

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 670 000**

51 Int. Cl.:

A61L 27/36 (2006.01)

A61L 27/46 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.04.2015 PCT/FR2015/051076**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.10.2015 WO15162372**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.04.2015 E 15725770 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.04.2018 EP 3134138**

54 Título: **Procedimiento de fabricación de pasta ósea**

30 Prioridad:
25.04.2014 FR 1453726

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.05.2018

73 Titular/es:
**BIOBANK (100.0%)
ZA Lavoisier 4 Rue Lebon
77220 Presles en Brie, FR**

72 Inventor/es:
**BARDONNET, RAPHAËL y
BARBEITO, ANA**

74 Agente/Representante:
VEIGA SERRANO, Mikel

ES 2 670 000 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

Procedimiento de fabricación de pasta ósea

5 **Sector de la técnica**

La invención se refiere a los procedimientos de preparación de pasta ósea.

10 **Estado de la técnica**

10 El documento EP1341545 describe un ejemplo de procedimiento de este tipo, en el que se calienta una mezcla de hueso desmineralizado y agua para obtener un soporte pastoso (fase viscosa), que acto seguido se mezcla con hueso desmineralizado o no desmineralizado (fase sólida) para formar un gel óseo o una masilla ósea. Este procedimiento es complejo, ya que presenta en primer lugar una etapa de preparación de la fase viscosa a la que se
15 añade de forma secundaria la adición de la fase sólida. La mezcla debe ser llevada a cabo en ambiente estéril para uso quirúrgico, lo que aumenta su complejidad. Además, este procedimiento presenta especialmente los inconvenientes de que la pasta ósea obtenida de este modo es generalmente no homogénea ya que las dos fases no muestran continuidad.

20 También se conoce por el documento US 2007/0202190, un procedimiento similar que utiliza como materia prima hueso cortical. Por una parte, una fracción de esta materia prima se somete a un tratamiento térmico a menos de 100 °C (sin llegar ni a *fortiori* exceder una temperatura de ebullición) y ácido para extraer la gelatina y constituir de este modo, tras la neutralización y secado, una gelatina mineralizada. Por otra parte, otra fracción de esta materia prima se desmineraliza de manera apropiada (normalmente por tratamiento ácido seguido de una neutralización y
25 secado), para constituir el polvo de hueso desmineralizado denominado MOD (matriz ósea desmineralizada), por sus siglas en inglés MOD (*Demineralized Bone Matrix*). La pasta ósea obtenida por este procedimiento resulta de la mezcla de gelatina mineralizada, MOD, y una fase líquida, de modo que se obtiene un efecto osteoinductor. La cuestión de la inyectabilidad, normalmente por una jeringa, surge con este tipo de mezcla debido a la presencia de granos de constitución diferente. Además, no se puede aplicar ningún procedimiento de esterilización terminal a la
30 mezcla final, la esterilidad del producto (necesaria para un uso terapéutico) obliga a trabajar en condiciones estériles, lo que hace que el procedimiento sea costoso y complejo.

Por otra parte, la conservación de las proteínas osteoinductoras de la fracción MOD es un factor de riesgo en términos de salud ya que los priones, que son proteínas, no son eliminados durante su preparación y existe el riesgo
35 de ser transmitidos al paciente receptor. Por eso el procedimiento previsto por el documento US 2007/0202190, complejo con etapas delicadas, tiene un uso en la práctica limitado.

Asimismo, el documento US-2002-0076429 describe un procedimiento que consiste en obtener un soporte pastoso (fase viscosa) a partir de gelatina deshidratada que se ha sometido a un tratamiento térmico (por ejemplo por autoclave) para tanto esterilizar como aumentar la viscosidad de la misma. Esta gelatina se muele y se mezcla en
40 condiciones estériles con un producto osteoconductor y/u osteoinductor. El procedimiento completo implica que la molienda y acto seguido la mezcla con el producto osteoconductor y/u osteoinductor se realizan en un entorno estéril, lo que hace que el procedimiento sea complejo y costoso. Además, el producto obtenido es sólido a 37 °C, y obliga al cirujano a calentar el producto para ablandarlo antes de implantarlo, haciendo que sea complejo aplicar el
45 producto.

Objetos de la invención

50 La presente invención tiene en particular como objetivo superar por completo o parte de estos inconvenientes.

A tal fin, la invención proporciona un procedimiento de preparación de una pasta ósea osteoconductor, que comprende al menos las siguientes etapas:

55 (a) una etapa de suministro durante la cual se proporciona, en un contenedor, una mezcla de partida que contiene una solución acuosa y un producto granular que comprende al menos colágeno y minerales, el colágeno representa entre el 30 % y el 90 % en peso seco del producto granular y los minerales representan entre el 10 % y el 70 % en peso seco del producto granular, al menos una parte del colágeno está contenida en los granos de una matriz ósea al menos parcialmente mineralizada,
60 (b) una etapa de calentamiento durante la cual se calienta, en el contenedor, la mezcla, la mezcla de partida a una temperatura de al menos 100 °C, preferentemente 121 °C, para transformar en gelatina una parte del colágeno, de modo que se establece una continuidad entre la gelatina y la matriz ósea al menos parcialmente mineralizada y de modo que se obtiene así una pasta ósea cohesiva, la etapa de calentamiento permite la esterilización de la pasta ósea en el contenedor,

65 por medio del cual, tras el enfriamiento y la gelificación, la pasta ósea está lista para su uso y se mantiene estéril en el contenedor en un estado de cierre estanco del contenedor.

Gracias a estas disposiciones, se obtiene una pasta ósea homogénea y lista para su uso, cuya composición mixta (al menos gelatina/matriz ósea desmineralizada/matriz ósea mineralizada) es favorable para la osteoconducción, y le confiere buenas propiedades de maleabilidad (la pasta ósea es plásticamente deformable) y de cohesión (en particular, esta pasta ósea no se funde hasta los 38 °C). Estas propiedades particularmente ventajosas se obtienen debido a que el calentamiento se aplica a toda la mezcla (en una etapa), permitiendo así obtener una excelente continuidad entre la fase sólida y la fase viscosa (gelatina).

La cocción a una temperatura alrededor de 121 °C, o más generalmente superior a 100 °C, permite transformar los componentes del producto granular (en particular con exudación de gelatina resultante de los granos, particularmente los que ya están parcialmente o completamente desmineralizados), mientras que tiene un efecto de esterilización ventajoso. Por lo tanto, los granos de una matriz ósea al menos parcialmente mineralizada se transforman también debido al calentamiento, con un beneficio para la reología de la pasta ósea. Se obtiene una continuidad de fases entre la gelatina, la fracción desmineralizada y la fracción mineralizada. Se entenderá que no es necesario, para obtener el carácter pastoso, añadir ningún aglutinante en una etapa de mezcla que sería perjudicial para el mantenimiento del estado estéril.

La pasta ósea obtenida así de forma fiable y simple es osteoconductor, estéril y lista para su uso. La mezcla se somete por completo a un calentamiento a más de 100 °C, normalmente por autoclave, comprendiendo que la preservación de proteínas osteoinductoras no se busca, sobre todo con el beneficio de la seguridad viral y de la esterilidad del producto acabado. El producto acabado se puede preparar en un recipiente estanco, de modo que su composición está perfectamente controlada y se puede inyectar directamente si el recipiente estanco es una jeringa.

Nótese que en la presente solicitud, la expresión "matriz ósea mineralizada" se utiliza para designar una matriz ósea (tejido óseo), que no ha sido sometida a ningún tratamiento de desmineralización y que comprende un componente mineral (aproximadamente 70 % en peso seco) y un componente de colágeno (aproximadamente 30 % en peso seco). Esta matriz ósea puede tener un origen humano o animal y puede provenir del hueso cortical, esponjoso o corticoesponjoso.

Tenga en cuenta que en la presente solicitud, los términos tales como "granular" o "grano" se utilizan para designar cualquier material formado de partículas sólidas, fragmentos o filamentos de tamaño comprendido entre 0 y unos pocos milímetros.

En diversos modos de realización del procedimiento de acuerdo con la invención, se puede recurrir opcionalmente, además, a una y/o a otra de las disposiciones siguientes:

- en la etapa de calentamiento (b), la mezcla de partida se calienta durante un periodo comprendido entre 10 min y 2 h, preferentemente comprendido entre 18 min y 1 h;
- en la etapa de calentamiento (b), la mezcla de partida se calienta a una temperatura comprendida entre 50 °C y 200 °C, por ejemplo entre 100 °C y 200 °C, preferentemente comprendida entre 100 °C y 150 °C;
- en la etapa de calentamiento (b), la mezcla de partida se calienta durante un periodo comprendido entre 18 min y 1 h y a una temperatura comprendida entre 100 °C y 150 °C;
- en la etapa de suministro (a), la mezcla de partida se suministra en un contenedor en un estado de cierre estanco y se calienta en la etapa de calentamiento (b) en dicho contenedor en este estado de cierre estanco; el término estanco significa en la presente memoria hermético al vapor de agua y a los microorganismos hasta una presión diferencial de al menos 1 bar (se utilizará en la siguiente expresión más concisa "contenedor estanco");
- en la etapa de suministro (a), el contenedor estanco se coloca en una bolsa sellada y se calienta en la etapa de calentamiento (b) en dicha bolsa sellada: obteniendo así una pasta ósea estéril completamente envasada, lista para su uso;
- la etapa de calentamiento (b) se realiza a una temperatura suficiente y durante un periodo suficiente para esterilizar la pasta ósea;
- la etapa de calentamiento (b) se realiza con vapor de agua, al baño maría o con calor seco;
- en la etapa de suministro (a), los minerales representan entre el 20 % y el 60 % en peso seco del producto granular y el colágeno representa entre el 40 y el 80 % en peso seco del producto granular;
- en la etapa de suministro (a), la solución acuosa de la mezcla de partida se selecciona entre agua, suero fisiológico o una solución de tampón fisiológica;
- en la etapa de suministro (a), la solución acuosa representa entre el 40 % y el 75 % en peso total de la mezcla de partida;
- en la etapa de suministro (a), el material granular tiene una granulometría inferior a 4 mm, preferentemente inferior a 1,5 mm;
- en la etapa de suministro (a), la mezcla de partida consta además de un biomaterial osteoconductor mineralizado; este biomaterial osteoconductor mineralizado puede ser en particular de origen humano o animal (matriz ósea desproteínizada) o sintético (hidroxiapatita, fosfato tricálcico, biovidrio u otro material implantable);
- en la etapa de suministro (a), la mezcla de partida consta de granos de una matriz ósea completamente desmineralizada que comprende principalmente colágeno y granos de una matriz ósea mineralizada que comprende colágeno y minerales;
- en la etapa de suministro (a), la mezcla de partida consta de granos de matriz ósea parcialmente

desmineralizada que comprende entre 20 % y 70 % de minerales en peso seco, preferentemente entre 40 % y 60 % de minerales en peso seco;

- en la etapa de suministro (a), la mezcla de partida comprende colágeno purificado y granos de una matriz ósea mineralizada;

5 - la etapa de suministro (a) comprende al menos las siguientes subetapas:

(a1) una subetapa de preparación de granos de una matriz ósea completamente desmineralizada por desmineralización y molienda a partir de hueso (la desmineralización precede a la molienda o le sucede),

(a2) una subetapa de preparación de granos de una matriz ósea mineralizada por molienda de hueso,

10 (a3) una subetapa de mezclado durante la cual se mezcla al menos los granos de una matriz ósea completamente desmineralizada, los granos de una matriz ósea mineralizada y la solución acuosa para obtener dicha mezcla de partida;

- la etapa de suministro (a) comprende al menos las siguientes subetapas:

15 (a'1) una subetapa de preparación de granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizada por desmineralización y molienda de hueso (la desmineralización precede a la molienda o la sucede),

(a'3) una subetapa de mezclado durante la cual se mezcla al menos los granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizada y la solución acuosa para obtener dicha mezcla de partida;

- la etapa de suministro (a) comprende al menos las siguientes subetapas:

(a"2) una subetapa de preparación de granos de una matriz ósea mineralizada por molienda de hueso,

20 (a"3) una subetapa de mezclado durante la cual se mezcla al menos los granos de una matriz ósea mineralizada, el colágeno purificado y la solución acuosa para obtener dicha mezcla de partida.

- durante la subetapa de mezclado (a3, a'3 o a"3), se mezcla un biomaterial osteoconductor mineralizado con los otros constituyentes de la mezcla de partida;

30 - durante la subetapa de mezclado (a3, a'3 o a"3), se mezcla al menos ácido hialurónico y/o sus derivados, en particular ácido hialurónico reticulado, con los otros constituyentes de la mezcla de partida.

Descripción de las figuras

35 Otras características y ventajas de la invención aparecerán durante la siguiente descripción de uno de sus modos de realización, dada a modo de ejemplo no limitativo, en relación con el dibujo adjunto.

En los dibujos, la figura 1 representa un frasco que contiene la pasta ósea obtenida por el procedimiento de acuerdo con la invención.

40 La figura 2 es una imagen que muestra el aspecto de la pasta ósea resultante del procedimiento conforme al modo de preparación preferente.

La figura 3 es una imagen que muestra el aspecto de los granos de un polvo de hueso crudo, antes de la implementación del procedimiento.

45

Descripción detallada de la invención

50 El procedimiento de acuerdo con la invención permite preparar una pasta ósea maleable que puede ser utilizada como producto de relleno óseo en las aplicaciones médicas.

Esta pasta ósea puede prepararse a partir de una fracción de colágeno y una fracción mineralizada. La fracción de colágeno es resultado de una matriz ósea al menos parcialmente desmineralizada o de colágeno purificado. La fracción mineralizada es resultado de un tejido óseo de origen humano o animal, de tipo cortical, esponjoso o corticoesponjoso denominado en la presente memoria matriz ósea mineralizada.

55 El procedimiento de preparación de la pasta ósea de acuerdo con la invención, consta en particular de dos grandes etapas:

(a) suministro de una mezcla de partida que contiene una solución acuosa, una fracción de colágeno y una fracción mineralizada,

60 (b) calentamiento.

(a) Etapa de suministro de la mezcla de partida:

65 Durante esta etapa (a), se proporciona una mezcla de partida que contiene al menos:

- una solución acuosa, y
- un producto granular que comprende al menos colágeno y minerales, al menos una parte del colágeno está contenida en granos de una matriz ósea al menos parcialmente mineralizada.

5 El colágeno puede provenir de una matriz ósea completamente o parcialmente desmineralizada o de cualquier otra fuente de colágeno purificado.

La mezcla de partida puede por ejemplo estar constituida según se indica:

- 10
- puede comprender granos de una matriz ósea completamente desmineralizada o colágeno purificado y granos de una matriz ósea mineralizada;
 - puede comprender granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizada.

15 En el producto granular de la mezcla de partida, el colágeno puede representar entre el 30 % y el 90 % en peso seco del producto granular (ventajosamente entre 40 % y 80 %) y los minerales entre el 10 % y el 70 % en peso seco del producto granular (ventajosamente entre el 20 % y el 60 %).

El producto granular en cuestión constituye preferentemente una mezcla homogénea.

20 Los granos que constituyen la mezcla de partida pueden tener una granulometría inferior a 4 mm, preferentemente inferior a 1,5 mm.

25 La solución acuosa puede representar entre el 40 % y el 75 % en peso total de la mezcla. De acuerdo con la proporción de agua, la viscosidad de la pasta ósea final puede ajustarse en función de las necesidades. Una proporción de agua disminuida hasta el 40 % dará una viscosidad más elevada para lograr una consistencia de masilla. Una proporción de agua aumentada hasta el 75 % dará una viscosidad menos elevada, para conseguir una consistencia de gel. Esta observación es válida para todas las formas de realización de la invención.

30 La solución acuosa de la mezcla de partida puede ser elegida en particular entre agua, suero fisiológico (solución de cloruro de sodio, por ejemplo al 0,9 %) o una solución tampón fisiológica de fosfato o similares.

35 El producto granular de la mezcla de partida puede opcionalmente constar además de un biomaterial osteoconductor mineralizado; este biomaterial osteoconductor mineralizado puede ser en particular de origen humano o animal (matriz ósea desproteínizada) o sintético (hidroxiapatita, fosfato tricálcico, biovidrio u otro material implantable). El biomaterial mineralizado puede tener una granulometría inferior a 4 mm, preferentemente inferior a 1,5 mm. La proporción de biomaterial mineralizado opcionalmente añadido a la mezcla de partida puede representar entre el 10 % y el 40 % del peso seco de la mezcla de partida. Más en general, la proporción del biomaterial osteoconductor adicional puede ser ajustada para que la pasta ósea final mantenga sus propiedades de maleabilidad y cohesión.

40 Diversos casos de preparación de la mezcla inicial se detallarán a continuación.

1. Caso en el que la mezcla de partida comprende granos de una matriz ósea mineralizada y granos de una matriz ósea completamente desmineralizada:

45 Cuando la mezcla de partida comprende granos de una matriz ósea mineralizada y granos de una matriz ósea completamente desmineralizada, la etapa (a) de suministro de la mezcla de partida puede comprender al menos las siguientes subetapas:

50 (a1) una subetapa de preparación de granos de una matriz ósea completamente desmineralizada por desmineralización y molienda a partir de fragmentos de hueso (la desmineralización precede a la molienda o la sucede);

(a2) una subetapa de preparación de granos de una matriz ósea mineralizada por molienda de fragmentos de hueso;

55 (a3) una subetapa de mezclado durante la cual se mezcla los granos de una matriz ósea completamente desmineralizada, los granos de una matriz ósea mineralizada y la solución acuosa para obtener dicha mezcla de partida.

2. Caso en el que la mezcla de partida comprende granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizada:

60 Cuando la mezcla de partida comprende granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizada, la etapa (a) de suministro de la mezcla de partida puede comprender al menos las siguientes subetapas:

(a'1) una subetapa de preparación de granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizada por desmineralización y molienda de fragmentos de hueso (la desmineralización precede a la molienda o la sucede);

65 (a'3) una subetapa de mezclado durante la cual se mezcla los granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizada y la solución acuosa para obtener dicha mezcla.

3. Caso en el que la mezcla de partida comprende granos de colágeno y granos de una matriz ósea mineralizada:

5 Cuando la mezcla de partida comprende granos de colágeno purificado y granos de una matriz ósea mineralizada, la etapa (a) de suministro de la mezcla de partida puede comprender al menos las siguientes subetapas:

(a"1) una subetapa de preparación de granos de colágeno purificado por cualquier técnica que permita obtener un colágeno purificado deshidratado,

10 (a"2) una subetapa de preparación de granos de matriz ósea mineralizada por molienda de fragmentos de hueso, (a"3) una subetapa de mezclado durante la cual se mezcla al menos los granos de una matriz ósea, los granos de colágeno purificado y la solución acuosa para obtener dicha mezcla de partida.

15 Opcionalmente, durante la subetapa de mezclado (a3, a'3 o a"3), se mezcla un biomaterial osteoconductor mineralizado con los otros constituyentes de la mezcla de partida.

(b) Etapa de calentamiento:

20 Durante la etapa de calentamiento, se calienta la mezcla de partida lo suficiente para transformar en gelatina una parte del colágeno y así obtener la pasta ósea requerida, que es homogénea y está lista para su uso después del enfriamiento y gelificación.

Durante esta etapa de calentamiento, la mezcla de partida puede ser calentada durante un periodo comprendido entre 10 min y 2 h, preferentemente comprendido entre 18 min y 1 h.

25 La mezcla de partida puede calentarse a una temperatura comprendida entre 50 °C y 200 °C, preferentemente comprendida entre 100 °C y 150 °C.

30 Más particularmente, la mezcla de partida puede ser ventajosamente calentada durante un periodo comprendido entre 18 min y 1 h a una temperatura comprendida entre 100 °C y 150 °C. En particular, la mezcla de partida puede ser ventajosamente calentada durante un periodo del orden de 30 min a 1 h (en particular 30 minutos en el caso 1 mencionado, o 1 h en caso 2 mencionado) a una temperatura del orden de 120 °C (por ejemplo 121 °C).

35 Más en general, la etapa de calentamiento (b) se realiza ventajosamente a una temperatura suficiente y durante un periodo suficiente para esterilizar la pasta ósea.

El calentamiento se puede llevar a cabo con vapor de agua, al baño maría o con calor seco.

40 Ventajosamente, al final de la etapa de suministro (a), la mezcla de partida se coloca en un contenedor estanco resistente al calor y a las diferencias de presión debido al sistema de calentamiento utilizado (por supuesto, el contenedor en estado cerrado permanece estanco al vapor de agua, de modo que puede haber diferencias de presión entre el interior y el exterior del contenedor, por ejemplo el contenedor soporta las diferencias de presión de al menos 1 bar cuando se utiliza un autoclave a 121 °C), y se calienta en la etapa de calentamiento (b) en dicho contenedor estanco, de modo que se obtiene así una pasta ósea estéril, lista para su uso después del enfriamiento, sin una etapa adicional de envasado del contenedor o esterilización. El recipiente 1 en cuestión puede ser, por ejemplo, un frasco 2 como el que se representa en la figura 1, de vidrio u otro material que soporte la temperatura requerida, cerrado por un tapón 3 atornillado o encajado y que contiene la pasta ósea 4. Como es claramente visible en la figura 1, el tapón 3 cierra en la presente memoria una única apertura del frasco 2. Por supuesto, el estado de cierre estanco del contenedor puede obtenerse opcionalmente durante la etapa de calentamiento (b) o justo después de la misma. Y aunque la figura 1 muestra un contenedor de dos partes formado por un frasco 2 y un tapón 3, esto no es absolutamente limitativo. El contenedor también puede corresponder al uso de un conjunto con una o más envolturas no rígidas, un ensamblaje de al menos dos o tres partes, y/o una parte con una pluralidad de elementos de obturación.

55 Ventajosamente, el contenedor puede disponerse en una doble bolsa sellada permeable únicamente al gas al final de la etapa (a), de modo que el envasado esté completo antes de la etapa (b) de calentamiento, lo que permite a continuación, conservar el frasco que contiene 1 y la pasta ósea 4 en un estado estéril hasta su uso en el bloque operativo (el contenedor se abre solo en este paso).

60 No es necesaria la esterilización terminal por radiación gamma o beta (nociva para la integridad de la gelatina).

Se lleva a cabo una operación de mezclado en la etapa de suministro (a) con una parte líquida y una parte sólida, compuesta por granos de una matriz ósea al menos parcialmente mineralizada que contienen colágeno. Tales granos se pueden obtener durante una subetapa (preliminar) de desmineralización parcial. En la figura 2, una imagen hecha con un microscopio tipo Leica® DM2000 conectado a una cámara digital (controlada por un software de adquisición de imágenes) ilustra el resultado del procedimiento, al final de la etapa de calentamiento (b). Se puede observar que los granos que se han desmineralizado parcialmente (en la presente memoria todos los granos

en el caso de la figura 2) presentan una parte central mineralizada y una parte periférica desmineralizada. Entre los granos, se formó una fase de gel por exudación de la gelatina a partir del colágeno de los granos gracias a un tratamiento específico con calentamiento por encima de 100 °C. Esto permite combinar mejor las fases de la pasta ósea 4. A modo de comparación, un polvo de hueso crudo (antes del tratamiento por el procedimiento, sin tratamiento de desmineralización) se representa en la figura 3. Cada grano tiene una composición homogénea y la ausencia obvia de gel entre los granos hace que el polvo correspondiente no tenga las propiedades reológicas de una pasta (no maleable, no cohesiva y no inyectable).

Varios ejemplos detallados se dan a continuación.

Ejemplo 1: Caso en el que se utiliza una mezcla de partida constituida por una matriz ósea completamente desmineralizada y matriz ósea mineralizada

(a1) preparación de los granos de una matriz ósea completamente desmineralizada:

Se muele un fragmento óseo corticoesponjoso en forma de polvo, preferentemente con granulometría inferior a 1,5 mm, los granos en cuestión incluyen los finos (granulometría <0,2 mm en este caso preciso).

A continuación, se desmineraliza completamente los granos de una matriz ósea por medio de dos baños sucesivos en ácido clorhídrico 0,5 N a temperatura ambiente durante 4 h en agitación a razón de 50 ml de ácido clorhídrico por gramo de matriz ósea (por lo tanto se elimina el 100 % de los minerales de la fracción mineral). Se neutraliza con una solución de carbonato sódico 1 N para llevar el pH a 7, a continuación, se enjuaga con agua y se seca bajo una corriente de aire caliente durante 15 h.

(a2) preparación de los granos de una matriz ósea mineralizada:

Se muele por separado un fragmento óseo corticoesponjoso mineralizado en forma de polvo, preferentemente con granulometría inferior a 1 mm para constituir la matriz ósea mineralizada.

(a3) mezclado:

Se mezcla los granos de una matriz ósea completamente desmineralizada, los granos de una matriz ósea mineralizada y agua. Las proporciones en masa de la mezcla total pueden ser por ejemplo: matriz ósea completamente desmineralizada: 10 %; matriz ósea mineralizada: 25 %; agua: 65 %.

(b) calentamiento:

El recipiente que contiene la mezcla se calienta por autoclave a 121 °C durante 30 min.

En este tipo de configuración, el calentamiento transforma en gelatina una parte importante de los granos de una matriz ósea desmineralizada y una parte del colágeno de los granos de una matriz ósea mineralizada, lo que permite obtener una continuidad de materia entre la fase de gel (gelatina) y la fase sólida (granos de una matriz ósea mineralizada). Después del enfriamiento y gelificación, la pasta ósea es estéril, está lista para su uso y presenta la viscosidad de una masilla.

Ejemplo 2: Caso en el que se utiliza una mezcla de partida constituida por la matriz ósea parcialmente desmineralizada, sin adición de la matriz ósea mineralizada

(a'1) preparación de los granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizada:

Se muele un fragmento óseo corticoesponjoso en forma de polvo, preferentemente con granulometría inferior a 1,5 mm, los granos en cuestión incluyen los finos (granulometría <0,2 mm en este caso preciso).

A continuación, se desmineraliza parcialmente los granos de una matriz ósea en ácido clorhídrico 0,4 N a temperatura ambiente durante 1 h o 1 h 30 min en agitación a razón de 10 ml de ácido clorhídrico por gramo de matriz ósea (por lo tanto se elimina el 50 % de los minerales de la fracción mineral). Se neutraliza con una solución de carbonato sódico 1 N para llevar el pH a 7, a continuación, se enjuaga con agua y se seca bajo una corriente de aire caliente durante 15 h.

(a'3) mezclado:

Se mezcla los granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizada y agua en un recipiente estanco. Las proporciones en masa de la mezcla total pueden ser por ejemplo: granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizada: 35 %; agua: 65 %.

(b) calentamiento:

El recipiente estanco que contiene la mezcla se calienta por autoclave a 121 °C durante 1 h.

5 En este tipo de configuración, el calentamiento transforma en gelatina una parte del colágeno de los granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizada, lo que permite obtener una continuidad de materia entre la fase de gel (gelatina) y la fase sólida (parte restante de los granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizada). Después del enfriamiento y gelificación, la pasta ósea es estéril y está lista para su uso.

10 Con la proporción de agua antes mencionada del 65 %, la pasta ósea tiene una consistencia de gel líquido. La viscosidad de la pasta ósea final puede ajustarse en función de las necesidades, modificando esta proporción de agua en la mezcla de partida. Por ejemplo, una proporción de agua del 55 % dará una viscosidad más elevada, al tiempo que conserva el carácter inyectable con una jeringa que dispone un orificio de aproximadamente 3 mm de diámetro. Esta observación es válida para todas las formas de realización de la invención.

15 **Ejemplo 3: Caso en el que se utiliza una mezcla de partida constituida por colágeno y matriz ósea mineralizada**

(a"1) preparación de los granos de colágeno:

20 Se selecciona del colágeno en forma de polvo o filamentos, deshidratado por liofilización u otros medios de secado.

(a"2) preparación de los granos de una matriz ósea mineralizada:

25 Se muele por separado un fragmento óseo corticoesponjoso mineralizado en forma de polvo, preferentemente con granulometría inferior a 1 mm para constituir la matriz ósea mineralizada.

(a"3) mezclado:

30 Se mezcla los granos de colágeno, los granos de una matriz ósea mineralizada y agua. Las proporciones en masa de la mezcla total pueden ser por ejemplo: colágeno: 10 %; matriz ósea mineralizada: 25 %; agua: 65 %.

(b) calentamiento:

35 El recipiente que contiene la mezcla se calienta por autoclave a 121 °C durante 30 min.

El calentamiento transforma en gelatina una parte importante del colágeno puro y una parte del colágeno de los granos de una matriz ósea mineralizada, lo que permite obtener una continuidad de materia entre la fase de gel (gelatina) y la fase sólida (granos de una matriz ósea mineralizada). Después del enfriamiento y gelificación, la pasta ósea es estéril, está lista para su uso y presenta la viscosidad de una pasta.

40 **Ejemplo 4: Caso en el que se utiliza una mezcla de partida constituida por una matriz ósea parcialmente desmineralizada y por un biomaterial osteoconductor mineralizado**

45 **(a'1) preparación de los granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizada:**

Se muele un fragmento óseo corticoesponjoso en forma de polvo, preferentemente con granulometría inferior a 1,5 mm, los granos en cuestión incluyen los finos (granulometría <0,2 mm en este caso preciso).

50 A continuación, se desmineraliza parcialmente los granos de una matriz ósea en ácido clorhídrico 0,6 N a temperatura ambiente durante 1 h en agitación a razón de 10 ml de ácido clorhídrico por gramo de matriz ósea (por lo tanto se elimina el 70 % de los minerales de la fracción mineral). Se neutraliza con una solución de carbonato sódico 1 N para llevar el pH a 7, a continuación, se enjuaga con agua y se seca bajo una corriente de aire caliente durante 15 h.

55 **(a'2) suministro de un biomaterial osteoconductor mineralizado:**

El biomaterial osteoconductor se selecciona entre biomateriales sintéticos en forma de polvo, como fosfato tricálcico beta. La granulometría del polvo del biomaterial se comprende preferentemente entre 0,2 mm y 1 mm.

60 **(a'3) mezclado:**

Se mezcla los granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizada, el polvo de fosfato tricálcico beta y agua en un recipiente estanco. Las proporciones en masa de la mezcla total pueden ser, por ejemplo: granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizada: 30%; granos de fosfato tricálcico beta: 10 %; agua: 60 %.

(b) calentamiento:

El recipiente estanco que contiene la mezcla se calienta por autoclave a 121 °C durante 45 min. Después del enfriamiento y gelificación, la pasta ósea es estéril, está lista para su uso y presenta la viscosidad de una masilla.

5

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de preparación de una pasta ósea osteoconductor, que comprende al menos las siguientes etapas:
- 5 (a) una etapa de suministro durante la cual se proporciona, en un contenedor (2, 3), una mezcla de partida que contiene una solución acuosa y un producto granular que comprende al menos colágeno y minerales, el colágeno representa entre el 30 % y el 90 % en peso seco del producto granular y los minerales representan entre el 10 % y el 70 % en peso seco del producto granular, al menos una parte del colágeno está contenida en granos de una matriz ósea al menos parcialmente mineralizada,
- 10 (b) una etapa de calentamiento durante la cual se calienta, en el contenedor (2, 3), la mezcla de partida a una temperatura de al menos 100 °C, preferentemente 121 °C, para transformar en gelatina una parte del colágeno, de modo que se establece una continuidad entre la gelatina y la matriz ósea al menos parcialmente mineralizada y de modo que se obtiene así una pasta ósea cohesiva y de viscosidad definida, la etapa de calentamiento
- 15 permite la esterilización de la pasta ósea en el contenedor (2, 3),
- por medio del cual, tras el enfriamiento y la gelificación, la pasta ósea (4) está lista para su uso y se mantiene estéril en dicho contenedor (2, 3) en un estado de cierre estanco del contenedor.
- 20 2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que en la etapa de calentamiento (b), la mezcla de partida se calienta durante un periodo comprendido entre 10 min y 2 h, preferentemente comprendido entre 18 min y 1 h.
3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que en la etapa de calentamiento (b), la mezcla de partida se calienta durante un periodo comprendido entre 18 min y 1 h y a una temperatura comprendida entre
- 25 100 °C y 150 °C.
4. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que en la etapa de suministro (a), la mezcla de partida se suministra en el contenedor en un estado de cierre estanco y se calienta en la etapa de calentamiento (b) en dicho contenedor en un estado de cierre estanco.
- 30 5. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4, en el que en la etapa de suministro (a), el contenedor estanco se coloca en una bolsa sellada y se calienta en la etapa de calentamiento (b) en dicha bolsa sellada.
6. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la etapa de calentamiento (b) se realiza con vapor de agua, al baño maría o con calor seco.
- 35 7. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que en la etapa de suministro (a), los minerales representan entre el 20 % y el 60 % en peso seco del producto granular y el colágeno representa entre el 40 % y el 80 % en peso en seco del producto granular.
- 40 8. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que en la etapa de suministro (a), la solución acuosa de la mezcla de partida se selecciona entre agua, suero fisiológico o una solución de tampón fisiológica.
- 45 9. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que en la etapa de suministro (a), la solución acuosa representa entre el 40 % y el 75 % en peso total de la mezcla de partida.
10. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que en la etapa de suministro (a), el material granular tiene una granulometría inferior a 4 mm, preferentemente inferior a 1,5 mm.
- 50 11. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que en la etapa de suministro (a), la mezcla de partida consta además de un biomaterial osteoconductor mineralizado.
12. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que en la etapa de suministro (a), la mezcla de partida consta de granos de una matriz ósea completamente desmineralizada y granos de una matriz ósea mineralizada.
- 55 13. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que en la etapa de suministro (a), la mezcla de partida consta de granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizada que comprende entre 20 % y 70 % de minerales en peso seco, preferentemente entre 40 % y 60 % de minerales en peso seco.
- 60 14. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que en la etapa de suministro (a), la mezcla de partida comprende colágeno purificado y granos de una matriz ósea mineralizada.
- 65 15. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 12, en el que la etapa de suministro (a) comprende al menos las siguientes subetapas:

(a1) una subetapa de preparación de granos de una matriz ósea completamente desmineralizada por desmineralización y molienda a partir de hueso,

(a2) una subetapa de preparación de granos de una matriz ósea mineralizada por molienda de hueso,

5 (a3) una subetapa de mezclado durante la cual se mezcla al menos los granos de una matriz ósea completamente desmineralizada, los granos de una matriz ósea mineralizada y la solución acuosa para obtener dicha mezcla de partida.

16. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 13, en el que la etapa de suministro (a) comprende al menos las siguientes subetapas:

10 (a'1) una subetapa de preparación de granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizada por desmineralización y molienda de hueso,

(a'3) una subetapa de mezclado durante la cual se mezcla al menos los granos de una matriz ósea parcialmente desmineralizado y la solución acuosa para obtener dicha mezcla de partida.

15 17. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 14, en el que la etapa de suministro (a) comprende al menos las siguientes subetapas:

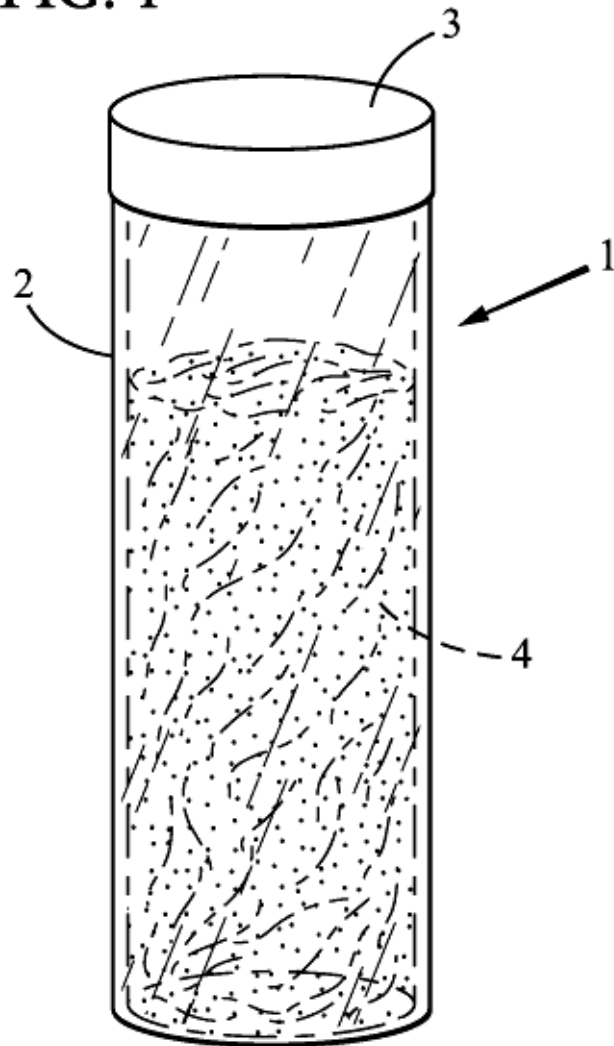
(a"2) una subetapa de preparación de granos de una matriz ósea mineralizada por molienda de hueso,

20 (a"3) una subetapa de mezclado durante la cual se mezcla al menos los granos de una matriz ósea mineralizada, el colágeno purificado y la solución acuosa para obtener dicha mezcla de partida.

18. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 15 o la reivindicación 16 o la reivindicación 17, en el que, durante la subetapa de mezclado, se mezcla al menos un biomaterial osteoconductor mineralizado con los otros constituyentes de la mezcla de partida.

25

FIG. 1



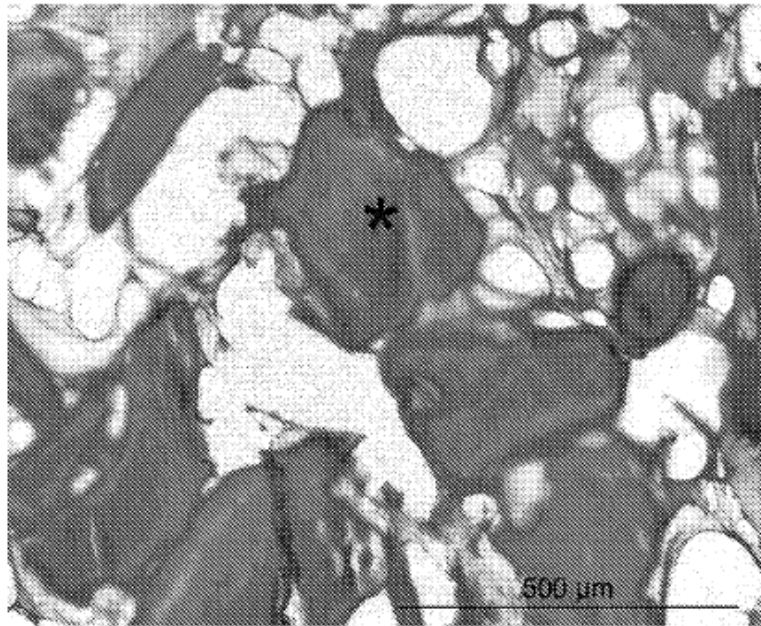


FIG. 2

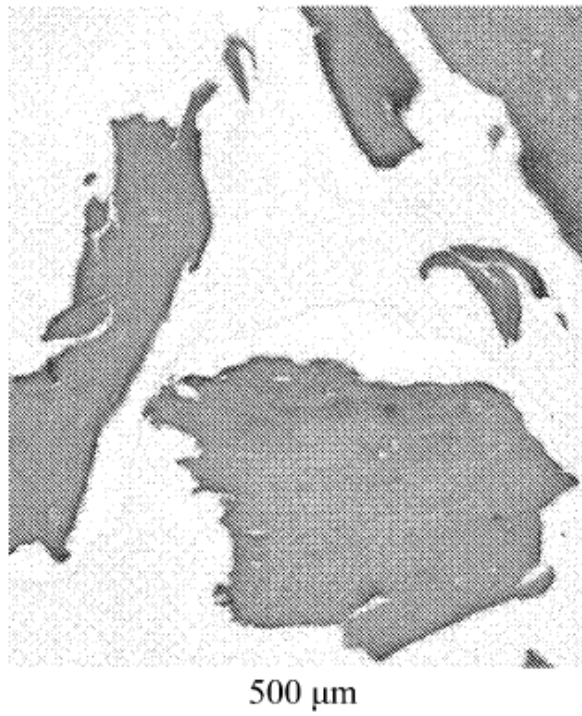


FIG. 3