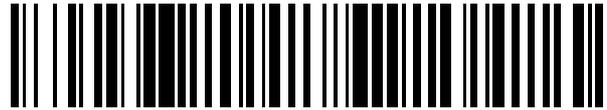


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 515 118**

51 Int. Cl.:

**A61L 27/22** (2006.01)  
**A61L 27/26** (2006.01)  
**A61L 27/46** (2006.01)  
**A61L 27/48** (2006.01)  
**A61L 27/50** (2006.01)  
**A61L 27/52** (2006.01)  
**C08L 89/00** (2006.01)  
**A61L 27/36** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.12.2007 E 07862509 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.08.2014 EP 2099400**

54 Título: **Materiales de relleno para huecos óseos y procedimientos de fabricación de los mismos**

30 Prioridad:

**06.12.2006 US 873025 P**  
**02.05.2007 US 924171 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**29.10.2014**

73 Titular/es:

**KERATEC LIMITED (50.0%)**  
**Canterbury Agriculture & Science Centre Gerald**  
**Street, Lincoln 7608 P.O. Box 136**  
**Canterbury 7640, NZ y**  
**WEBER, JEFFREY A. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**KELLY, ROBERT JAMES;**  
**MARSH, CLIVE;**  
**ALI, MOHAMMAD AZAM y**  
**VORWERK, SIGRID EDITH**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 515 118 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**

Materiales de relleno para huecos óseos y procedimientos de fabricación de los mismos

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a materiales que comprenden queratina soluble que sirven para rellenar huecos óseos, proporcionar componentes beneficiosos a los huecos óseos y mejorar la formación de hueso. El material puede ser una masilla que comprenda queratina soluble que se puede moldear y sea capaz de rellenar espacios de huecos conformados irregulares. El material también puede ser un gel que comprende queratina soluble y se pueda inyectar y sea apto para inyección directamente en el interior de un sitio defectuoso y mejora la formación de hueso. En un aspecto de la presente invención, se formulan la masilla y el gel para ser soportes apropiados para una matriz

10 ósea desmineralizada. Cada uno de los materiales también puede comprender además componentes adicionales, tales como material cerámico, factores de crecimiento, hemocitoblastos, fármacos, etc., para mejorar, por ejemplo las características de manipulación del material y la capacidad para mejorar la formación de hueso. La presente invención también va destinada a un procedimiento para preparar cada uno de los materiales.

**Antecedentes de la invención**

15 Los episodios genéticos, quirúrgicos, traumáticos y cancerosos son justo unos ejemplos que pueden conducir a huecos o fisuras de huesos. En determinados casos, estos huecos óseos pueden quedar sin relleno, ya que el hueco no supone un peligro físico para el individuo. No obstante, en dichos casos, el individuo puede experimentar una sensación de incomodidad debido al orificio que queda, por ejemplo, en el interior de su cerebro tras un procedimiento quirúrgico. En otros casos, es necesario rellenar el hueco debido a que, por ejemplo, la presencia del

20 hueco provoca un grado de inestabilidad en el área circundante. En estos casos, los huecos se rellenan con un material que contribuya a proporcionar la estabilidad deseada.

Un material preferido para rellenar por un lado los huecos que requieren el relleno desde el punto de vista de salud física del individuo y por otro, los que no requieren el relleno, proporciona la estabilidad necesaria y también contribuye a la formación de nuevo hueso que finalmente sustituye el material de relleno óseo y elimina el hueco de

25 forma permanente. De este modo, el material preferido debería ser osteogénico (que forma hueso), osteoinductor (estimula la formación de células óseas) y osteoconductor (proporciona un entorno para que las células formen nuevo hueso).

También resulta beneficioso si el material es capaz de servir de manera eficaz como soporte de otros agentes beneficiosos, por ejemplo, un agente que mejore la formación de hueso cuando se suministra al hueco o defecto

30 óseo.

Además, el material debería ser estéril, fácil de manipular, permanece unido cuando se conforma o permanece unido cuando se lava con disolución salina. El material debe ser moldeable o no moldeable, dependiendo de la aplicación, y cuando es moldeable el material debería ser capaz de recuperar su forma.

No obstante, hasta la fecha, ninguno de los materiales de relleno óseo existentes logra todas estas características deseables.

35

El documento WO 99/26570 divulga una mezcla de queratina soluble e insoluble parcialmente oxidada como material de relleno, pero no divulga una proteína soluble de queratina sulfonada-S. El documento US 2003/035820 divulga el tratamiento de queratina con ácido peracético, pero no existe divulgación sobre queratina sulfonada-S.

**Sumario de la invención**

40 Se ha descubierto, por parte de los inventores de la presente solicitud, que diferentes formas de un material que comprende una proteína de queratina soluble proporcionan un material de relleno óseo que posee muchos, si no todos, los atributos deseables comentados anteriormente para un material de relleno óseo. El material puede estar en forma de masilla que comprende una proteína de queratina soluble o un gel que comprende una proteína de queratina soluble. Estos materiales sirven para relleno de un hueco óseo, proporcionan un grado de estabilidad al

45 hueco óseo, mejoran la formación ósea y/o proporcionan agentes beneficiosos al sitio del defecto. También se divulgan en la presente memoria procedimientos de formación de los materiales.

La primera realización de la presente invención va destinada a una masilla o gel para relleno de huecos óseos que comprende una proteína de queratina sulfonada-S soluble y una proteína de queratina insoluble. La masilla puede incluir opcionalmente fragmentos óseos autólogos, plastificantes y materiales cerámicos para mejorar las

50 características de manipulación y/o para mejorar las capacidades de formación ósea de la masilla.

La masilla o el gel, además de servir como material de relleno óseo, puede ser un soporte apropiado para una matriz ósea desmineralizada que comprende 10-40 % en peso de proteína de queratina sulfonada-S soluble, 25-80 % en peso de agua, y una proteína de queratina soluble en una cantidad de hasta 5 % en peso.

La segunda realización de la presente invención va destinada a un procedimiento para preparar la masilla o gel de la

primera realización. El procedimiento comprende las etapas de preparar una disolución acuosa de proteína de queratina sulfonada-S soluble y posteriormente mezclar la disolución acuosa con queratina insoluble. Se pueden añadir otros componentes opcionales para mejorar las características de manipulación y mejorar el crecimiento óseo.

## 5 Descripción detallada de las realizaciones referidas

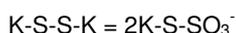
En una primera realización de la presente invención, se divulga una masilla para su uso como material de relleno de huecos óseos. La masilla comprende una proteína de queratina sulfonada-S soluble, y puede comprender además componentes adicionales para mejorar las características de manipulación y/o la mejora del hueso.

10 Por masilla se entiende una sustancia que tiene una consistencia uniforme que es sólida pero que se puede moldear y se puede plegar. La masilla de la presente invención se puede moldear y conformar. Preferentemente, la masilla es capaz de recuperar su forma.

15 La queratina es una familia de proteínas que se caracteriza por un elevado grado de amino ácido de cistina, que confiere un elevado grado de reticulación a las proteínas de queratina a través de los enlaces disulfuro. Las proteínas de queratina son también proteínas altamente ordenadas que proporcionan un papel estructural fundamental a muchos tejidos biológicos. La naturaleza fibrosa de las queratinas proporciona una buena base para la construcción de redes ordenadas y materiales robustos. Las proteínas de queratina se adaptan particularmente bien a la formulación o líquidos viscosos y masillas, debido a las proteínas fibrosas ordenadas y a la tendencia de las proteínas fibrosas a interaccionar. Además, la presencia de reticulaciones de disulfuro proporciona un grado de resiliencia frente a la degradación enzimática en el cuerpo, lo que permite mantener cualquier material suministrado en la queratina en un punto particular durante un período de tiempo controlable.

20 La queratina favorece el nuevo crecimiento óseo, puede proporcionar grados variables de aptitud de moldeo, y se mantiene unida cuando se manipula y cuando se lava con disolución salina. La queratina recupera su forma, se puede esterilizar y presenta un riesgo bajo de enfermedad. Por consiguiente, la queratina resulta especialmente apropiada para su uso como material de relleno óseo que favorece un mayor crecimiento óseo.

25 Debido a que la queratina es insoluble de forma natural, se debe modificar químicamente para producir una proteína de queratina soluble. La queratina soluble es una proteína de queratina sulfonada-S. La queratina sulfonada-S se refiere a una proteína de queratina que experimenta un proceso en el que los enlaces de disulfuro que existen entre el amino ácido de cistina de la proteína de queratina se modifican de forma reversible para crear grupos funcionales polares que permiten la re-introducción controlada de las reticulaciones de disulfuro naturales originalmente presentes en la proteína de queratina. El mecanismo de modificación del enlace de disulfuro de cistina hasta sulfonato-S de cisteína se recoge a continuación, en el que K es queratina:



Se puede preparar una proteína de queratina sulfonada-S por medio de una variedad de procedimientos, incluyendo los descritos en el documento WO 2003/011894.

35 Como se ha comentado anteriormente, las queratinas sulfonadas-S tienen cisteína/cistina presentes de manera predominante en forma de S-sulfocisteína. Este grupo altamente polar confiere un grado de solubilidad a las proteínas. Aunque es estable en disolución, el grupo sulfo-S es un derivado de cisteína apto, altamente reactivo hasta tioles, tal como cisteína, y otros agentes reductores. La reacción con agentes reductores conduce a la conversión del grupo de S-sulfo cisteína de nuevo en cistina. La S-sulfo cisteína es diferente químicamente del ácido cisteico, aunque ambos grupos contienen el grupo  $SO_3^-$ . Se produce ácido cisteico de manera irreversible por medio de oxidación de cisteína o cistina y, una vez formado, no puede formar reticulaciones de disulfuro de nuevo para dar lugar a cistina. La S-sulfocisteína es reactiva hasta cisteína y forma fácilmente reticulaciones de disulfuro.

40 La proteína de queratina soluble puede ser de 4-25 % en peso de la masilla y del modo más preferido 13,5 % en peso de la masilla.

45 Preferentemente, la proteína de queratina que se hace soluble por medio del mecanismo anteriormente mencionado es una fracción de proteína de queratina. Las fracciones de proteína de queratina son grupos distintos dentro de la familia de proteínas de queratina, e incluyen proteínas de filamento intermedias, proteínas de alto contenido de azufre y proteínas de alto contenido de glicina-tirosina conocidas en la técnica.

50 Las proteínas de filamento intermedias son un primer tipo de fracción de proteína de queratina y se describen con detalle por Orwin et al. (Structure and Biochemistry of Mammalian Hard Keratin, Electron Microscopy Reviews, 4, 47, 1991) y también se denominan proteínas de bajo contenido en azufre por parte de Gillespie (Biochemistry and physiology of the skin, vol. 1, Ed. Goldsmith Oxford University Press, Londres, 1983, pp. 475-510). Las características clave de la familia de proteína de filamento intermedias son de peso molecular dentro del intervalo de 40-60 kD y un contenido de cisteína (medido como cisteína media) de aproximadamente 4 %.

55 La familia de proteínas de elevado contenido de azufre es otro tipo de fracción de proteínas de queratina que se

describe bien por Orwin y Gillespie en las mismas publicaciones referenciadas anteriormente. Esta familia de proteínas tiene un elevado grado de heterogeneidad, pero se pueden caracterizar por tener un peso molecular dentro del intervalo de 10-30 kD y un contenido de cisteína mayor que 10 %. Un subgrupo de esta familia son las proteínas de contenido de azufre ultra-elevado, que pueden tener un contenido de cisteína de hasta 34 %. La familia de proteínas de elevado contenido de glicina-tirosina es otro tipo de fracción de proteínas de queratina que se describe bien por parte de Orwin y Gillespie en las mismas publicaciones referenciadas anteriormente. Esta familia también se denomina proteínas de alto contenido de tirosina y tienen las características de un peso molecular menor que 10 kD, un contenido de tirosina normalmente mayor que 10 %, y un contenido de glicina normalmente mayor que 20 %.

5 Para los fines de la presente invención, una "fracción de proteína de queratina" es una forma purificada de queratina que contiene de forma predominante, aunque no por completo, un grupo proteico diferente al que se ha descrito anteriormente.

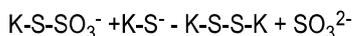
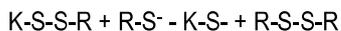
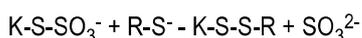
15 La proteína de queratina soluble de la primera realización también puede estar intacta. El término intacto se refiere a proteínas que no se han hidrolizado de forma significativa, definiéndose la hidrólisis como la escisión de enlaces a través de la adición de agua. Gillespie considera intacto para hacer referencia a proteínas en estado polimérico queratinizado y además se refiere a subunidades de polipéptido que experimentan formación de complejos para formar una queratina intacta en lana y cabellos. Para los fines de la presente invención, intacto se refiere a las subunidades de polipéptido descritas por Gillespie. Estas son equivalentes a las proteínas de queratina en su forma nativa sin las reticulaciones de disulfuro formadas a través del proceso de queratinización.

20 Las proteínas de queratina intactas y las fracciones de proteína de queratina se comentan con más detalle en la Solicitud de Patente de EE.UU. N°. Serie 10/583.445, en trámite junto con la presente, presentada el 19 de junio de 2006, número de publicación US 2008/0038327.

25 Preferentemente, la proteína de queratina insoluble está en disolución siendo la disolución cualquier disolución apropiada para su uso en la consolidación ósea, tal como agua. Preferentemente, el agua es de 20 a 40 % en peso de la masilla y del modo más preferido de 29,4 % en peso de la masilla.

30 La masilla además comprende proteínas de queratina insolubles. La proteína de queratina insoluble espesa la masilla para proporcionar la consistencia apropiada a la masilla. Como se ha comentado anteriormente, la consistencia apropiada de masilla es tal que material es sólido, pero se puede moldear y plegar, y preferentemente es capaz de recuperar su forma. Preferentemente, la proteína de queratina insoluble es queratina sulfonada-S reticulada o queratina lantionizada.

En el caso de proteína de queratina sulfonada-S, la conversión de la forma de sulfonato-S en forma de disulfuro se considera reticulación y se puede conseguir por medio de la aplicación de condiciones reductoras, por ejemplo, por medio de la aplicación de un tiol. El mecanismo para el reformado de las reticulaciones en la proteína de queratina sulfonada-S se puede resumir como se muestra a continuación, en el que K es queratina y R es un agente reductor.



35 La lantionización se refiere a la transformación de enlaces de cistina en enlaces de lantionina. Los enlaces de lantionina son un análogo de monosulfuro de cistina.

40 En la masilla, la proteína de queratina insoluble puede ser de 15 a 60 % en peso de la masilla de la primera realización y, del modo más preferido, 45,1 % en peso de la masilla. Se pueden añadir otros componentes que afectan a la consistencia de la masilla, incluyendo plastificantes (tales como glicerol), aceite vegetal y derivados de celulosa (tales como celulosa alquilada y metil celulosa). Estos componentes se pueden añadir a la masilla en cualquier cantidad, pero preferentemente se añaden en pequeñas cantidades, por ejemplo, de 0 a 3 % en peso de la masilla. La masilla también puede comprender conservantes, por ejemplo una mezcla de parabeno y fenoxietanol, en pequeña cantidad (es decir, menos de 1 % en peso del masilla).

45 La masilla de la primera realización puede comprender otros componentes adicionales que contribuyen a mejorar la tasa de crecimiento óseo y/o a mejorar las características físicas de la masilla.

50 Por ejemplo, la masilla puede también comprender un material cerámico. Se ha demostrado que la queratina y las composiciones cerámicas proporcionan un entorno favorable para la consolidación ósea. Al proporcionar una matriz rica tanto en proteínas como en minerales necesarios para la consolidación ósea, se han observado resultados de consolidación positivos sobre la inclusión de composiciones cerámicas de queratina en puntos que presentan lesión

ósea, véase por ejemplo Kelly et al., WO 03/103737 A1.

- El material cerámico puede ser cualquier material cerámico que sea apropiado para su uso en la composición de consolidación ósea. Materiales cerámicos apropiados incluyen materiales cerámicos vítreos y fosfato de calcio, tal como fosfato de octacalcio, apatitas, hidroxiapatita, apatita de carbonato, wiloquitias, fosfato de  $\beta$ -tricalcio y fosfato de  $\alpha$ -tricalcio y sulfato de calcio. En una realización preferida de la presente invención, el material cerámico es sulfato de calcio, fosfato de calcio, fosfato de tricalcio o hidroxiapatita. Se usa el material cerámico en una cantidad tal que proporciona características físicas útiles, tales como manipulación mejorada, al tiempo que no modifica las características de consolidación ósea de la masilla. Se puede añadir material cerámico a la masilla dentro del intervalo de 0 a 15 % en peso de la masilla, y del modo más preferido de 10 % en peso de la masilla.
- También se pueden añadir factores de crecimiento a la masilla anteriormente descrita. Específicamente, se pueden usar factores de crecimiento conocidos para favorecer el crecimiento óseo. Ejemplos de factores de crecimiento óseo apropiados incluyen proteína morfogenética ósea (BMP), factor de crecimiento epidérmico (EGF) y factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), incluyendo cualquier proteína o formas de ADN de codificación. Con respecto a BMP, estos factores de crecimiento funcionan para inducir la formación ósea, pertenecen a la familia de Factor-beta de Crecimiento de Transformación (TGF-beta) y se encuentran comercialmente disponibles a partir de compañías tales como Antigenix Amercia, Huntington Station, NY.
- También se pueden añadir antioxidantes a la masilla de la primera realización. Los antioxidantes apropiados incluyen, pero sin limitarse a, alcoholes tales como sorbitol, compuestos de azufre, tales como glutatión y n-acetil cisteína, agentes de neutralización de radicales libres, enzimas tales como superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, betacaroteno, licopeno y vitaminas A, C y E.
- También se puede añadir material de autoinjerto y aloinjerto a la masilla de la primera realización. Los materiales de autoinjerto incluyen, pero sin limitarse a, hueso cortical o esponjoso extraído a partir de huesos largos. Los materiales de aloinjerto apropiados incluyen, pero sin limitarse a, matriz ósea desmineralizada.
- En un ejemplo específico de material de aloinjerto usado en la masilla ósea descrita anteriormente, el tejido óseo esponjoso y el tejido óseo cortical se usan en la masilla ósea. El tejido óseo cortical y esponjoso se extrae a partir de un banco óseo, tal como en NSW Bone Bank ubicado en Kogarah, NSW, Australia, y se congela nuevo. Posteriormente, se prepara el tejido en condiciones asépticas en un espacio limpio y se esteriliza por medio de radiación gamma. Se puede usar cualquier cantidad apropiada de la mezcla y tejido esponjoso y cortical en combinación con la masilla de la primera realización. Los fragmentos de hueso cortical y esponjoso también se pueden mezclar con los propios fragmentos óseos de los receptores durante la cirugía.
- También se pueden añadir hemocitoblastos y terapias celulares a la masilla de la primera realización. Se puede incluir cualquier hemocitoblasto conocido que sea capaz de actuar para formar hueso u otras células, en la masilla de la primera realización. Esto incluye medios para actuar de soporte para la proliferación de estas células. La masilla también puede incluir terapias de células dendríticas y otras células terapéuticas.
- También se pueden añadir fármacos a la masilla de la primera realización. Ejemplos de fármacos apropiados para su uso en la masilla incluyen, pero sin limitarse a, antibióticos, tales como penicilina y cefaloporina, agentes de crecimiento/anti-osteoporosis tales como hormona paratiroides, estatinas y teriparatida, y agentes para tratar enfermedades óseas.
- También se pueden añadir terapias basadas en ADN y ARN a la masilla de la primera realización. Las terapias basadas en ADN y ARN apropiadas para su uso en la masilla de la primera realización incluyen, pero sin limitarse a, moléculas de ARN, nucleótidos anti-sentido, y ADN de copia que codifica proteínas activas óseas.
- Los anticuerpos también se pueden añadir a la masilla de la primera realización. Los anticuerpos apropiados para su uso en la masilla de la primera realización incluyen, pero sin limitarse a, los anticuerpos que pueden ser efectores positivos o negativos del crecimiento óseo. Por ejemplo, un anticuerpo frente a un antagonista BMP estimula el desarrollo óseo y sería apropiado para su uso como masilla para huecos óseos de la primera realización.
- Los componentes adicionales descritos anteriormente de la masilla pueden estar presentes en la masilla en cualquiera cantidad que permita que el componente añadido tenga un efecto beneficioso de mejora del crecimiento óseo o que proporcione una estabilidad física mejorada o características de manipulación, al tiempo que no altere de forma significativa la estabilidad o forma del material de masilla.
- Cuando se aplica la masilla que se ha descrito anteriormente a un hueco óseo, se pueden añadir los fragmentos de hueso autólogo a la masilla de la primera realización antes de introducir la masilla en un hueco óseo. Preferentemente, los fragmentos óseos autólogos añadidos a la masilla antes de la aplicación se añaden a una tasa de hasta 0,5 gramos de fragmentos óseos por cada 1 gramo de masilla.
- En una segunda realización de la presente invención, se divulga un gel para su uso como material de relleno de huecos óseos. El gel comprende una proteína de queratina sulfonada-S soluble, y puede además comprender componentes adicionales para mejorar las características de manipulación y/o la mejora del hueso.

La proteína de queratina soluble puede ser de 4-25 % en peso del gel.

5 Como se ha descrito anteriormente con respecto a la primera realización, la proteína de queratina convertida en soluble por medio de los mecanismos anteriormente mencionados es preferentemente una fracción de proteína de queratina. La proteína de queratina soluble de la segunda realización puede también estar intacta como se ha descrito anteriormente con respecto a la primera realización.

Preferentemente, la proteína de queratina soluble está en una disolución, siendo la disolución cualquier disolución apropiada para su uso en la consolidación ósea, tal como agua. Preferentemente, el agua es de 20 a 50 % en peso del gel.

10 Como con el caso de la masilla de la primera realización, el gel de la segunda realización comprende proteína de queratina insoluble, que preferentemente es queratina lantionizada o queratina sulfonada-S reticulada. La proteína de queratina insoluble puede ser de 10 a 60 % en peso del gel.

15 Se pueden añadir otros componentes que afectan a la consistencia del gel, incluyendo plastificantes (tales como glicerol), aceite vegetal y derivados de celulosa (tales como celulosa alquilada y metil celulosa). Preferentemente, estos componentes se añaden en cantidades pequeñas, por ejemplo, de 0 a 3 % en peso del gel. El gel también puede comprender conservantes, por ejemplo, una mezcla de parabeno y fenoxietanol en pequeña cantidad (es decir, menos de 1 % en peso del gel).

20 El gel de la segunda realización puede comprender componentes adicionales que contribuyen a mejorar la tasa de desarrolló óseo y/o que contribuyen a mejorar las características físicas del gel. Por ejemplo, el gel también puede comprender un material cerámico como se ha comentado anteriormente en la primera realización, y/o antioxidantes de factores de crecimiento, materiales de aloinjerto y autoinjerto, hemocitoblastos y terapias celulares, fármacos, terapias basadas en ADN y ARN y anticuerpos como se ha comentado anteriormente en la primera realización.

25 Cuando se aplica el gel que se ha descrito anteriormente a un hueso óseo, se pueden añadir fragmentos óseos autólogos al gel de la segunda realización antes de introducir el gel en el hueso óseo. Los fragmentos óseos autólogos añadidos al gel antes de la aplicación se añaden preferentemente a una tasa de 0,5 gramos de fragmentos óseos por cada 1 gramo de gel.

También se divulga la masilla para su uso como material de relleno para huecos óseos que es un soporte apropiado para la matriz ósea desmineralizada. La masilla comprende proteína de queratina sulfonada-S soluble, y puede comprender además componentes adicionales para mejorar las características de manipulación y/o la mejora ósea.

La queratina soluble es queratina sulfonada-S, como se ha descrito anteriormente.

30 La proteína de queratina soluble puede ser 15-45 % en peso de la masilla y del modo más preferido 28,1 % en peso de la masilla.

35 La proteína de queratina convertida en soluble por medio de uno de los mecanismos anteriormente mencionados es preferentemente una fracción de proteína de queratina. Preferentemente, la fracción de proteína de queratina es una proteína de filamento intermedia, una proteína de alto contenido de azufre o una proteína de alto contenido de glicina-tirosina. Preferentemente, la proteína de queratina soluble está intacta como se ha descrito anteriormente.

Preferentemente, la proteína de queratina soluble está en disolución, siendo la disolución cualquier disolución apropiada para su uso en la consolidación ósea, tal como agua. Preferentemente, el agua está en 25 a 75 % en peso de la masilla y del modo más preferido 66 % en peso de la masilla.

40 La masilla comprende además proteína de queratina insoluble, que espesa la masilla hasta una consistencia apropiada. Preferentemente, la proteína de queratina insoluble es queratina sulfonada-S reticulada o queratina lantionizada como se comenta con más detalle a continuación.

La proteína de queratina insoluble está en una cantidad de hasta 5 % en peso de la masilla, y del modo más preferido de 1,9 % en peso de la masilla.

45 Se pueden añadir otros componentes que afectan a la consistencia de la masilla, incluyendo plastificantes (tales como glicerol), aceite vegetal y derivados de celulosa (tales como celulosa alquilada y metil celulosa). Estos componentes se pueden añadir a la masilla en una cantidad apropiada, pero preferentemente se añaden en pequeñas cantidades, por ejemplo, de 0 a 5 % en peso de la masilla. La masilla también puede comprender conservantes, por ejemplo, una mezcla de parabeno y fenoxietanol, en una cantidad pequeña (es decir, menos de 1 % en peso de la masilla).

50 La masilla puede además comprender componentes adicionales que contribuyen a mejorar la tasa de crecimiento óseo y/o que contribuyen a mejorar las características físicas de la masilla. Por ejemplo, la masilla también puede comprender un material cerámico como se ha comentado anteriormente en la primera realización, y/o factores de crecimiento, antioxidantes, materiales de autoinjerto o aloinjerto, hemocitoblastos y terapias celulares, fármacos, ADN y terapias basadas en ADN y anticuerpos como se ha comentado anteriormente en la primera realización.

Los componentes adicionales descritos anteriormente de la masilla pueden estar presentes en la masilla en cualquier cantidad que permita que el componente añadido tenga un efecto beneficioso sobre la mejora del crecimiento óseo y/o que proporcione una estabilidad física mejorada o características de manipulación, al tiempo que no altere significativamente la estabilidad o la forma del material de masilla.

5 Como se ha comentado anteriormente, la masilla es un soporte apropiado para la matriz ósea desmineralizada. La matriz ósea desmineralizada, o DBM, se produce a partir de hueso de banco tomado de cadáveres. Normalmente, DBM se encuentra disponible en forma estéril, liofilizada o secada por congelación, tal como cubos, raspaduras o polvo. Esto permite que el DBM tenga una vida de almacenamiento prolongada. Se puede purificar la matriz ósea desmineralizada disponible comercialmente por medio de una variedad de procedimientos para la retirada de los  
10 componentes no proteicos y se puede obtener a partir de varias compañías tales como Citagenix, Inc., Quebec, Canadá.

La fuente de matriz ósea desmineralizada no se encuentra limitada, y puede ser cualquier forma de hueso humano o cualesquiera especies animales social o económicamente importantes. En un aspecto, la matriz ósea desmineralizada puede ser matriz ósea desmineralizada procedente de un humano, rata, vaca, caballo, cerdo, perro,  
15 gato u oveja.

Preferentemente, el hueso desmineralizado se añade a la masilla en una cantidad de hasta 0,55 gramos por cada 1 gramo de masilla, y preferentemente se añade en una cantidad de 0,3 gramos por cada 1 gramo de masilla. Tras añadir la cantidad apropiada de DBM a la masilla de la cuarta realización, la masilla es apta para moldeado de la formada apropiada de forma que se puede adaptar a la forma del defecto óseo para contribuir de manera más eficaz  
20 a la consolidación ósea.

También se divulga un gel para su uso como material de relleno de huecos y que resulta apropiado para la matriz ósea desmineralizada. El gel comprende proteína de queratina sulfonada-S, y puede comprender además componentes adicionales para mejorar las características de manipulación y/o la mejora ósea.

La queratina soluble es queratina sulfonada-S como se ha descrito anteriormente.

25 La proteína de queratina soluble puede ser de 10-35 % en peso del gel y del modo más preferido de 21,3 % en peso del gel.

Preferentemente, la proteína de queratina convertida en soluble por medio del mecanismo anteriormente mencionado es una fracción de proteína de queratina. Preferentemente, la fracción de proteína de queratina es una proteína de filamento intermedia, una proteína de elevado contenido de azufre o una proteína de alto contenido de glicina-tirosina. Preferentemente, la proteína de queratina soluble está intacta como se ha descrito anteriormente.  
30

Preferentemente, la proteína de queratina soluble está en una disolución, siendo la disolución cualquier disolución apropiada para su uso en la consolidación ósea, tal como agua. Preferentemente, el agua es de 30 a 80 % en peso del gel y del modo más preferido de 72,8 % en peso del gel.

35 El gel además comprender proteína de queratina insoluble, que espesa el gel hasta una consistencia apropiada. Preferentemente, la proteína de queratina insoluble es queratina sulfonada-S reticulada o queratina lantionizada como se ha comentado con más detalle anteriormente.

La proteína de queratina insoluble está en una cantidad de hasta 5 % en peso del gel, y del modo más preferido de 1,9 % en peso del gel.

40 Se pueden añadir otros componentes que afectan a la consistencia del gel, incluyendo plastificantes (tales como glicerol) aceite vegetal y derivados de celulosa (tales como celulosa alquilada y metil celulosa). Estos componentes se pueden añadir al gel en una cantidad apropiada, pero preferentemente se añaden en cantidades pequeñas, por ejemplo, de 0 a 5 % en peso del gel. El gel también puede comprender conservantes, por ejemplo, una mezcla de parabeno y fenoxietanol, en pequeña cantidad (es decir, menos de 1 % en peso del gel).

45 El gel puede comprender componentes adicionales que contribuyen a mejorar la tasa de crecimiento óseo y/o contribuyen a mejorar las características físicas del gel. Por ejemplo, el gel también puede comprender un material cerámico como se ha comentado anteriormente, y/o factores de crecimiento, antioxidantes, material de autoinjerto o aloinjerto, hemocitoblastos y terapias celulares, fármacos, ADN y terapias basadas en ADN y anticuerpos como se ha comentado anteriormente.

50 Los componentes adicionales comentados anteriormente del gel pueden estar presentes en el gel en cualquier cantidad que permita que el componente añadido tenga un efecto beneficioso sobre la mejora del crecimiento óseo y/o para proporcionar una estabilidad física mejorada o características de manipulación, al tiempo que no se altere de manera significativa la estabilidad o la forma del material de gel.

Como se ha comentado anteriormente, el gel es un soporte apropiado para la matriz ósea desmineralizada. Preferentemente, el hueso desmineralizado se añade al gel de la quinta realización en una cantidad de hasta 0,55

gramos por cada 1 gramo de gel, y preferentemente se añade a una tasa de 0,3 gramos por cada 1 gramo de gel. Tras añadir una cantidad apropiada de DBM al gel de la quinta realización, el gel resulta inyectable de manera apropiada de forma que la administración del DBM al punto que tiene el defecto se logra con mayor facilidad.

5 En una realización adicional de la presente invención, se divulga un procedimiento para preparar una masilla para su uso como material de relleno para huecos óseos. Generalmente, el procedimiento comprende preparar una disolución acuosa de proteína de queratina sulfonada-S soluble y posteriormente mezclar la disolución acuosa con una queratina insoluble para formar una masilla.

10 La queratina es queratina sulfonada-S como se ha descrito previamente. La disolución acuosa de proteína de queratina se puede preparar de cualquier manera apropiada para preparar una disolución acuosa, incluyendo adición de queratina soluble a una disolución tal como agua. La disolución acuosa puede ser cualquier proporción de queratina soluble con respecto a disolución, apropiada para preparar una disolución acuosa y la disolución acuosa puede adoptar la formación de un gel. En un aspecto preferido de la presente realización, la queratina soluble es 4-25 % en peso de la masilla final y el agua es 20-40 % en peso de la masilla final. En el aspecto más preferido de la presente realización, la queratina soluble es 13,5 % en peso de la masilla final y el agua es 29,4 % en peso de la masilla final.

15 Posteriormente, se puede mezclar el gel con queratina insoluble para formar una masilla. Cuando se mezcla el gel con queratina insoluble, preferentemente la queratina insoluble es queratina sulfonada-S reticulada o queratina lantionizada y es de 15-50 % en peso de la masilla final. Más preferentemente, la queratina soluble es 45,1 % en peso de la masilla final.

20 Se puede añadir la queratina insoluble a la disolución acuosa gracias a cualquier medio apropiado. La mezcla de la disolución acuosa de proteína de queratina sulfonada-S y queratina insoluble puede ser gracias a cualquier medio apropiado para la mezcla. Por ejemplo, la mezcla de dos componentes puede ser por medio del uso de un agitador magnético y mezclando los componentes a mano.

25 La etapa de mezcla de la disolución de queratina insoluble y proteína de queratina soluble de la presente realización también puede incluir la adición de componentes adicionales como se ha descrito anteriormente en realizaciones anteriores. Por ejemplo, se puede añadir un plastificante en el intervalo de 0-3 % en peso de la masilla (del modo más preferido 1,5 %), material cerámico dentro del intervalo de 0-15 % en peso de la masilla (del modo más preferido 10 %) y conservante dentro del intervalo de 0 a 1 % en peso de la masilla (del modo más preferido 0,5 %).

30 Una vez que se ha añadido la queratina insoluble y se ha mezclado para formar la masilla, se puede llevar a cabo una etapa final de adición de fragmentos de hueso autólogo antes de la aplicación al hueso óseo. Preferentemente, los fragmentos de hueso se añaden a la masilla dentro del intervalo de hasta 0,5 gramos de fragmentos de hueso por cada 1 gramo de masilla. Los fragmentos de hueso se pueden mezclar con la masilla usando cualesquiera medios conocidos para la mezcla u homogeneización.

35 También se divulga un procedimiento para preparar un gel para su uso como material de relleno de hueso óseo. Generalmente, el procedimiento comprende preparar una disolución acuosa de proteína de queratina sulfonada-S soluble y posteriormente mezclar la disolución acuosa con queratina insoluble para formar un gel.

40 La queratina es queratina sulfonada-S soluble como se ha descrito previamente. La disolución acuosa de proteína de queratina se puede preparar de cualquier manera apropiada para preparar la disolución acuosa, incluyendo la adición de queratina soluble a una disolución tal como agua. La disolución acuosa puede estar en cualquier proporción de queratina con respecto a disolución, apropiada para preparar una disolución acuosa y la disolución acuosa puede adoptar la formación de un gel. En un aspecto preferido, la queratina soluble es 4-25 % en peso del gel final y el agua es 20-50 % en peso del gel final.

45 Posteriormente, se puede mezclar el gel con queratina insoluble para formar un gel final. Cuando se añade al gel, preferentemente la queratina insoluble es queratina sulfonada-S reticulada o queratina lantionizada y es de 20-50 % en peso del gel final.

Se puede añadir la queratina insoluble a la disolución acuosa gracias a cualquier medio apropiado. La mezcla de disolución acuosa de proteína de queratina sulfonada-S y queratina insoluble puede ser gracias a cualquier medio apropiado de mezcla u homogeneización. Por ejemplo, la mezcla de los dos componentes puede ser usando un agitador magnético y mezcla de los componentes a mano.

50 La etapa de mezcla de la disolución de queratina insoluble y proteína de queratina soluble puede también incluir la adición de componentes adicionales como se ha descrito anteriormente en realizaciones previas. Por ejemplo, se puede añadir un plastificante dentro del intervalo de 0-3 % en peso del gel, material cerámico dentro del intervalo de 0-15 % en peso del gel, y conservante dentro del intervalo de 0 a 1 % en peso del gel.

55 Una vez que se ha añadido la queratina insoluble y se ha mezclado para formar el gel, se puede llevar a cabo una etapa final de adición de fragmentos de hueso autólogo al gel antes de la aplicación al hueso óseo. Preferentemente, los fragmentos de hueso autólogo se añaden al gel dentro del intervalo de hasta 0,5 gramos de

fragmentos de hueso por cada 1 gramo de gel. Se pueden mezclar los fragmentos óseos con el gel usando cualesquier medios de mezcla conocidos.

5 Se divulga un procedimiento para preparar una masilla para su uso como material de carga para huecos óseos y que es un soporte apropiado para la matriz ósea desmineralizada. Generalmente, el procedimiento comprende preparar una disolución acuosa de proteína de queratina sulfonada-S soluble y posteriormente mezclar la disolución acuosa con queratina insoluble para formar una masilla.

10 La queratina es queratina sulfonada-S soluble como se ha descrito previamente. La disolución acuosa de proteína de queratina se puede preparar de cualquier manera apropiada para preparar una disolución acuosa, incluyendo la adición de queratina soluble a una disolución tal como agua. La disolución acuosa puede ser cualquier proporción de queratina soluble con respecto a disolución, apropiada para preparar una disolución acuosa puede adoptar la formación de un gel. En un aspecto preferido, la queratina soluble es 15-45 % en peso de la masilla final y el agua es 25-75 % en peso de la masilla final. En el aspecto más preferido, la queratina soluble es 28,1 % en peso de la masilla final y el agua es 66 % en peso de la masilla final.

15 Posteriormente, se puede mezclar el gel con queratina soluble para formar una masilla. Cuando se añade queratina insoluble, preferentemente la queratina insoluble es queratina sulfonada-S reticulada o queratina lantionizada y representa hasta 5 % en peso de la masilla final. Más preferentemente, la queratina insoluble es 1,9 % en peso de masilla final.

20 La queratina insoluble se puede añadir a la disolución acuosa gracias a cualquier medio. La mezcla de disolución acuosa de proteína de queratina sulfonada-S y queratina insoluble puede ser por cualquier medio apropiado para la mezcla u homogeneización. Por ejemplo, la mezcla de dos componentes puede ser por medio del uso de un agitador magnético y mezcla de los componentes a mano.

25 La etapa de mezcla de la disolución de queratina insoluble y proteína de queratina soluble también puede incluir la adición de componentes adicionales como se ha descrito anteriormente en realizaciones anteriores. Por ejemplo, se puede añadir un plastificante dentro del intervalo de 0-5 % en peso de la masilla (del modo más preferido 3 %) y un conservante dentro del intervalo de 0 a 1 % en peso de la masilla (del modo más preferido un 1 %).

30 Una vez que se ha añadido la queratina insoluble y se ha mezclado para formar la masilla, se puede llevar a cabo una etapa final de adición de matriz ósea desmineralizada a la masilla antes de la aplicación al hueco óseo. Preferentemente, el DBM se añade a la masilla dentro del intervalo de 0,55 gramos de DBM por cada 1 gramo de masilla, y más preferentemente se añade a la masilla a una tasa de 0,3 gramos por cada 1 gramo de masilla. El DBM se puede mezclar con la masilla usando cualesquiera medios conocidos de mezcla.

También se divulga un procedimiento para preparar un gel para su uso como material de relleno de huecos óseos y que es un soporte apropiado para una matriz ósea desmineralizada. Generalmente, el procedimiento comprende preparar una disolución acuosa de proteína de queratina sulfonada-S soluble y posteriormente mezclar la disolución acuosa con queratina insoluble para formar un gel.

35 La queratina es queratina sulfonada-S soluble como se ha descrito previamente. La disolución acuosa de proteína de queratina se puede preparar de cualquier manera apropiada para la preparación de una disolución acuosa, incluyendo la adición de queratina soluble a una disolución tal como agua. La disolución acuosa puede ser de cualquier proporción de queratina soluble con respecto a disolución, apropiada para preparar una disolución acuosa y la disolución acuosa puede adoptar la formación de un gel. En un aspecto preferido, la queratina soluble es 10-35 % en peso del gel final y el agua es 30-80 % en peso del gel final. En el aspecto más preferido, la queratina soluble es 21,3 % en peso del gel final y el agua es 72,8 % en peso del gel final.

40 Posteriormente, se puede mezclar el gel con queratina insoluble para formar un gel final. Cuando se mezcla la queratina insoluble con el gel, preferentemente la queratina insoluble es queratina sulfonada-S reticulada o queratina lantionizada y representa hasta un 5 % en peso del gel final. Más preferentemente, la queratina insoluble es 1,9 % en peso del gel final.

45 Se puede añadir la queratina insoluble a la disolución acuosa gracias a cualquier medio apropiado. La mezcla de la disolución acuosa o proteína de queratina sulfonada-S y queratina insoluble puede ser gracias a cualquier medio apropiado de mezcla u homogeneización. Por ejemplo, la mezcla de los dos componentes puede ser usando un agitador magnético y mezcla de los componentes a mano.

50 La etapa de mezcla de la disolución de queratina insoluble y proteína de queratina soluble también puede incluir la adición de componentes adicionales como se ha descrito previamente. Por ejemplo, se puede añadir un plastificante dentro del intervalo 0-5 % en peso del gel (del modo más preferido 3 %) y conservante dentro del intervalo de 0 a 1 % en peso (del modo más preferido 1 %).

55 Una vez que se ha añadido la queratina insoluble y se ha mezclado para formar el gel, se puede llevar a cabo una etapa final de adición de matriz ósea desmineralizada al gel antes de la aplicación al hueco óseo. Preferentemente, se añade DBM al gel dentro del intervalo de hasta 0,55 gramos de DBM por cada 1 gramo de gel, y más

## ES 2 515 118 T3

preferentemente se añade a una tasa de 0,3 gramos por cada 1 gramo de gel. El DBM se puede mezclar con el gel usando cualesquiera medios conocidos de mezcla.

**REIVINDICACIONES**

- 1.- Un gel o masilla para el relleno de huecos óseos que comprende:
- 5                   proteína de queratina sulfonada-S soluble y  
                  proteína de queratina insoluble.
2. El gel o masilla para el relleno de huecos óseos de la reivindicación 1, en el que la proteína de queratina insoluble está seleccionada entre el grupo que consiste en proteína de queratina sulfonada-S reticulada y queratina lantionizada.
3. El gel o masilla para el relleno de huecos óseos de la reivindicación 1, en el que la proteína de queratina soluble es una fracción de proteína de queratina, en la que la fracción de proteína de queratina está opcionalmente seleccionada entre el grupo que consiste en proteína de filamento intermedia, proteína de alto contenido en azufre y proteína de alto contenido de glicina-tirosina.
- 10
4. El gel o masilla para el relleno de huecos óseos de cualquier reivindicación anterior, que además comprende un plastificante.
5. El gel o masilla para el relleno de huecos óseos de cualquier reivindicación anterior, que además comprende fragmentos de hueso autólogo, en el que la masilla o gel comprende menos de 0,5 gramos de fragmentos de hueso por cada un gramo de masilla o gel.
- 15
6. El gel o masilla para el relleno de huecos óseos de cualquier reivindicación anterior, que además comprende un material cerámico.
7. El gel o masilla para el relleno de huecos óseos de acuerdo con la reivindicación 1, apropiado para transportar una matriz ósea desmineralizada, que comprende:
- 20                   10-40 % en peso de proteína de queratina sulfonada-S soluble  
                  25-80 % en peso de agua, y  
                  una proteína de queratina insoluble en una cantidad de hasta un 5 % en peso.
- 25
8. El gel o masilla para el relleno de huecos óseos de la reivindicación 7, en el que la proteína de queratina insoluble está seleccionada entre el grupo que consiste en proteína de queratina sulfonada-S reticulada y queratina lantionizada.
9. El gel o masilla para el relleno de huecos óseos de la reivindicación 7, en el que la proteína de queratina soluble es una fracción de proteína de queratina, en la que la fracción de proteína de queratina está opcionalmente seleccionada entre el grupo que consiste en proteína de filamento intermedia, proteína de alto contenido de azufre y proteína de alto contenido de glicina-tirosina.
- 30
10. El gel o masilla para el relleno de huecos óseos de la reivindicación 7 a 9, que además comprende 0-5 % en peso de plastificante.
11. El gel o masilla para el relleno de huecos óseos de la reivindicación 7 a 10, que además comprende una matriz ósea desmineralizada, en la que la masilla o gel comprende opcionalmente menos de 0,55 gramos de matriz ósea desmineralizada por cada un gramo de masilla o gel.
- 35
12. Un procedimiento para preparar una masilla o gel para su uso como material de relleno para huecos óseos que comprende las etapas de:
- 40                   a) preparar una disolución acuosa de proteína de queratina sulfonada-S soluble; y  
                  b) mezclar la disolución acuosa de proteína de queratina con proteína de queratina insoluble para formar una masilla o gel.
13. El procedimiento de la reivindicación 12, que además comprende la etapa de mezclar la masilla o gel con fragmentos de hueso autólogo, y/o que además comprende la etapa de mezclar la masilla o gel con matriz ósea desmineralizada.
- 45