

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 385 895**

51 Int. Cl.:
A61L 31/12 (2006.01)
A61L 31/14 (2006.01)
A61L 27/12 (2006.01)
A61L 27/50 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06003422 .0**
96 Fecha de presentación: **20.02.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1820522**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **22.08.2007**

54 Título: **Material en gránulos y matriz**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
02.08.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
02.08.2012

73 Titular/es:
STRAUMANN HOLDING AG
PETER MERIAN-WEG 12
4002 BASEL, CH y
Universität Zürich

72 Inventor/es:
Fehr, Daniel;
Neidhardt, Astrid;
Molenberg, Aldert;
Jung, Roland y
Hämmerle, Christoph

74 Agente/Representante:
de Elzaburu Márquez, Alberto

ES 2 385 895 T3

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

DESCRIPCIÓN

Material en gránulos y matriz.

5 La presente invención se refiere a una composición que comprende un material en gránulos y una matriz que se puede obtener mediante una reacción autoselectiva de al menos dos precursores que forman una red tridimensional. También se proporcionan un kit y un procedimiento para preparar dicha composición.

10 En la actualidad se usan ampliamente dispositivos médicos tales como implantes en general e implantes dentales en particular. Han llegado a ser una posibilidad apreciada cuando se necesita fijar o reemplazar estructuras de tejidos duros, por ejemplo en el caso de fracturas de huesos o pérdidas de dientes. Sin embargo, el éxito de los implantes de este tipo depende enormemente del soporte adecuado en el sitio del implante. Si la masa ósea en dicho sitio es insuficiente o de calidad deficiente, se hace necesaria la reparación del hueso y/o el aumento del hueso. Hay diferentes tratamientos que se aplican para volver a ganar suficiente masa ósea, que incluyen el uso de materiales de injerto óseo de diferente origen, forma y tamaño.

15 Aun cuando hay maneras de tratar sistemáticamente la masa y/o la resistencia del hueso, por ejemplo, en la osteoporosis, todavía es difícil conseguir formación de hueso de manera fiable y controlable. Sin embargo, la formación local de hueso sería de gran beneficio para el tratamiento adecuado de incidentes en los que la potenciación del volumen óseo se requiere solamente de modo local, por ejemplo, cuando se colocan implantes dentales.

20 Los métodos que se usan actualmente para reparar defectos de huesos incluyen materiales de injerto de diferentes fuentes. El material es indistintamente sintético o de origen natural. Un material de injerto natural que se emplea es el hueso autógeno. En contraste con el material de hueso o de tipo hueso de fuentes naturales (humana, animales, de plantas, de algas, etc.), el material de hueso autógeno no desencadena respuesta inmunitaria fuerte y por este motivo no es rechazado por el hospedador. Sin embargo, el material de hueso autógeno requiere una segunda cirugía para extraer el hueso, lo que aumenta el riesgo de infección y/o inflamación no deseadas en este sitio y aumenta significativamente los costes del tratamiento. Además, la retirada de material óseo conduce, al menos temporalmente, a que se debilite la estructura en este sitio y se ocasione un proceso de curación doloroso.

25 Durante los últimos años ha llegado a ser cada vez más evidente que el uso de diversos factores bioactivos mejora la reparación del hueso y/o el aumento del hueso. También se ha mostrado que el método de aplicación de dichos factores influye mucho en su efecto regenerador. A pesar de los esfuerzos continuos para desarrollar métodos para la presentación controlable y liberación de dichos factores, este es todavía uno de los problemas comunes en este campo.

30 En el estado de la técnica, se han descrito diferentes biomateriales para aumento de tejido o liberación de factores bioactivos.

35 El documento WO 00/44808 describe un biomaterial polimérico formado mediante reacciones nucleófilas de adición a grupos insaturados conjugados. El biomaterial obtenido, que está en forma de hidrogel, se puede usar por ejemplo como adhesivos o sellantes y armazones para aplicaciones de ingeniería de tejidos y curación de heridas. Además, dichos hidrogeles se degradan rápidamente en condiciones fisiológicas.

40 El documento US 5.626.861 describe un método para la fabricación de una matriz macroporosa que se puede usar como material de implante. Se forman materiales compuestos a partir de una mezcla de polímero biodegradable y biocompatible que se disuelve en un disolvente orgánico tal como cloruro de metileno o cloroformo y a continuación se mezclan con hidroxiapatito. Este último es un fosfato de calcio cerámico en partículas. El material tiene poros irregulares en el intervalo de tamaño entre 100 y 250 micrómetros. En el material compuesto se pueden incorporar de modo no covalente factores bioactivos.

45 El documento US 5.204.382 describe composiciones de implante inyectables que comprenden una matriz cerámica biocompatible mezclada con un polímero orgánico o colágeno suspendido en un vehículo fluido. Las partículas cerámicas están en el intervalo de tamaño de 50 μm a 250 μm .

El documento US 6.417.247 describe un polímero y una matriz cerámica. Las composiciones son líquidas normalmente y se endurecen bajo ciertos estímulos, por ejemplo, temperaturas elevadas.

50 Según se usan en este documento, las palabras "polimerización" y "reticulación" se usan para indicar la unión de diferentes precursores entre ellos para dar como resultado un aumento sustancial en el peso molecular. "Reticulación" indica además ramificación para obtener típicamente una red tridimensional de polímero.

55 Mediante "autoselectiva" se quiere dar a entender que un primer precursor A de la reacción reacciona mucho más rápidamente con un segundo precursor B que con otros compuestos presentes en la mezcla en el sitio de la reacción, y el segundo precursor B reacciona mucho más rápidamente con el primer precursor A que con otros compuestos presentes en la mezcla en el sitio de la reacción. La mezcla puede contener otros materiales biológicos, por ejemplo, fármacos, péptidos, proteínas, ADN, ARN, células, agregados de células y tejidos.

Mediante "enlace insaturado conjugado" se quiere dar a entender la alternancia de enlaces múltiples de carbono-carbono, carbono-heteroátomo o heteroátomo-heteroátomo con enlaces sencillos. Los enlaces de este tipo pueden soportar reacciones de adición.

5 Mediante "grupo insaturado conjugado" se quiere dar a entender una molécula o una región de una molécula, que contiene una alternancia de enlaces múltiples de carbono-carbono, carbono-heteroátomo o heteroátomo-heteroátomo con enlaces sencillos, que tiene un enlace múltiple que puede soportar reacciones de adición. Ejemplos de grupos insaturados conjugados incluyen, pero sin limitación, acrilatos, acrilamidas, quininas, y vinilpiridínios, por ejemplo 2- o 4-vinilpiridinio.

10 El problema de la presente invención es proporcionar un material de reparación de hueso y/o de aumento de hueso que tenga excelente biocompatibilidad y estabilidad mecánica que permita la reparación in situ del defecto del hueso y/o el aumento del hueso al tiempo que se hace mínimo el riesgo de inflamación no deseada, eliminando la necesidad de una segunda cirugía para extraer material de hueso autógeno y sin correr el riesgo de infección. Además, se reducen significativamente los costes de tratamiento.

15 El problema se resuelve mediante una composición según la reivindicación 1. Realizaciones preferidas adicionales son objeto de las reivindicaciones 2 a 28.

La composición según la presente invención comprende un material en gránulos y una matriz polimérica biodegradable según se describe en la reivindicación 1. En la técnica se conocen varias sustancias reticuladas, que son capaces de proporcionar una matriz porosa tridimensional biodegradable adecuada para regeneración de tejidos que se puede obtener mediante una reacción autoselectiva. Un ejemplo de material polimérico es PEG.

20 En la realización preferida, dicha matriz polimérica se obtiene mediante una reacción autoselectiva de dos o más precursores, según se define a continuación, en presencia de agua. La combinación de dicho material en gránulos y dicha matriz produce una composición que tiene excelentes propiedades de reparación de hueso y/o de aumento de hueso. La combinación de dicha matriz con dicho material en gránulos mejora de manera sinérgica la reparación de hueso y/o el aumento de hueso. Mientras la matriz proporciona un armazón tridimensional, el material en gránulos garantiza una buena estabilidad mecánica. Puesto que los precursores que forman la matriz y el material en gránulos se mezclan inmediatamente antes de usarlos, se consigue una óptima distribución del material en gránulos en la composición entera. Los precursores, que son los monómeros que forman la matriz, son solubles en agua. Es importante destacar que precursores y no polímeros se mezclan con el material en gránulos permitiendo la formación de la matriz in situ. Por consiguiente, la disolución acuosa que comprende los precursores y el material en gránulos no es viscosa y se puede mezclar rápidamente sin dificultades. La generación rápida de la matriz conserva la distribución óptima del material en gránulos y evita desequilibrios debidos a la posible sedimentación del material en gránulos.

Adicionalmente, la combinación de una matriz de hidrogel y un material en gránulos permite el modelado de la masilla granular a la forma deseada, estabiliza la forma e impide la migración del material en gránulos.

35 Si es apropiado, se puede añadir un modificador de viscosidad, tal como CMC (carboximetilcelulosa), PGA (alginato de propilenglicol) o xantana, para garantizar propiedades físicas óptimas para administración in situ, por ejemplo, en caso de que se deba añadir a los gránulos una cantidad de líquido relativamente grande. Así, se garantizan unas propiedades uniformes y óptimas de reparación de hueso y/o de aumento de hueso en toda la estructura tridimensional formada por la composición.

40 En tratamientos previamente conocidos, se aplica material de relleno de hueso tras la mezcla con líquidos no polimerizantes, por ejemplo disoluciones de NaCl o sangre. Como resultado, la mezcla de injerto de hueso administrada puede que no proporcione la estabilidad exacta requerida para la formación con éxito de nuevo tejido duro. El material de injerto óseo se expone habitualmente a tensión mecánica debida a la capa de tejido blando que se solapa o a otros impactos, lo que puede conducir a la deformación, migración o incluso al colapso de lo que se ha aumentado.

La composición de la presente invención resolverá este problema mediante la combinación de un material de relleno apropiado, por ejemplo material en gránulos de fosfato de calcio, y una matriz polimérica, por ejemplo, PEG, y proporcionará de este modo reparación de hueso y/o aumento de hueso controlados y seguros.

50 Aparte del manejo sencillo, los componentes individuales de la composición, los precursores que forman la matriz y el material en gránulos, tienen excelente estabilidad y con ello una larga vida en el almacenamiento. Ventajosamente, los componentes se almacenan en forma seca, por ejemplo en polvo, y los precursores se disuelven inmediatamente antes de su aplicación, Como alternativa, los componentes se pueden almacenar en disolventes que protegen sus funcionalidades.

55 Además, la composición es biodegradable dejando espacio de este modo para que crezca el hueso natural. Otra vez, esto evita la cirugía de retirar las partes de material de reparación de hueso y/o aumento de hueso que quedan después de que se termina la curación del defecto del hueso. Los productos de degradación se excretan fácilmente

y no son tóxicos.

El material en gránulos sirve por una parte como un relleno que expande el volumen de la composición y, por otra parte, proporciona la necesaria resistencia mecánica de la composición. Adicionalmente, ofrece una superficie de
5 almacenamiento para deposición ósea. Hay una amplia diversidad de materiales que se pueden emplear como material en gránulos, por ejemplo materiales óseos o materiales sintéticos. Ejemplos de materiales en gránulos son hueso de autoinjerto, hidroxiapatito, fosfato de tricalcio y mezclas de los mismos.

Ejemplos adicionales de materiales en gránulos para materiales de hueso autógeno son mentón, espina retromolar y nasal (todos extraídos intraoralmente), cresta ilíaca y calota (todos extraídos extraoralmente), materiales de hueso/
10 de tipo hueso de fuentes naturales son aloinjertos de hueso secados por congelación (FDDBA), aloinjertos de hueso secados por congelación desmineralizados (DFDBA; Grafton®), material bovino (BioOss®, Osteograph®, Navigraft®, Osteograft®), material coralino (Pro Osteon®, Interpore 500®), material de algas (Frios Algipore®), colágenos. Materiales sintéticos son hidroxiapatito (Ostim®), fosfato de tricalcio (Cerasorb®), BioResorb®, Ceros®, etc.), mezclas de hidroxiapatito y fosfato de tricalcio (Straumann BoneCeramic®), vidrio bioactivo (PerioGlass®, Biogran®), sulfato de calcio y apatito carbonatado.

Los materiales sintéticos proporcionan la ventaja de que no son de origen animal, eliminando con ello el riesgo de
15 infección con agentes patógenos humanos o animales, dependiendo de la fuente de los materiales naturales, que siempre está presente cuando no se usa material de hueso autógeno sino materiales de hueso /de tipo hueso de fuentes naturales. Además, los materiales en gránulos sintéticos eliminan la necesidad de una segunda cirugía, en contraste con el caso en que se emplea material de hueso autógeno. Dicha segunda cirugía es una fuente
20 predominante de complicaciones y costes adicionales. Aparte del hecho de que estas estructuras óseas importantes se debilitan al menos temporalmente, pueden ocurrir infecciones o inflamaciones, que complican adicionalmente el proceso de curación del sitio de la cirugía que ya está dolorido por sí mismo.

Otra ventaja de los materiales sintéticos es que su fabricación permite controlar parámetros tales como composición
química, cristalinidad, porosidad.

25 A continuación, se describen con mayor detalle los precursores A y B que forman la matriz.

El primer precursor A comprende un núcleo que lleva unidas n cadenas con un grupo insaturado conjugado o un
enlace insaturado conjugado, dicho grupo insaturado conjugado o enlace insaturado conjugado es terminal. El núcleo del primer precursor A puede ser un átomo individual tal como un átomo de carbono o nitrógeno o una
30 pequeña molécula tal como una unidad de óxido de etileno, un aminoácido o un péptido, un azúcar, un alcohol multifuncional, tal como pentaeritritol, D-sorbitol, glicerol u oligoglicerol, tal como hexaglicerol. Las cadenas son polímeros lineales o cadenas alquílicas lineales o ramificadas que comprenden opcionalmente heteroátomos, grupos amida o grupos éster. Además de las cadenas, el núcleo del precursor A puede estar sustituido adicionalmente con restos alquílicos lineales o ramificados o polímeros que no tienen grupos o enlaces insaturados conjugados. En una
35 realización preferida el primer precursor A tiene 2 a 10 cadenas, preferiblemente 2-8, más preferiblemente 3-8, lo más preferiblemente 4-8 cadenas. Los enlaces insaturados conjugados son preferiblemente acrilatos, acrilamidas, quininas, 2- o 4-vinilpiridinius, vinilsulfona, maleimida o ésteres de itaconato de fórmula Ia o Ib



en la que R_1 y R_2 son independientemente hidrógeno, metilo, etilo, propilo o butilo, y R_3 es una cadena de hidrocarburo C_1 a C_{10} lineal o ramificada, preferiblemente metilo, etilo, propilo o butilo.

40 El segundo precursor B comprende un núcleo que lleva m cadenas teniendo cada una un grupo tiol que es terminal. Por ejemplo se puede incorporar un resto cisteína a la cadena. El núcleo del segundo precursor B puede ser un átomo individual tal como un átomo de carbono o nitrógeno o una pequeña molécula tal como una unidad de óxido de etileno, un aminoácido o un péptido, un azúcar, un alcohol multifuncional, tal como pentaeritritol, D-sorbitol, glicerol u oligoglicerol, tal como hexaglicerol. Las cadenas son polímeros lineales o cadenas alquílicas lineales o
45 ramificadas que comprenden opcionalmente heteroátomos, grupos éster o grupos amida. En una realización preferida el segundo precursor B tiene 2 a 10 cadenas, preferiblemente 2-8, más preferiblemente 3-8, lo más preferiblemente 2 a 4 cadenas.

En una realización preferida, el núcleo de precursor B comprende un péptido que comprende uno o más sitios de degradación enzimática. Ejemplos de sitios de degradación enzimática son secuencias de sustrato para plasmina,
50 metalo-proteinasas de matriz y similares.

5 En una realización preferida, el precursor A y/o el B comprenden un péptido que comprende uno o más sitios de degradación enzimática. El precursor A y/o el B también pueden ser un péptido que comprende 2 restos cisteína y uno o más sitios de degradación enzimática. En el documento WO 03/040235 se describen precursores de estos tipos. Ejemplos de sitios de degradación enzimática son secuencias de sustrato para plasmina, metalo-proteinasas de matriz y similares.

En una realización preferida, un precursor que comprende un péptido o es un péptido que comprende 2 restos cisteína y uno o más sitios de degradación enzimática según se describen para el precursor B se puede usar como un tercer precursor.

10 El compuesto de primer precursor A tiene n cadenas, de modo que n es mayor o igual que 2, y el compuesto de segundo precursor B tiene m cadenas, de modo que m es mayor o igual que 2. El primer precursor A y/o el segundo precursor B pueden comprender además cadenas que no están funcionalizadas. La suma de las cadenas funcionalizadas del primero y el segundo precursor, esto es m+n, es mayor o igual que 5. Preferiblemente la suma de m+n es igual o mayor que 6 para obtener una red tridimensional bien formada.

15 Los precursores que forman la matriz se disuelven o se suspenden en disoluciones acuosas. Los precursores no necesariamente han de ser enteramente solubles en agua.

El material en gránulos se puede mojar con las disoluciones de precursor o se puede suspender en una cantidad mayor de disoluciones de precursor.

20 Dado que no son necesarios disolventes orgánicos, solamente están presentes disoluciones y/o suspensiones acuosas. Estas son fáciles de manejar y no requieren precauciones laboriosas como podría ser el caso si estuvieran presentes disolventes orgánicos. Además, los disolventes orgánicos son un riesgo adicional para la salud del personal y de los pacientes expuestos a estos disolventes. La presente invención elimina dicho riesgo.

25 El uso de al menos dos precursores que forman una red tridimensional mediante una reacción autoselectiva se puede aplicar ventajosamente in situ. Esto quiere dar a entender que la composición se lleva al sitio del defecto del hueso en forma de un líquido o una pasta, lo que permite un control preciso de la cantidad de la composición que se aplica. La composición todavía líquida adopta óptimamente la forma del defecto del hueso, garantizando ajuste y sujeción óptimos. Adicionalmente, permite el modelado de la composición a la forma deseada. No se necesita más fijación. El endurecimiento de la composición se termina en unos minutos, empezando en el momento del mezclado. No requiere ningún estímulo de disparo complicado y la autoselectividad de la reacción es tal que el tejido circundante no se lesiona.

30 En una realización preferida el material en gránulos comprende fosfato de calcio, que es altamente biocompatible en términos de que es inerte, esto es, no provoca procesos inflamatorios ni posteriores reacciones biológicas no deseadas.

En una realización preferida más, el material en gránulos comprende hidroxiapatito (HA) y/o fosfato de tricalcio (TCP).

35 En una realización preferida la composición comprende un material en gránulos en el que la relación en peso de hidroxiapatito/fosfato de tricalcio en el material en gránulos está entre 0,1 y 5,0, preferiblemente entre 1,0 y 4,0, lo más preferiblemente entre 1,0 y 2,0.

En otra realización preferida el contenido de hidroxiapatito (HA) en el material en gránulos es al menos 1% en peso, preferiblemente igual o mayor que 15% en peso, lo más preferiblemente igual o mayor que 50% en peso.

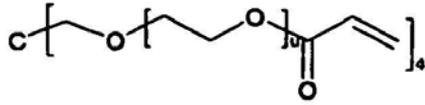
40 La resistencia mecánica de la composición está muy influida por la cantidad de material en gránulos presente en la composición. Se consiguen buenos resultados con composiciones que comprenden 30% a 60% en peso de material en gránulos.

45 En una realización preferida más, el grupo insaturado conjugado o el enlace insaturado conjugado del primer precursor A es un acrilato, una quinina, un 2- o 4-vinilpiridinio, vinilsulfona, maleimida o un éster de itaconato de fórmula la o lb.

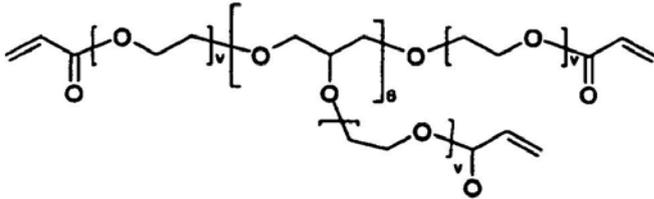


Los más preferidos son los acrilatos.

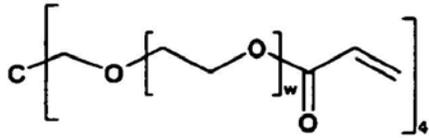
En una realización particularmente preferida el precursor A se elige entre el grupo que consiste en



u = 5 a 30; fórmula A1

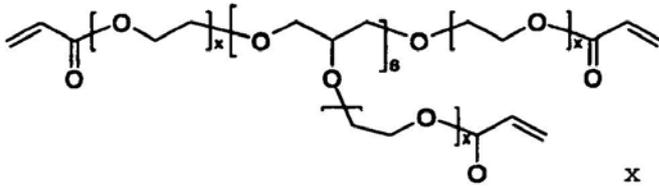


v = 2 a 16; fórmula A2

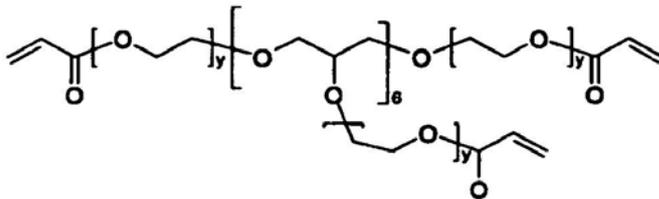


w = 30 a 300; fórmula A3

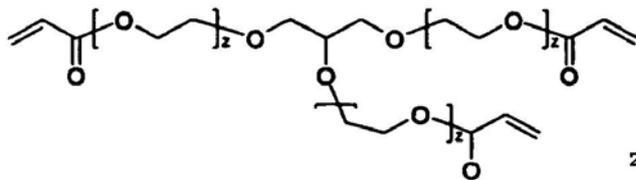
5



x = 10 a 60; fórmula A4

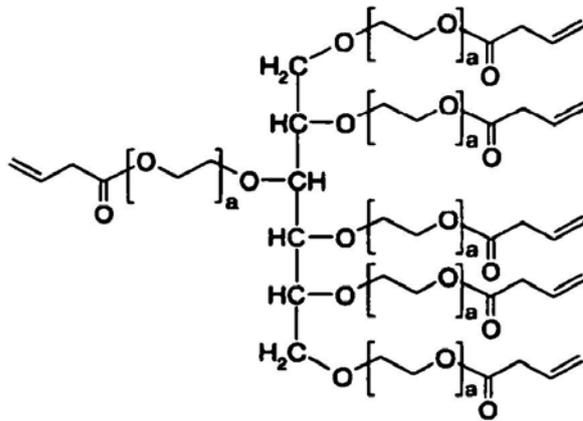


y = 20 a 150; fórmula A5



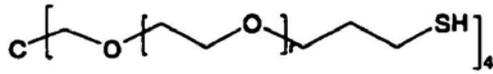
z = 45 a 400; fórmula A6

10



a = 5 a 200, preferiblemente 7
a 150, lo más preferiblemente 20 a 80; fórmula A7

En otra realización preferida el precursor B comprende un resto tiol o se selecciona entre el grupo que consiste en

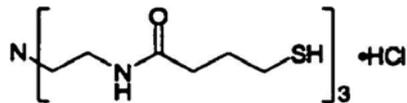


r = 4 a 300; fórmula B1

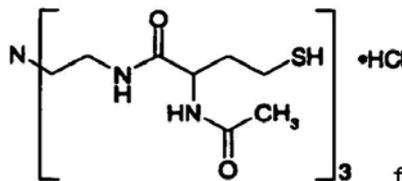


s = 10 a 300; fórmula B2

5

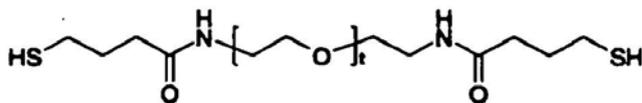


fórmula B3

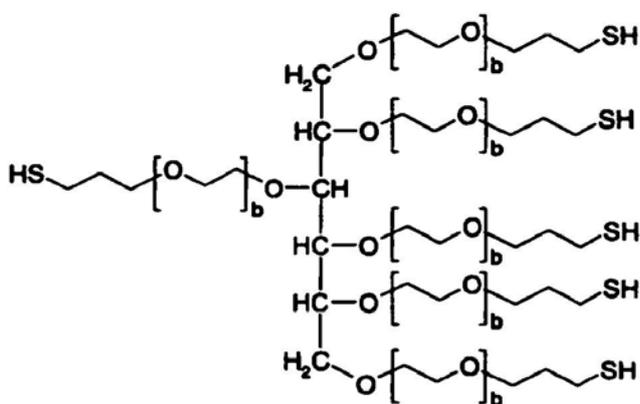


fórmula B4

10



t = 30 a 190; fórmula B5



$b = 5$ a 200 , preferiblemente 7
a 150 , lo más preferiblemente 20 a 80 ; fórmula B6

El precursor A más preferido es un acrilato-PEG que lleva 4 cadenas y que tiene un peso molecular de aproximadamente 15.000 Da. Los precursores B más preferidos se seleccionan entre el grupo que consiste en un PEG-ditiol lineal que tiene un peso molecular de aproximadamente 3500 Da y PEG-tiol que lleva 4 cadenas y que tiene un peso molecular de aproximadamente 2400 Da.

El precursor A y/o el B pueden variar significativamente en peso molecular, preferiblemente en el intervalo de 500 Da a 100.000 Da, más preferiblemente en el intervalo de 1000 a 50.000 y lo más preferiblemente en el intervalo de 2000 a 30.000.

En una realización preferida las cadenas de precursor A y/o B son un polímero que se selecciona entre el grupo que consiste en poli(alcohol vinílico), poli(óxidos de etileno), poli(etilenglicol), poli(polioloxietilados), poli(sorbitol oxietilado), poli(glucosa oxietilada), poli(oxazolona), poli(acrilato-morfolina), poli(vinilpirrolidona), y mezclas de las mismas. En una realización particularmente preferida las cadenas de precursor A y/o B son poli(etilenglicol). El poli(etilenglicol) puede ser indistintamente lineal o ramificado.

En otra realización preferida se usa precursor A con un precursor B que es un péptido que comprende 2 restos cisteína y uno o más sitios de degradación enzimática. Los restos cisteína se ubican preferiblemente en los terminales del péptido.

En una realización preferida la composición comprende al menos un factor bioactivo. El factor bioactivo se puede añadir cuando se mezclan los otros componentes de la composición. Si el factor bioactivo no comprende un grupo reactivo, por ejemplo un grupo tiol o amina, dicho factor bioactivo no estará unido mediante enlace covalente a la matriz, sino que sencillamente estará atrapado en la composición. El factor bioactivo se libera a continuación por difusión. Sin embargo, el factor también se puede unir mediante enlace covalente a la matriz, por ejemplo, esto se puede conseguir mediante un resto tiol presente en el factor bioactivo que reacciona con el grupo o enlace insaturado conjugado presente en el precursor A tras el mezclado. Un resto tiol está presente, por ejemplo en el aminoácido cisteína. Este aminoácido se puede introducir fácilmente en péptidos, oligopéptidos o proteínas. También es posible adsorber el factor bioactivo sobre los gránulos antes del mezclado de los gránulos con disoluciones que comprenden el primer precursor A y el segundo precursor B.

En una realización preferida el factor bioactivo se selecciona entre el grupo que consiste en hormonas paratiroideas (PTH), péptidos basados en PTH, fragmentos de péptidos de PTH, péptidos que comprenden un tripéptido RGD, familia del factor de crecimiento transformante beta (TGF β), familia de proteínas morfogenéticas óseas (BMP), familia del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), familia del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), familia del factor de crecimiento de tipo insulina (IGF), familia del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), proteínas y péptidos derivados de la matriz del esmalte (EMD) según se describe en el documento EP 01165102 B1, prostaglandina E₂ (PGE₂) y agonistas de EP2, y dentonina. La dentonina es un fragmento de péptido de fosfoglicoproteína de matriz extracelular (MEPE) que se encuentra en tejidos óseos y dentales. Se describe adicionalmente en el documento WO 02/14360. Asimismo, se pueden usar como factores bioactivos proteínas de la matriz extracelular, tales como fibronectina, colágeno, laminina. Estos péptidos y proteínas pueden comprender o no cisteína adicional. Dicha cisteína facilita la unión covalente de los péptidos y proteínas a la matriz.

En otra realización preferida el factor bioactivo se selecciona entre el grupo que consiste en hormonas paratiroideas (PTH), péptidos basados en PTH y fragmentos de péptidos de PTH. Se ha puesto de manifiesto que las hormonas paratiroideas ejercen efectos anabólicos múltiples sobre tejido óseo. Se prefiere particularmente un péptido que comprende los primeros 34 aminoácidos de PTH. Este péptido puede contener o no cisteína adicional, que facilita la unión covalente del péptido a la matriz. Dichos péptidos se pueden producir mediante escisión enzimática de PTH o

mediante síntesis de péptido. En una realización preferida adicional, el factor bioactivo se selecciona entre el grupo que consiste en amelogenina, amelina, tuftelina, ameloblastina, enamelina y sialoproteína dentinaria.

5 Se puede potenciar la eficacia de la matriz mediante introducción de sitios de unión celular. Por ejemplo, el motivo de la secuencia RGD desempeña un papel importante en la adhesión celular específica. Un posible péptido de unión celular es H-Gly-Cys-Gly-Arg-Gly-Asp-Ser-Pro-Gly-NH₂, que se puede unir mediante enlace covalente a la matriz por su cisteína.

Los factores bioactivos se pueden preparar a partir de fuentes naturales, por medios sintéticos o recombinantes o por una mezcla de los mismos.

10 Según la reivindicación 29, la presente invención también se refiere a kits para preparar una composición según las reivindicaciones 1 a 28. Realizaciones preferidas son los objetos-materias de las reivindicaciones 29 a 35.

Los kits también caen dentro del alcance de la presente invención. Se usa un kit de este tipo para preparar una composición según la presente invención. El kit comprende (i) un material en gránulos, (ii) un precursor A y (iii) un precursor B que se almacenan cada uno de ellos individualmente. El kit también puede comprender más de un material en gránulos y más de dos precursores.

15 En una realización preferida el kit también comprende al menos un factor bioactivo como componente adicional (iv) que también se almacena individualmente. Si se desea, el kit puede comprender dos o más factores bioactivos que se almacenan como premezcla o, preferiblemente, se almacenan individualmente. En este último caso, los factores se pueden mezclar cuando se usa el kit según las necesidades específicas del paciente.

20 También es posible que el kit comprenda ciertos componentes en forma previamente mezclada. Por ejemplo, el material en gránulos y el precursor A se pueden almacenar como premezcla, el material en gránulos y el precursor B se pueden almacenar como premezcla y también el precursor A y el factor bioactivo se pueden almacenar como premezcla. Los precursores se pueden almacenar en forma seca o en un disolvente adecuado (por ejemplo de ácido acético al 0,04%). Se añade una disolución tampón adecuada inmediatamente antes de la aplicación. Los precursores se almacenan preferiblemente en forma seca. El factor bioactivo se puede (pre)-adsorber en el material en gránulos. Además, el factor bioactivo se puede almacenar en forma seca (liofilizada) o en disolución acuosa que está tamponada adecuadamente. La primera proporciona excelente estabilidad y con ello una larga vida en el almacenamiento, la segunda proporciona un manejo muy cómodo para el usuario.

Según la reivindicación 36 y la 37 la presente invención también se refiere a un método para preparar una composición según las reivindicaciones 1 a 26.

30 También se proporciona un procedimiento para preparar una composición según la presente invención. Para este fin, se mezclan el material en gránulos, el precursor A y el precursor B en presencia de agua. Preferiblemente, el agua está tamponada en el pH fisiológico o cerca de él. Un intervalo de tamponado adecuado para la matriz es pH 7,4 a 9,0. La polimerización comienza tras el mezclado de los diferentes componentes y se forma un hidrogel en un período de tiempo bastante corto (10 segundos hasta 10 minutos). Los precursores no necesariamente tienen que ser completamente solubles en agua.

40 El mezclado de los diferentes componentes se puede conseguir de varias maneras. Si los precursores A y B están almacenados como disoluciones acuosas, se pueden mezclar con el material en gránulos por medio de un dispositivo de mezcla adecuado. Preferiblemente se esterilizan por filtración justo antes de su uso. Lo más preferiblemente, los componentes se esterilizan en el momento de la producción y se envasan de tal manera que se conserva la esterilidad. Si los componentes se almacenan en forma de polvo, se puede disolver cada uno en una disolución acuosa tamponada apropiada.

45 Si el kit comprende un factor bioactivo, el factor se puede mezclar previamente o hacer que reaccione previamente con cualquiera de los precursores o se puede añadir separadamente en forma seca o liofilizada o en estado disuelto. Por ejemplo, si el factor bioactivo comprende un tiol, se puede hacer que reaccione previamente con el precursor A. El factor bioactivo también se puede adsorber previamente en el material en gránulos antes de mezclarlo con los precursores A y B.

Según la reivindicación 38 la presente invención también se refiere al uso de una composición según las reivindicaciones 1 a 28 como material para reparación de hueso y/o aumento de hueso.

50 En una realización preferida se usa la composición según la presente invención como material para reparación de hueso y/o aumento de hueso.

Ejemplo 1

Se disolvieron 164 mg (0,084 mmol de tiol) de HS-PEG-SH 3,4 k (Nektar, Huntsville, AL, EE.UU.) en 1,71 ml de ácido acético al 0,05% y se disolvieron 326 mg (0,083 mmol de acrilato) de acrilato-PEG de 4 brazos 15 k (Nektar, Huntsville, AL, EE.UU.) en 1,55 ml de ácido acético al 0,05% que contenía 100 ppm de azul de metileno. Al mezclar

partes alícuotas de ambas disoluciones de PEG con un tampón de trietanolamina/HCl 0,4 M (pH 8,85) en una relación en volumen de 1,5 : 1,5 : 1 se produjo un gel en 3,5 minutos a 25°C.

5 Se pipetearon partes alícuotas de las tres disoluciones ($V_{\text{PEG-tiol}} : V_{\text{acrilato-PEG}} : V_{\text{tampón}} = 1,5 : 1,5 : 1$) a gránulos de HA/TCP (60%/40%) (Straumann Bone Ceramic, Institut Straumann AG, Basilea, Suiza) y se mezclaron. Tres cirujanos evaluaron independientemente las propiedades de aplicación de las composiciones con diversas relaciones gránulos/líquido:

Gránulos (g)	Líquido (ml)	Cirujano 1	Cirujano 2	Cirujano 3
0,5	0,6	buena consistencia	muy poco líquido	buenas propiedades de aplicación
0,5	0,7	la mejor consistencia, se absorbe todo el líquido	buenas propiedades de aplicación	buenas propiedades de aplicación
0,5	0,9	buena consistencia, algo de líquido sin absorber	-	-

10 Las pruebas mostraron que los gránulos absorbieron en seguida la disolución de PEG y la masilla granular resultante fue fácil de aplicar a un modelo de defecto mandibular y produjo un aumento estable después de la gelificación de los PEG.

La Figura 1 muestra un modelo de defecto mandibular con masilla granular después de gelificación, aplicada por el cirujano 1.

Ejemplo 2

Formulación 1:

15 Se disolvieron 150 mg (0,47 mmol de acrilato) de acrilato-PEG de 8 brazos 2 k en 0,60 ml de tampón de trietanolamina/HCl 0,02 M (pH 7,6) y se disolvieron 311 mg (0,49 mmol de tiol) de PEG-tiol de 4 brazos 2 k en 0,44 ml de agua.

Al mezclar partes alícuotas iguales de ambas disoluciones se produjo un gel aproximadamente en 35 segundos a 37°C.

20 Formulación 2:

Se disolvieron 170 mg (0,45 mmol de acrilato) de acrilato-PEG de 6 brazos 2 k en 0,58 ml de tampón de trietanolamina/HCl 0,05 M (pH 9,8) y se disolvieron 190 mg (0,47 mmol de tiol) de PEG-tiol de 6 brazos 2 k en 0,56 ml de agua.

25 Al mezclar partes alícuotas iguales de ambas disoluciones se produjo un gel aproximadamente en 75 segundos a 37°C.

Formulación 3:

Se disolvieron 69 mg (0,018 mmol de acrilato) de acrilato-PEG de 4 brazos 15 k en 0,131 ml de ácido acético acuoso al 0,04% que contenía 100 ppm de azul de metileno y se disolvieron 11 mg (0,018 mmol de tiol) de PEG-tiol de 4 brazos 2 k en 0,189 ml de ácido acético acuoso al 0,04%.

30 Al mezclar partes alícuotas de ambas disoluciones de PEG con un tampón de trietanolamina/HCl 0,05 M (pH 8,7) en una relación en volumen de 1 : 1 : 3 se produjo un gel aproximadamente en 2,5 minutos a 25°C.

Al mezclar cualquiera de las 3 formulaciones anteriores con gránulos de HA/TCP (60%/40%) (Straumann Bone Ceramic, Institut Straumann AG, Basilea, Suiza) se produce una masilla granular con propiedades de aplicación similares a aquellas de la formulación del ejemplo 1.

35 Ejemplo 3

Una disolución acuosa de trietanolamina 0,1 M se llevó a pH 8,7 usando ácido clorhídrico 2 M. Se disolvieron acrilato-PEG de 4 brazos 15 k y HS-PEG-SH 3,4 k (ambos de Nektar, Huntsville, AL, EE.UU.) en esta disolución tampón de manera que la concentración total de PEG fue 9,8% en peso y estaban presentes cantidades equimolares de grupos acrilato y tiol. La mitad de la disolución se mezcló con gránulos de HA/TCP (60%/40%) en

una relación de 0,6 ml de líquido por 0,5 g de gránulos. A partir de ambas, la disolución de PEG y la mezcla de disolución de PEG con gránulos, se hizo el vaciado de 6 geles cilíndricos con un diámetro de 6 mm usando moldes de acero inoxidable. Después del curado durante 15 min, se pesaron los geles, se añadieron a un tubo de Falcon que contenía 10 ml de PBS 30 mM (pH 7,4) y se colocaron en baño de agua a 37°C. A intervalos regulares se extrajeron los geles de la disolución tampón, se secaron sobre un material secante y se pesaron. Se comprobó el pH de la disolución tampón y, si el valor se desviaba más de 0,1 del pH 7,4, el tampón se reemplazaba con PBS 30 mM (pH 7,4) nuevo. Se vigiló la desintegración de los geles dividiendo su peso en cada momento de examen entre el peso inmediatamente después de realizar el vaciado. Tanto los geles con gránulos como los geles sin gránulos se degradaron a la misma velocidad y estuvieron completamente degradados aproximadamente a los 11 días (Figura 2), aunque, la adición de gránulos condujo a un hinchamiento notablemente inferior.

La Figura 2 muestra el hinchamiento de las muestras de hidrogeles (9,8% en peso de PEG con y sin gránulos) frente al tiempo en PBS (pH 7,4) a 37°C. Se dan los valores medios de 6 muestras (\pm SD).

Ejemplo 4

Métodos

Se anestesiaron 16 conejos Blancos de Nueva Zelanda adultos (12 meses de edad), que pesaban entre 3 y 4 kg, y recibieron cada uno 4 cilindros de titanio de 7 mm de altura y 7 mm de diámetro exterior, que fueron atornillados en orificios perforados circulares de 1 mm de profundidad hechos en los huesos corticales del cráneo. Se asignaron aleatoriamente las siguientes 4 modalidades de tratamiento: (1) control vacío, (2) una combinación de matriz de PEG y gránulos de hidroxapatita (HA)/fosfato de tricalcio (TCP) (Straumann Bone Ceramic, Institut Straumann AG, Basilea, Suiza), y una combinación de matriz de PEG que contiene uno o otro de 100 (3) o 20 μ g/g de gel (4) de PTH₁₋₃₄ y gránulos de HA/TCP. Inmediatamente antes de la aplicación se disolvieron acrilato-PEG de 4 brazos 15 k y HS-PEG-SH 3,4 k (ambos de Nektar, Huntsville, AL, EE.UU.) en un tampón acuoso de trietanolamina/HCl 0,1 M (pH 8,7), de manera que la concentración total de PEG en ambas disoluciones conjuntamente fue 9,8% en peso y estaban presentes cantidades equimolares de grupos acrilato y tiol. A continuación ambas disoluciones de PEG se esterilizaron por filtración. Para los geles activados, se añadieron también un péptido de 35 aminoácidos de hormona paratiroidea (cys-PTH₁₋₃₄) y un péptido de 9 aminoácidos cys-RGD (ambos de Bachem, Bubendorf, Suiza) a la disolución de acrilato-PEG, dando como resultado la formación de enlaces covalentes entre los restos cisteína y el acrilato-PEG. Las concentraciones finales para los péptidos fueron 350 μ g/g de gel para cys-RGD y 20 ó 100 μ g/g de gel para cys-PTH₁₋₃₄.

A continuación se aplicaron las disoluciones de PEG a los gránulos de AH/TCP y se mezclaron durante aproximadamente 10 segundos. Posteriormente, esta masa granular se aplicó a los cilindros determinados. Dentro de 60 segundos, los geles de PEG fraguaron y con ello se estabilizaron los gránulos de HA/TCP. Los cilindros se dejaron abiertos hacia el lado del hueso pero se cerraron con una tapa de titanio hacia la solapa perióstica de piel de cobertura. Se adaptaron el periostio y la solapa cutánea y se suturaron para curación primaria.

Después de 8 semanas, se sacrificaron los animales y se prepararon secciones trituradas para histología.

Se evaluó histológicamente la formación ósea en los cilindros. Se calcularon los valores medios y las desviaciones típicas para las cantidades de formación ósea dentro de los cilindros, evaluadas una y otra mediante las mediciones por puntos o mediante el área de regeneración de hueso y para el contacto de injerto a hueso. Para análisis estadístico, se usaron ANOVA de medidas repetidas y posterior ensayo-t de Student por pares con valores-p corregidos según Holm's para detectar las diferencias entre las 4 modalidades de tratamiento.

Resultados

Todos los animales mostraron curación sin incidentes del área de cirugía y no se registraron reducciones de pesos corporales. Tras la recuperación del espécimen, 3 cilindros estaban desprendidos del hueso del cráneo debido a la pérdida de fijación y estaban encajados en tejido conjuntivo blando. Estos 3 cilindros, 2 sitios de prueba y un sitio de control, se excluyeron del análisis posterior. Se encontró que los 61 cilindros restantes estaban estables y en la misma posición que en la colocación inicial.

La evaluación histológica cualitativa reveló cantidades variables de hueso formado de nuevo en todos los cilindros sin signos de inflamación. En los cilindros de control vacíos, el tejido aumentado estaba constituido por trabéculas óseas delgadas y grandes espacios de médula. Las trabéculas óseas adyacentes a la superficie de la pared interior de los cilindros estaban orientadas paralelas a la superficie de los cilindros maquinados y con diversos grados de íntimo contacto con ella.

La cantidad de hueso formado de nuevo dentro de los cilindros de control que contienen la matriz de PEG no funcionalizada y los gránulos de HA/TCP solos varió ampliamente. En contraste con los cilindros vacíos, el crecimiento óseo no fue de manera dominante a lo largo de las paredes de titanio y el hueso nuevo estaba mayoritariamente en contacto íntimo con el material en gránulos, que apareció intacto y distribuido regularmente dentro del tejido aumentado. En el tercio de arriba de los cilindros, los gránulos de HA/TCP estaban rodeados

principalmente por tejido no mineralizado. En los dos grupos de prueba, se podía detectar significativamente más hueso formado de nuevo, que alcanzaba parcialmente el tercio de arriba del cilindro.

Se encontró que el área de regeneración de hueso sobre las secciones de los cilindros era la siguiente:

		Área de regeneración de hueso	
Condición	Número de muestras	Media (%)	SE
PEG-PTH 100	16	53,5	5,1
PEG-PTH 20	14	51,1	5,4
PEG	16	34,3	5,1
vacío	15	23,2	5,2

- 5 La Figura 3 muestra las áreas de regeneración de hueso para los diferentes tratamientos así como los niveles de significación.

A partir de estos datos, se concluye que la combinación de un material en gránulos y un hidrogel de polietilenglicol que contiene un péptido unido con enlace covalente de la hormona paratiroidea combinado con gránulos de HA/TCP estimula significativamente el aumento de hueso in situ en conejos.

- 10 Específicamente, la Figura 3 muestra el área de regeneración de hueso para el modelo de cilindro craneal de conejo aplicando gránulos con PEG. Los valores se representan como diagramas de cajas que oscilan desde el cuantilo 25° al 75°, incluyendo la mediana y las marcas que se extienden 1,5 veces el intervalo de intercuartiles.

Ejemplo 5

Métodos

- 15 Se anestesiaron 8 conejos Blancos de Nueva Zelanda adultos (12 meses de edad), que pesaban entre 3 y 4 kg, y recibieron cada uno 4 cilindros de titanio de 7 mm de altura y 7 mm de diámetro exterior, que fueron atornillados en orificios perforados circulares de 1 mm de profundidad hechos en los huesos corticales del cráneo. Se asignaron aleatoriamente las siguientes 4 modalidades de tratamiento: (1) control vacío, (2) una combinación de matriz de PEG que contiene 0,31 mg/ml de RGD unido con enlace covalente y gránulos de hidroxiapatito (HA)/ fosfato de tricalcio (TCP) (Straumann Bone Ceramic, Institut Straumann AG, Basilea, Suiza), y una combinación de matriz de PEG que
20 contiene 0,31 mg/ml de RGD unido con enlace covalente y uno u otro de 15 µg (3) o 30 µg (4) de BMP-2 recombinante no enlazado y gránulos de HA/TCP.

- 25 Inmediatamente antes de la aplicación se disolvieron acrilato-PEG de 4 brazos 15 k y HS-PEG-SH 3,4 k (ambos de Nektar, Huntsville, AL, EE.UU.) en una disolución acuosa de HCl 2 mM para dar una disolución homogénea que contenía cifras equimolares de grupos de acrilato y tiol, que se esterilizaron a continuación por filtración. Se combinaron partes alícuotas de disolución de PEG estéril, una disolución de un péptido de 9 aminoácidos cys-RGD (Bachem, Bubendorf, Suiza), y una disolución de BMP-2 con un tampón de trietanolamina/HCl 0,4 M (pH 8,85) para dar 204 µl de una disolución que contenía 9,8% en peso de PEG, 0,31mg/ml de RGD, y 0, 74, o 147 µg/ml de BMP-2. Esta disolución se aplicó a continuación a 150 mg de gránulos de HA/TCP y se mezcló durante aproximadamente
30 10 segundos. Posteriormente, esta masilla granular se aplicó en los cilindros determinados. Dentro de 60 segundos, los geles fraguaron y con ello se estabilizaron los gránulos de AH/TCP. Los cilindros se dejaron abiertos hacia el lado del hueso pero se cerraron con una tapa de titanio hacia la solapa perióstica de piel de cobertura. Se adaptaron el periostio y la solapa cutánea y se suturaron para curación primaria.

Después de 8 semanas, se sacrificaron los animales y se prepararon secciones trituradas para histología.

- 35 Se evaluó histológicamente la formación de hueso en los cilindros. Se calcularon los valores medios y las desviaciones típicas para las cantidades de formación de hueso dentro de los cilindros, evaluadas mediante las mediciones por puntos o mediante el área de regeneración de hueso.

Resultados

- 40 Todos los animales mostraron curación sin incidentes del área de cirugía y no se registraron reducciones de pesos corporales.

Se encontró que los porcentajes de área de hueso mineralizado sobre las secciones de los cilindros eran las siguientes:

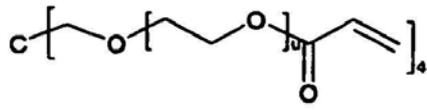
		Hueso mineralizado	
Condición	Número de muestras	Media (%)	SD
PEG-BMP 30 μ g	10	30,2	7,6
PEG-BMP 15 μ g	10	25,0	7,9
PEG	10	15,2	8,0
vacío	9	13,9	5,7

5 La Figura 4 muestra los porcentajes de área de regeneración de hueso para los diferentes tratamientos así como los niveles de significación. A partir de estos datos, se concluye que la combinación de un material en gránulos y un hidrogel de polietilenglicol que contiene un péptido RGD unido con enlace covalente y BMP-2 atrapado, combinada con gránulos de HA/TCP estimula significativamente el aumento de hueso in situ en conejos.

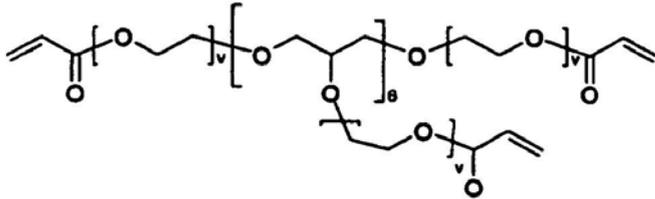
Específicamente, la Figura 4 muestra los porcentajes de hueso mineralizado que se encuentran para el modelo de cilindro craneal de conejo aplicando gránulos con PEG. Los valores se representan como diagramas de cajas que oscilan desde los cuantiles 25° a 75°, incluyendo la mediana y las marcas que se extienden 1,5 veces el intervalo de intercuartiles.

REIVINDICACIONES

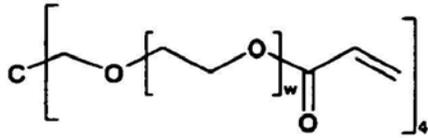
1. Una composición biocompatible que comprende
 - 30 a 60% en peso de un material en gránulos de materiales sintéticos que se seleccionan entre el grupo de hidroxiapatito, fosfato de tricalcio, mezclas de hidroxiapatito y fosfato de tricalcio, vidrio bioactivo, sulfato de calcio y apatito carbonato y una matriz formada por una reacción autoselectiva de al menos dos precursores A y B en presencia de agua, en la que
 - un primer precursor A comprende un núcleo que lleva n cadenas que tienen cada una un grupo insaturado conjugado terminal o un enlace insaturado conjugado terminal y
 - un segundo precursor B comprende un núcleo que lleva m cadenas que tienen cada una un grupo tiol terminal, en los que
 - m es mayor o igual que 2,
 - n es mayor o igual que 2, y
 - m + n es mayor o igual que 5.
2. Composición según la reivindicación 1, en la que el material en gránulos comprende hidroxiapatito y fosfato de tricalcio.
3. Composición según la reivindicación 1, en la que el material en gránulos comprende hidroxiapatito y/o fosfato de tricalcio.
4. Composición según la reivindicación 1 a la 3, en la que la relación en peso de hidroxiapatito/fosfato de tricalcio en el material en gránulos está entre 0,1 y 5,0, preferiblemente entre 1,0 y 4,0, lo más preferiblemente entre 1,0 y 2,0.
5. Composición según la reivindicación 1 a la 4, en la que el contenido de hidroxiapatito en el material en gránulos es al menos 1% en peso, preferiblemente igual o mayor que 15% en peso, lo más preferiblemente igual o mayor que 50% en peso.
6. Composición según la reivindicación 1 a la 5, en la que el núcleo de precursor A es un átomo de carbono, un átomo de nitrógeno, óxido de etileno, un aminoácido o un péptido, un carbohidrato, un alcohol multifuncional, glicerol u oligoglicerol.
7. Composición según la reivindicación 1 a la 6, en la que el núcleo de precursor B es un átomo de carbono, un átomo de nitrógeno, óxido de etileno, un aminoácido o un péptido, un carbohidrato, un alcohol multifuncional, glicerol u oligoglicerol.
8. Composición según la reivindicación 6, en la que el núcleo de precursor A es un átomo de carbono, una unidad de óxido de etileno, glucosa, D-sorbitol, pentaeritritol, glicerol o hexaglicerol.
9. Composición según la reivindicación 7, en la que el núcleo de precursor B es un átomo de carbono, una unidad de óxido de etileno, un péptido, glucosa, D-sorbitol, pentaeritritol, glicerol o hexaglicerol.
10. Composición según la reivindicación 9, en la que el péptido comprende uno o más sitios de degradación enzimática.
11. Composición según la reivindicación 1 a la 10, en la que el precursor B comprende un péptido que comprende uno o más sitios de degradación enzimática.
12. Composición según la reivindicación 1 a la 11, que comprende un tercer precursor que comprende o es un péptido, en la que el péptido comprende uno o más sitios de degradación enzimática.
13. Composición según la reivindicación 1 a la 12, en la que el grupo insaturado conjugado o el enlace insaturado conjugado del primer precursor A es un acrilato, una acrilamida, una quinina, un 2- o 4-vinilpiridinio, vinilsulfona, maleimida o un éster de itaconato.
14. Composición según la reivindicación 13, en la que el grupo insaturado conjugado o el enlace insaturado conjugado del primer precursor A es un acrilato.
15. Composición según la reivindicación 1 a la 14, en la que el primer precursor A se selecciona entre el grupo que consiste en



$u = 5$ a 30 ; fórmula A1

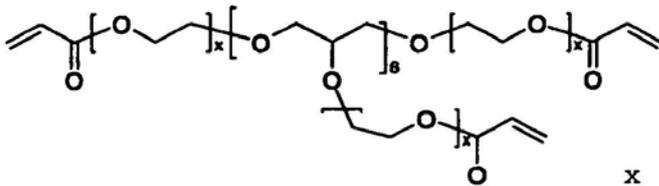


$v = 2$ a 16 ; fórmula A2

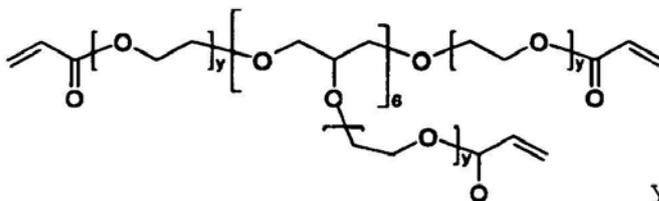


$w = 30$ a 200 ; fórmula A3

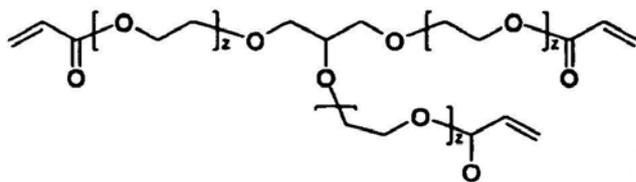
5



$x = 10$ a 60 ; fórmula A4

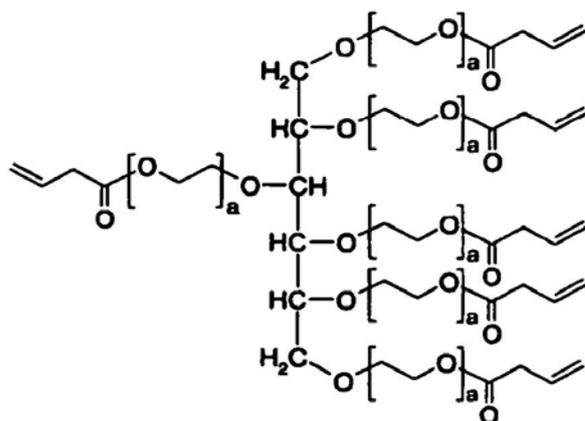


$y = 20$ a 130 ; fórmula A5



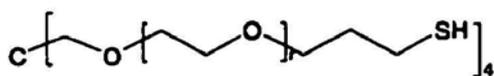
$z = 45$ a 270 ; fórmula A6

10



a = 5 a 200, preferiblemente 7
a 150, lo más preferiblemente 20 a 80; fórmula A7

16. Composición según la reivindicación 1 a la 15, en la que el precursor B comprende un resto tiol.
17. Composición según la reivindicación 1 a la 16, en la que el segundo precursor B se selecciona entre el grupo que consiste en

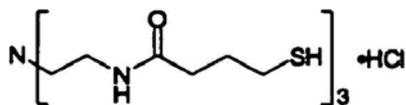


r = 4 a 30; fórmula B1

5

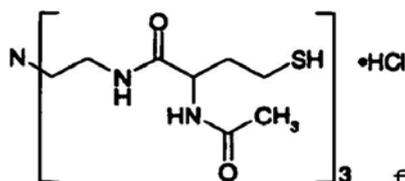


s = 30 a 180; fórmula B2

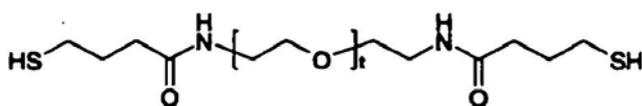


fórmula B3

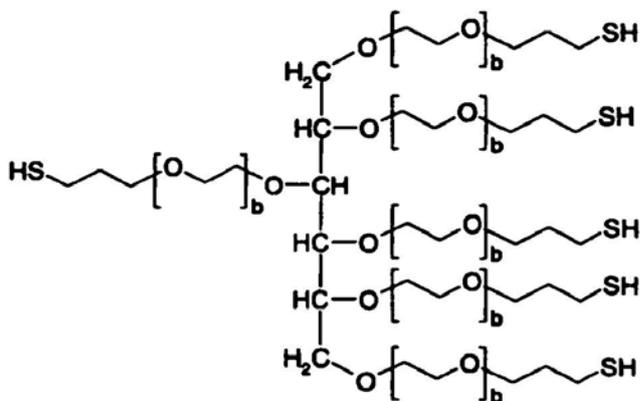
10



fórmula B4



t = 30 a 190; fórmula B5



b = 5 a 200, preferiblemente 7 a 150, lo más preferiblemente 20 a 80; fórmula B6

18. Composición según la reivindicación 1 a la 17, en la que los precursores A y/o B comprenden cadenas que tienen peso molecular entre 500 y 100.000 Da, preferiblemente entre 1000 y 50.000 Da, lo más preferiblemente entre 2000 y 30.000 Da.
- 5 19. Composición según la reivindicación 1 a la 18, en la que las cadenas de precursor A y/o B son un polímero que se selecciona entre el grupo que consiste en poli(alcohol vinílico), poli(óxidos de etileno), poli(etilenglicol), poli(poliolios oxietilados), poli(sorbitol oxietilado), poli(glucosa oxietilada), poli(oxazolona), poli(acrilol-morfolina), poli(vinilpirrolidona), y mezclas de las mismas.
20. Composición según la reivindicación 1 a la 19, en la que las cadenas de precursor A y/o B son poli(etilenglicol).
- 10 21. Composición según la reivindicación 1 a la 20, en la que la composición comprende al menos un factor bioactivo unido mediante enlace covalente a la matriz o atrapado en la composición.
22. Composición según la reivindicación 21, en la que el factor bioactivo comprende un tiol.
23. Composición según la reivindicación 21 o la 22, en la que el factor bioactivo se selecciona entre el grupo que consiste en hormonas paratiroides (PTH), péptidos basados en PTH, fragmentos de péptidos de PTH, péptidos que comprenden un tripéptido RGD, familia del factor de crecimiento transformante beta (TGF β), familia de proteínas morfogenéticas óseas (BMP), familia del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), familia del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), familia del factor de crecimiento de tipo insulina (IGF), familia del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), proteínas y péptidos derivados de la matriz del esmalte (EMD), prostaglandina E₂ (PGE₂) y dentonina.
- 15 24. Composición según la reivindicación 23, en la que el factor bioactivo se selecciona entre el grupo que consiste en hormonas paratiroides (PTH), péptidos basados en PTH y fragmentos de péptidos de PTH.
- 25 25. Composición según la reivindicación 23 o la 24, en la que el factor bioactivo es Cys (PTH₁₋₃₄).
26. Composición según la reivindicación 23, en la que la proteína o péptido derivado de la matriz del esmalte (EMD) se selecciona entre el grupo que consiste en amelogenina, amelina, tuftelina, ameloblastina, enamelina y sialoproteína dentinaria.
27. Composición según la reivindicación 23, en la que el factor bioactivo es H-Gly-Cys-Gly-Arg-Gly-Asp-Ser-Pro-Gly-NH₂.
28. Kit para preparar una composición según la reivindicación 1 a la 27, que comprende
- (i) 30 a 60% en peso de un material en gránulos, y
- 30 (ii) un precursor A, y
- (iii) un precursor B,
- en el que el material en gránulos, el precursor A y el precursor B son como se definen en la reivindicación 1, como componentes que se almacenan individualmente.
29. Kit según la reivindicación 28 que comprende

(iv) al menos un factor bioactivo, en el que el factor bioactivo se define según las reivindicaciones 19 a 25, como un componente adicional que se almacena individualmente.

30. Kit según la reivindicación 28 o la 29, en el que el material en gránulos y el precursor A se almacenan como premezcla.
- 5 31. Kit según la reivindicación 28 o la 29, en el que el material en gránulos y el precursor B se almacenan como premezcla.
32. Kit según la reivindicación 29, en el que el precursor B y el factor bioactivo se almacenan como premezcla.
33. Kit según la reivindicación 29, en el que el factor bioactivo se almacena en forma liofilizada.
34. Kit según la reivindicación 29, en el que el factor bioactivo se almacena en disolución tampón adecuada.
- 10 35. Procedimiento para preparar una composición según la reivindicación 1 a la 27, mezclando el material en gránulos, el precursor A y el precursor B en presencia de agua en un recipiente adecuado.
36. Procedimiento para preparar una composición según la reivindicación 1 a la 27
 - a) mezclando el precursor A, el precursor B y el factor bioactivo en presencia de agua en un recipiente adecuado y
 - 15 b) añadiendo y mezclando el material en gránulos con la premezcla obtenida en la etapa a).
37. Composición según la reivindicación 1 a la 27 para uso como material de reparación de hueso y/o aumento de hueso.

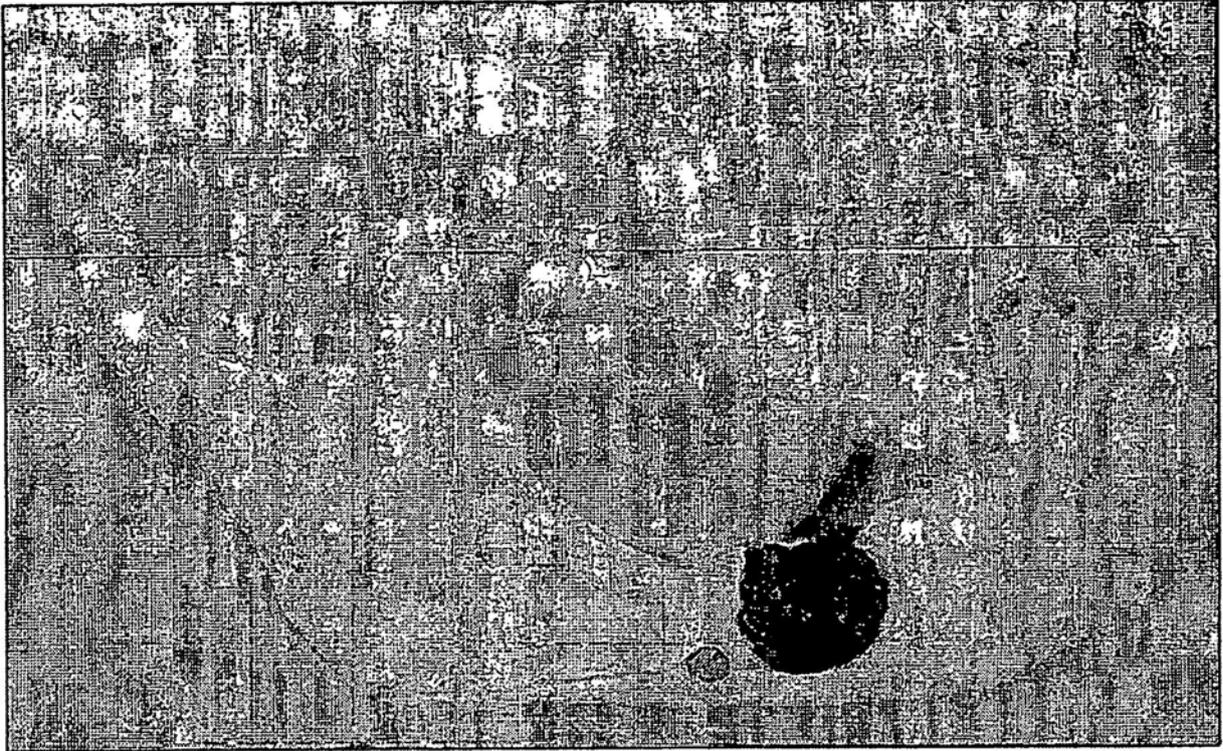


Figura 1

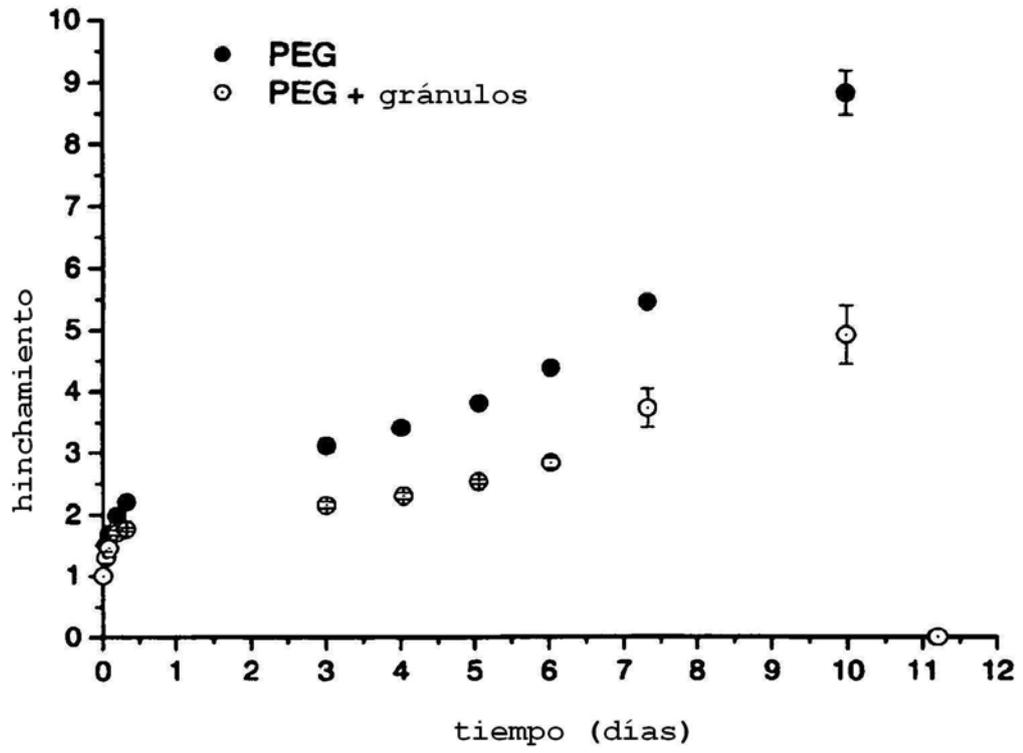


Figura 2

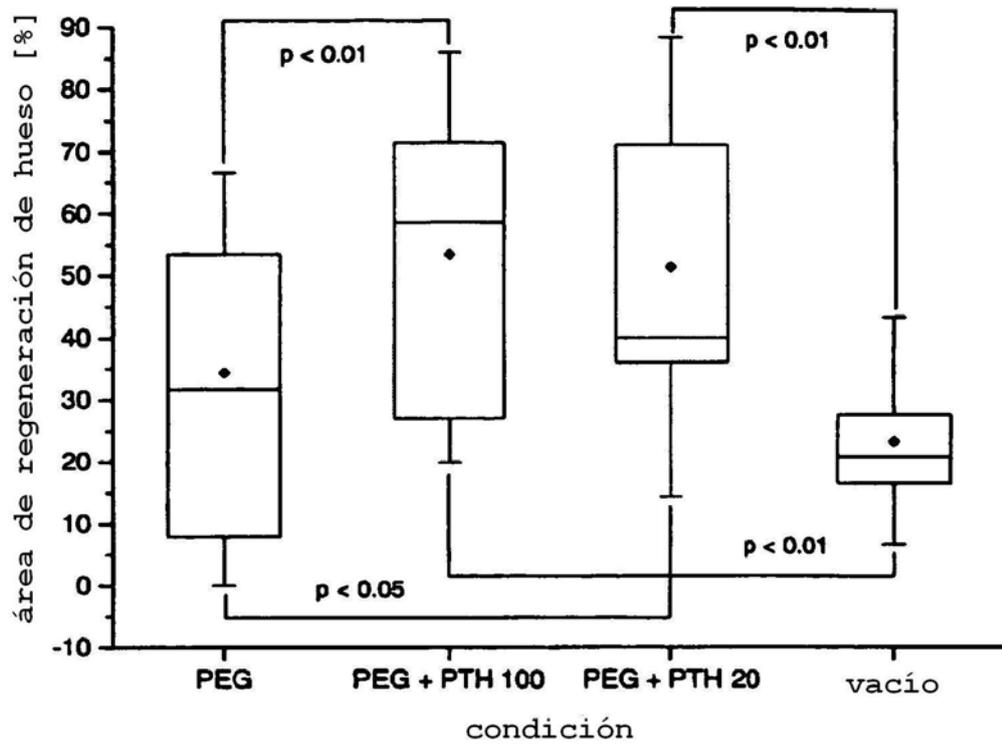


Figura 3

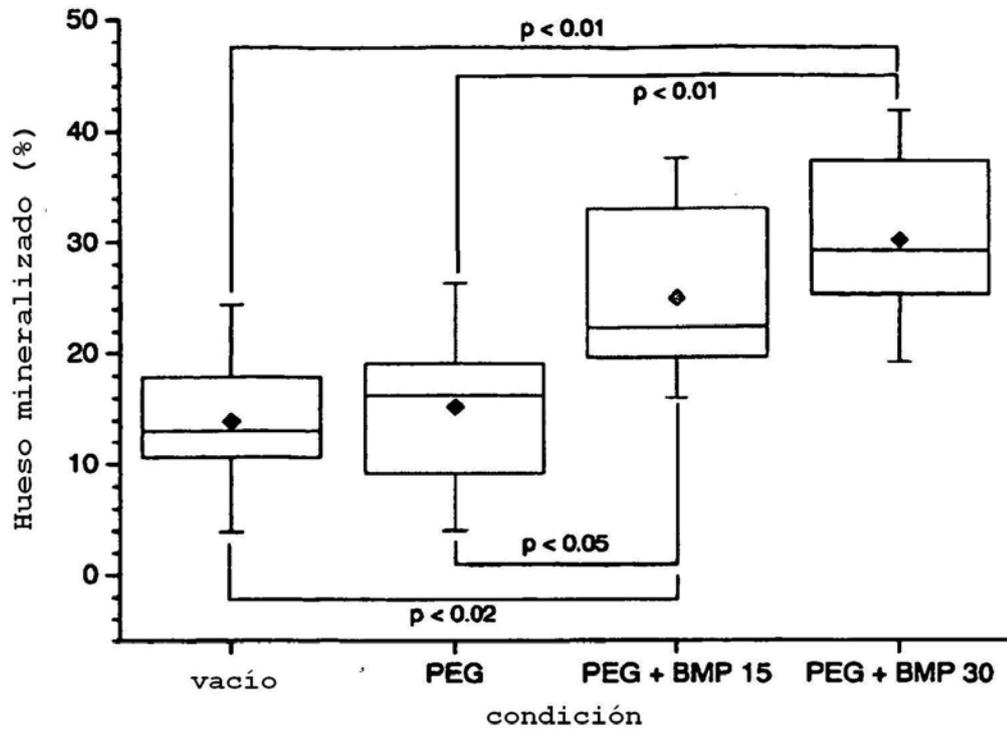


Figura 4