, 53, 36 (2000)] a desarrollar un sistema de polímero líquido que consistía de copolímeros de lactido-glicólido disueltos en un solvente "biocompatible" el cual se solidifica *in situ* por contacto con un fluido acuoso. El propósito de este estudio era consistente con un estudio anterior de Chandrashekar y colaboradores [Proceedings of Portland Bone Symposium, Portland, OR, August 1997, pp. 583-587] quien incorporo BMP en el mismo tipo de sistema de vehículo polimérico y lo utilizó para promover el crecimiento interno de hueso en sitios ectópicos y atópicos, tales como en capas subcutáneas y del cráneo, respectivamente. En su estudio *in vivo* del BMP con potencial osteogénico liberado desde la matriz en forma de pasta, Andriano y colaboradores incorporaron primero las proteínas en una matriz polimérica consistente de 50/50 de poli (DL-láctido-co-glicólido) disuelto en N-metil-2-pirrolidona. La matriz fue implantada en un defecto en el cráneo de tamaño crítico de 8 mm creado sobre el cráneo de ratas Sprague-Dawley adultas (n = 5 por grupo de tratamiento). Después de 28 días, los sitios del implante fueron retirados y examinados en cuanto a la formación de hueso nuevo, degradación del polímero y reacción de los tejidos. Las matrices poliméricas irradiadas con rayos gamma parecieron dar más formación de huesos que las muestras no irradiadas (análisis histológico: $2.76 \pm 1.34 \text{ mm}^2$ de hueso contra $1.30 \pm 0.90 \text{ mm}^2$ de hueso, respectivamente, y en el análisis de rayos X: $27.2 \pm 15.9 \text{ mm}^2$ de hueso contra $20.7 \pm 16.7 \text{ mm}^2$ de hueso, respectivamente) y menos polímero residual (0.0 ± 0.0 contra 0.2 ± 0.4 , respectivamente). Los implantes poliméricos con proteínas morfogénicas de hueso también dieron menos respuesta inflamatoria que los controles del polímero (polímero irradiado con rayos gamma/BMP = 1.8 ± 0.4 y polímeros no irradiados/BMP = 1.2 ± 0.4 contra el polímero solamente = 3.0 ± 1.2 , respectivamente).

20 Realizaciones preferidas

Esta invención se relaciona, en general, con una preforma de composición absorbible, altamente conformable que comprende una mezcla de polielectrolitos en micropartículas sólidas orgánicas e inorgánicas cargadas incorporados en una construcción textil flexible, donde tal combinación produce un artículo altamente conformable que puede encajar, con precisión, en un defecto óseo irregular y solidifica o cura en una masa rígida citocompatible, la cual puede soportar la regeneración ósea y se absorbe gradualmente y es reemplazada por tejido óseo a lo largo del camino de una ingeniería de tejidos *in situ* o dirigida localmente. Más específicamente, la construcción, sujeto de esta invención, puede utilizarse como una preforma para la ingeniería de tejidos *in situ* de huesos craneomaxilofaciales. En otro aspecto de esta invención, la preforma de compuesto absorbible se utiliza para la ingeniería de tejidos *in situ* de huesos largos y en la reparación de discos intervertebrales herniados.

30 Un aspecto específico de esta invención se relaciona con preformas absorbibles que comprenden (1) micropartículas de un vidrio o cerámica de fosfato polimérico de absorción (o disolución) rápida con base en dihidrógeno fosfato de amonio dibásico, dióxido de calcio y carbonato de sodio, presentes como un polielectrolito aniónico; y (2) quitosano en micropartículas (80 - 90 % de quitina desacetilada) como polielectrolito catiónico. Los polielectrolitos en micropartículas son incorporados en un textil tejido, sellado con calor. El textil tejido puede ser recubierto con un recubrimiento delgado absorbible para reducir su porosidad. El textil tejido también puede hacerse reaccionar bajo condiciones de radicales libres con anhídrido maléico, seguida por hidrólisis, para introducir la funcionalidad carboxílica a la superficie del textil. La superficie carboxilada puede ser utilizada para inmovilizar iónicamente promotores del crecimiento de tejidos tales como BMP o un factor de crecimiento derivado de fibroblastos básico recombinante (FGF-1) para promover eventualmente la regeneración ósea alrededor de la preforma después de sus solidificación dentro del sitio de implantación. Un método alternativo para proveer grupos carboxílicos sobre la superficie es utilizar un poliéster que porta carboxilos para recubrir el textil tejido y permitir que el FGF-2 se enlace iónicamente al recubrimiento aniónico.

45 En otro aspecto de esta invención, la envoltura textil está construida a partir de hilos hechos a partir de un copolímero de láctido alto segmentado. Otro aspecto de esta invención tiene que ver con la mezcla de micropartículas de la preforma que son vidrio de zinc-fosfato moderadamente absorbible y quitosano. Otro aspecto de esta invención tiene que ver con la mezcla de micropartículas de la preforma hechas a partir de un vidrio de silico-fosfato de absorción lenta y quitosano. Otras composiciones de la mezcla de micropartículas de la envoltura se representan en la Tabla I. En la Tabla II se ilustran varios ejemplos de los componentes típicos de la preforma.

50 Otro aspecto de la invención tiene que ver con el uso de la preforma compuesta como un recubrimiento craneal. Otro aspecto de la invención tiene que ver con el uso de la preforma compuesta para reemplazar hueso perdido accidental o patológicamente en una cavidad orbital. Otro aspecto de esta invención se relaciona con el uso de la preforma compuesta para reemplazar huesos faciales perdidos accidental o patológicamente. Otro aspecto de esta invención se relaciona con preformas compuestas para corregir huesos del esqueleto como parte de una cirugía plástica o de tejidos óseos desfigurados.

55 Se proporcionan ilustraciones adicionales de esta invención en los ejemplos siguientes.

Ejemplo 1: Preparación de poliglicólidos de absorción rápida, terminados en ácido de bajo peso molecular

Se preparan utilizando glicólido con ácido glicólico o málico como iniciador para formar PG-A1 y PG-A2 respectivamente. Se utiliza octoato estannoso como catalizador de la polimerización con anillo abierto utilizando esquemas similares a los descritos por Shalaby [Shalaby, S.W., Patente de los Estados Unidos 5.607.686 (1997)]. Los polímeros se caracterizan por la composición e identidad (IR, NMR), propiedades térmicas (DSC), contenido de carboxilo (acidimetría), y peso molecular (GPC).

Ejemplo 2: Preparación de poli (l-láctido-co-glicólido) terminado en ácido de bajo peso molecular

Una mezcla de l-láctido y glicólido se prepara como se describió en el ejemplo 1 utilizando ácido glicólico como iniciador para la formación de un copolímero (PLG-A) que tiene menos de 95% de secuencias basadas en láctido.

Ejemplo 3: Preparación de poliglicólido (PG-N) nitrogenoso de rápida absorción y bajo peso molecular

El glicólido se ha polimerizado como en el ejemplo 1 con la excepción del uso de trietanolamina en vez de ácido cítrico como iniciador. El contenido de amina del polímero se determina por acidimetría y análisis elemental.

Ejemplo 4: Preparación de copolímero l-láctido/glicólido (PLG-N) nitrogenoso 90/10 con bajo peso molecular de absorción lenta

El polímero se prepara y caracteriza como se describió en el ejemplo 2 con la excepción de utilizar trietanolamina en vez de ácido glicólico al 30% de la estequiometría anotada. El contenido de aminas se determina como se anotó en el ejemplo 3.

Ejemplo 5: Preparación de copolímeros de l-láctido/glicólido de alto peso molecular formadores de fibra prácticamente aleatorios (PLG-1 y PLG-2)

La preparación de los copolímeros 95/5 y 5/95 de l-láctido/glicólido, a saber PLG-1 y PLG-2, respectivamente, se logra mediante la polimerización con apertura de anillos utilizando la cantidad requerida de monómeros cíclicos en presencia de 1-decanol como iniciador y octoato estannoso como catalizador tal como se describió anteriormente [Benicewicz, B.C. et al., Chapter 14 in agriculture and synthetic polymers (J.E. Glass and G. Swift, Eds.), American Chemical Society, Washington, DC, 1990; Shalaby, S.W. and Johnson, R.A. In Biomedical Polymers: Designed to degrade Systems (S.W. Shalaby, Ed.), Hanser Publishing Company, New York, 1994]. Los polímeros son caracterizados por su identidad (IR, NMR), peso molecular (en términos de viscosidad inherente, I.V.), y las propiedades térmicas (DSC).

Ejemplo 6: Preparación del copolímero de 88/12 / l-láctido / trimetileno carbonato (SLC-1)

El polímero se prepara utilizando un prepolímero de carbonato de trimetileno (TMC) que tiene su extremo injertado con l-láctido y TMC como se describió por parte de Shalaby [Shalaby, S.W., Patente de los Estados Unidos 6,395,259 (2002)]. El copolímero se caracteriza por su identidad (NMR, IR), peso molecular (IV y GPC) y propiedades térmicas (DSC).

Ejemplo 7: Preparación de copolímero de 75/10/20 l-láctido/glicólido/TMC (SLC-2) segmentado

Este se prepara y caracteriza como se describió para SLC-1 con excepción del uso de una mezcla de glicólido (G) y TMC para la preparación del prepolímero y una mezcla de l-láctido/glicólido para el injerto en el extremo final.

Ejemplo 8: Preparación de terpolímeros L/CL/TMC (SLC-3) que cumplen la formación de película

Esto se prepara y se caracteriza como se describió para SLC-2 con excepción del uso del prepolímero poliaxial y menos de 70% de l-láctido (Shalaby, S.W. et al., Patente de los Estados Unidos Application (polyaxial prepolymers and crystalline copolyesters therefrom), presentada en 2000].

Ejemplo 9: Preparación de recubrimiento copolimérico de 95/5 caprolactona/glicólido básica de bajo peso molecular (PCLG-1)

Este se prepara utilizando una mezcla 95/5 de ϵ -caprolactona y glicólido en presencia de trietanolamina como iniciador y octoato estannoso como catalizador bajo condiciones similares a las utilizadas anteriormente por Shalaby [Shalaby, S.W., Patente de los Estados Unidos 5,522,842 (1996)]. La cantidad de iniciador se ajusta para limitar el peso molecular del polímero (M_n) hasta aproximadamente 5 kDa. El polímero será caracterizado por identidad (NMR, IR) y peso molecular (GPC).

Ejemplo 10: Preparación de un recubrimiento de caprolactona/glicólido 95/5 copolimérico que porta carboxi de bajo peso molecular (PCLG-2)

5 Este se prepara y caracteriza como se anota para su contraparte básica en el ejemplo 8, con la excepción del uso de ácido málico como iniciador en una cantidad tal que produzca un copolímero que tenga un M_n de aproximadamente 5 kDa.

Ejemplo 11: Acilación de quitosano con anhídrido propiónico

10 Se acilan micropartículas de alta pureza de quitosano comercial (CS), con unidades repetitivas de quitina desacetiladas 80 - 90 con anhídrido propiónico para formar CS-P para reducir las secuencias libres portadoras de amina hasta aproximadamente 60 % y crear una superficie hidrófoba rica en parafina. La acilación y la caracterización del producto se lleva a cabo utilizando esquemas similares a los utilizados anteriormente (Shalaby, S.W. et al., Patente de los Estados Unidos 5,665,702 (1997); Shalaby, S.W. et al., Patente de los Estados Unidos 5,821,221 (1998)).

Ejemplo 12: Acilación de quitosano con anhídrido glutámico

15 Utilizando un esquema de acilación similar al reportado por Shalaby y colaboradores (Shalaby, S.W. et al., Patente de los Estados Unidos 5,665,702 (1997); Shalaby, S.W. et al., Patente de los Estados Unidos 5,821,221 (1998)), prácticamente todos los grupos amina libres del quitosano serán acilados con anhídrido glutámico para formar CS-G. El producto se aísla y caracteriza como se describió anteriormente (Shalaby, S.W. et al., Patente de los Estados Unidos 5,665,702 (1997); Shalaby, S.W. et al., Patente de los Estados Unidos 5,821,221 (1998)). El contenido de ácido se determina utilizando acidimetría.

Ejemplo 13: Acilación mixta de quitosano

20 Esto permite acilar aproximadamente 50 % de los grupos amina libres de CS con anhídrido propiónico como en el ejemplo 11, seguido por la acilación de prácticamente todos los grupos amina restantes con anhídrido glutámico como en el ejemplo 12. Esto produce un quitosano aniónico relativamente hidrófobo (CS-PS).

Ejemplo 14: Método general de preparación

25 Se usa una mezcla de fosfato de dihidrógeno amonio ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) y dos o más de los siguientes óxidos o sales dependiendo de la composición final deseada: carbonato de sodio (Na_2CO_3), óxido de calcio (CaO), óxido de magnesio (MgO), óxido de zinc (ZnO) y dióxido de silicio (SiO_2). Las mezclas se calientan hasta la temperatura deseada (700 - 1200°C) para producir líquidos vitrificables como se describió anteriormente [Shalaby et al., Patente de los Estados Unidos 5,874,509 (1999)]. El "vidrio fundido" se vierte rápidamente sobre láminas de acero inoxidable enfriadas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, el vidrio se aísla y se tritura hasta un tamaño adecuado para una subsecuente molienda por chorro. El vidrio en micropartículas molido por chorro, se prueba en cuanto a (1) composición (análisis elemental); (2) propiedades térmicas (DSC); (3) solubilidad en agua; y (4) distribución del tamaño de partícula (Accusizer y SEM). Las pruebas de solubilidad se llevan a cabo entonces sobre las partículas trituradas y molidas por chorro para determinar el efecto del área superficial sobre la solubilidad.

Ejemplo 15: Preparación de vidrios de fosfato poliméricos de absorción rápida (FP)

35 Se preparan utilizando $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$, CaO , MgO y Na_2CO_3 en diferentes proporciones para producir dos vidrios de absorción rápida que tienen perfiles de absorción que disminuyen desde FP1 hasta FP2.

Ejemplo 16: Preparación de vidrios poliméricos de zinc-fosfato de absorción moderada (MP)

40 Dos de estos vidrios se prepararon utilizando $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$, CaO , ZnO y Na_2CO_3 a diferentes proporciones para producir vidrios de absorción moderada que tienen perfiles de absorción que disminuyen desde MP1 hasta MP2.

Ejemplo 17: Preparación de vidrios de silico-fosfato poliméricos de absorción lenta (SP)

Dos de estos vidrios se prepararon utilizando $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$, CaO , ZnO , Na_2CO_3 y SiO_2 a diferentes proporciones para producir vidrios de absorción lenta que tienen perfiles de absorción que disminuyen desde SP1 hasta SP2.

Ejemplo 18: Procesamiento y caracterización de los componentes de la preforma

45 Esta sección cubre (1) el proceso para la reducción del tamaño de partícula de polvos sólidos; (2) la torsión de fibras y conversión en hebras para textiles tejidos; y (3) modificación superficial de los textiles.

Ejemplo 19: Reducción de tamaño de polvos sólidos

Se muelen por chorro polvos sintéticos de PG-1 y polímeros orgánicos cristalinos similares o vidrios de fosfato poliméricos con un diámetro promedio de 100-150 μ bajo una atmósfera de nitrógeno seco para producir las dimensiones de micropartículas deseadas. El análisis de tamaño de partículas se determina utilizando un analizador de tamaño de partículas (Accusizer y SEM). La química de superficie se determina utilizando ESCA.

Las micropartículas de quitosano y derivados se producen por nebulización (utilizando un atomizador ultrasónico) de una solución adecuada en un no solvente enfriado. Las partículas se aíslan por centrifugación. Las partículas secas se caracterizan por la distribución de tamaño de partícula y funcionalidades de superficie (ESCA)

Ejemplo 20: Torsión de fibras y conversión en textiles tejidos

Los polímeros formadores de fibras son sometidos a torsión en fusión para ser convertidos en una hebra de filamentos múltiples. La hebra es tejida en dos diferentes tipos de textiles tejidos, KF1 y KF2. El grado de porosidad se incrementa de KF1 a KF2.

Ejemplo 21: Modificación de la superficie de textiles

La superficie de los textiles seleccionados (KF1 del copolímero SLC-1) se modifica para (1) introducir funcionalidades básicas a través de la reacción de la superficie con una solución de hidrazina (KF1-N); (2) introducir funcionalidad ácida a través de la carboxilación por radicales libres de la superficie (KF1-A); y (3) disminuir la porosidad del textil a través de recubrimiento por aspersión o inmersión con un copolímero elastomérico (SLC-3) el cual puede contener un copolímero de caprolactona/glicólido de bajo peso molecular básico o ácido, PCLG-1 o PCLG-2, respectivamente.

Ejemplo 22: Preparación de textiles tejidos

Las hebras de filamentos múltiples de denier predeterminado y denier por filamento se tejen utilizando una máquina de tejido circular para producir tubos de tejido. El proceso de tejidos se ajusta para producir tejidos circulares y textiles con dos niveles de porosidad (baja y alta según sea KF-1 y KF-2).

Ejemplo 23: Textiles tejidos de recubrimiento

Los textiles seleccionados de copolímero SLC-1 se recubren con recubrimientos básicos (anionogénicos) y ácidos (cationogénicos) PCLG-1 y PCLG-2, respectivamente. La aplicación del recubrimiento se logra sumergiendo o asperjando (utilizando un atomizador ultrasónico) el tubo tejido en una solución de acetona del recubrimiento seguido por secado. Se utiliza un nivel de recubrimiento para ambos tipos de textiles con el fin de proveer poros prácticamente sellados.

Ejemplo 24: Ensamblaje de las preformas

Una mezcla de las micropartículas deseadas se transfiere a tubos tejidos sellados parcialmente por calor (tanto recubiertos como no recubiertos) para llenar más del 80% del volumen disponible. Los tubos llenos son sellados por calor adicionalmente para proveer la preforma final. Las composiciones de las diferentes preformas se proporcionan en la Tabla II. El recubrimiento básico puede ser premezclado con FGF-2 y el recubrimiento ácido se enlaza iónicamente a FGF-2.

Ejemplo 25: Curado (solidificación) de preformas ensambladas y determinación de las propiedades mecánicas de los dispositivos curados.

Especímenes representativos de las preformas ensambladas se incuban en una solución regulada de fosfato a 37°C y pH 7.4 durante 3, 6, 9 y 12 horas para determinar un periodo de tiempo óptimo para el curado en formas rígidas. Utilizando tal periodo de tiempo para curación, las preformas candidatas son curadas y se determinan sus propiedades mecánicas en términos de resistencia y modulus en los modos de compresión y flexión. Con base en estos resultados, se seleccionan los candidatos más prometedores para evaluaciones subsecuentes, más amplias.

Ejemplo 26: Esterilización de las preformas seleccionadas

Con base en los resultados del ejemplo 25, los tipos de preforma más prometedores son esterilizados en paquetes sellados bajo una atmósfera de nitrógeno utilizando el protocolo de esterilización radioquímica descrito anteriormente [Correa, D.E. et al., Sixth World Biomaterials Congress, Transactions of The Society of Biomaterials, II, 992 (2000); Shalaby, S.W. y Linden, Jr., C.L., Patente de los Estados Unidos 5,422,068 (1995)].

Ejemplo 27: Propiedades mecánicas *in vitro* – Retención de pérdida de masa – Preformas curadas

5 Las preformas representativas circulan bajo las condiciones óptimas identificadas en el ejemplo 25. Las preformas curadas se incuban en un regulador de fosfato a 37°C y pH 7.4 durante 2, 4, 6 y 12 semanas. A la conclusión de estos periodos, se determinan la resistencia a la ruptura y el modulus en los modos de compresión y flexión. Las pérdidas de masa a 3 y 6 meses de las preformas curadas se determinan bajo condiciones similares.

Tabla I. Composición de las preformas, componentes del polvo y sus mezclas para selección *in vitro*

Componente	Mezcla																	
	No.	Composición	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16
Vidrio de fosfato de absorción rápida	FP-1 FP-2	Polifosfato que contiene Na, Ca & Mg	X -	- X	- X	- -	- X	- -										
Vidrios de zinc-fosfato moderadamente e absorbentes	MP-1 MP-2	Polifosfato que contiene Na, Ca & Zn	- -	- -	X -	- -	- X	- -	- -	- -	- -	X -	X -	X -	- X	- -	- -	- -
Vidrios de silico-fosfato de absorción lenta	SP-1 SP-2	Polifosfato que contiene Ca, Zn, Na & Si	- -	- -	- -	- -	- -	X -	- -	- X	- -	- -	- -	- -	- -	- -	X -	- -
Poliéster aniónico de absorción rápida	PG-A1 PG-A2	Poliglicólico terminado en ácido	- -	- X	- -	X -	- X	- -	X -	- -	- X	- X						
Copolíster de absorción lenta	PLG-A	PLG terminado en ácido	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-
Poliéster catiónico	PG-N	PGA portador de amina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	X	-	-	-
	PLG-N	PLG portador de amina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	X	X
Quitosano	CS	Quitosano desacetilado al 90%	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

(continuación)

Componente		Mezcla																
Tipo principal	Composición	No.	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16
Quitosano menos hidrofílico	CS propionilado parcialmente	CS-P	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-
Quitosano aniónico	CS glutarilado CS propionilado/glutarilado	CS-G CS-PG	-	-	-	-	-	-	X	-	-	X	-	-	-	X	X	-
Polisacárido catiónico	Sulfato de condroitina A	CSA	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	X	-	X	-	-	-
Poliisina (PLS)	DP PLS bajo	PLS	-	-	X	-	-	-	X	X	-	-	-	-	X	X	X	-
Excipiente	Glucosa	GL	-	-	-	-	X	-	-	X	-	-	-	X	-	-	-	-

Tabla II. Composiciones de preformas de candidatos ensamblados (PF)

Componentes	PF 1	PF 2	PF 3	PF 4	PF 5	PF 6	PF 7	PF 8	PF 9	PF 10	PF 11	PF 12	PF 13	PF 14	PF 15	PF 16	PF 17	PF 18	PF 19	PF 20	PF 21
Polvo ¹ : B1	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B2	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B3	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B4	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B5	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B6	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B7	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B8	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B9	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
B10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	X	-	X	-	-	-	-	-
B13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-
B14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-
B15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X	-
B16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X

(continuación)

Componentes	PF 1	PF 2	PF 3	PF 4	PF 5	PF 6	PF 7	PF 8	PF 9	PF 10	PF 11	PF 12	PF 13	PF 14	PF 15	PF 16	PF 17	PF 18	PF 19	PF 20	PF 21
Textil ² : KF1	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	X	X	X	-	-	-	X	-	-	-	-
KF2	X	-	-	-	-	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KF1-A	-	-	X	X	-	-	X	-	-	X	-	-	-	X	X	X	-	X	X	X	X
KF1-N	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Recubrimiento ³ :PCLG-1	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	X	X	X	X
PCLG-2	-	-	-	-	-	X	-	X	X	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
SLC-3	X	X	X	X	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-
FGF-2 ⁴	X	X	X	X	X	X	-	X	-	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X

¹Mezclas de polvos de polielectrolitos orgánicos e inorgánicos cargados opuestamente, con o sin glucosa como porógeno.

²Textiles tejidos KF1 y KF2 con bajo y alto grado de porosidad, respectivamente; KF1-A y KF1-N son textiles tejidos con superficies ácidas y básicas, respectivamente.

³PCLG = Copolímero de caprolactona/glicólido de bajo peso molecular con uno o dos grupos carboxílicos; SLC3 = copolímero de lactido segmentado de alto peso molecular.

⁴FGF-2 = Factor de crecimiento básico derivado de fibroblastos.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una preforma compuesta conformable absorbible que comprende una mezcla absorbible de polielectrolitos en micropartículas sólidos con carga opuesta incorporados en una construcción textil de copoliéster absorbible flexible sellada, donde la dicha preforma sufre la solidificación en una masa individual que tiene un modulus de más de 0.5 GPa por contacto con un medio acuoso.
2. Una preforma compuesta conformable absorbible, como en la reivindicación 1, donde uno de los polielectrolitos en micropartículas es un quitosano cargado positivamente.
3. Una preforma compuesta conformable absorbible, como en la reivindicación 1, donde uno de los polielectrolitos es un vidrio o cerámica de fosfato polimérico cargado negativamente.
- 10 4. Una preforma compuesta conformable absorbible, como en la reivindicación 1 donde los polielectrolitos de carga opuesta comprenden un conjugado iónico de un vidrio o cerámica de fosfato polimérico y un quitosano.
5. Una preforma compuesta conformable absorbible como en la reivindicación 1 donde uno o más polielectrolitos es un polipéptido que porta grupos laterales amino o carboxílico.
6. Una preforma compuesta conformable absorbible como en la reivindicación 5 donde el polipéptido es polilisina.
- 15 7. Una preforma compuesta conformable absorbible como en la reivindicación 5 donde el polipéptido es ácido poliaspártico o poliglutámico.
8. Una preforma conformable como en la reivindicación 1 donde la superficie de la construcción textil flexible tiene grupos carboxílicos sobre los cuales se inmovilizan iónicamente uno o más factores de crecimiento.
- 20 9. Una preforma conformable absorbible como en la reivindicación 1 donde la superficie de la construcción textil flexible tiene grupos carboxílicos sobre los cuales se inmoviliza iónicamente un factor de crecimiento básico derivado de fibroblastos (FGF-2).
10. Una preforma conformable absorbible como en la reivindicación 1 para uso en el reemplazo de una parte perdida de un hueso craneomaxilofacial.