

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 755 421**

51 Int. Cl.:

**A61K 6/033** (2006.01)

**A61L 27/12** (2006.01)

**C01B 25/32** (2006.01)

**A61F 2/28** (2006.01)

**C04B 28/34** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.02.2016 PCT/IB2015/001241**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.04.2016 WO16051244**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.06.2015 E 15845889 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2019 EP 3160422**

54 Título: **Nuevo procedimiento de fabricación en una única etapa de biomateriales alveolares**

30 Prioridad:

**25.06.2014 ES 201430964**

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

**22.04.2020**

73 Titular/es:

**UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA  
(100.0%)**

**Til·lers 1a planta, Jordi Girona 31, Catalunya  
08034 Barcelona, ES**

72 Inventor/es:

**PASTORINO CARRAZ, DAVID;  
CANAL BARNILS, CRISTINA y  
GINEBRA MOLINS, MARIA PAU**

74 Agente/Representante:

**TORNER LASALLE, Elisabet**

ES 2 755 421 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

Nuevo procedimiento de fabricación en una única etapa de biomateriales alveolares

5 Se describe un nuevo procedimiento de fabricación en una única etapa de biomateriales alveolares. Tal procedimiento se basa en la mezcla y en el espumado simultáneos de una fase pulverulenta y de una fase líquida para producir una estructura macroporosa.

Campo técnico

10 La presente invención versa acerca de procedimientos para la preparación de biomateriales —en particular espumas, matrices y estructuras sólidas— adecuados para una cirugía ósea y odontología, una regeneración ósea, el relleno de defectos óseos, estabilizar fracturas de hueso, recubrimientos de prótesis o implantes, fijación de prótesis o implantes, sistemas de administración de fármacos y matrices de ingeniería tisular y acerca de biomateriales obtenidos de ese modo.

Antecedentes

15 La presente invención está enmarcada en el área de biomateriales para la regeneración de tejido óseo y, más específicamente, en el área de cementos de fosfato cálcico. Desde 1985, cuando Brown y Chow presentaron la primera patente de este tipo de materiales (documento US4518430), se han desarrollado distintas formulaciones de cementos a base de fosfato cálcico. Estos tipos de materiales están basados en la mezcla de una o más sales cálcicas con una disolución acuosa para obtener un cemento que es capaz de fraguarse en condiciones fisiológicas. El producto de reacción es un fosfato cálcico con una composición muy similar a la fase mineral que forma el tejido óseo. Durante el fraguado, la pasta plástica forma una estructura sólida.

20 El fraguado del cemento es un resultado del procedimiento de disolución de los reactivos y la precipitación de una nueva fase, que se produce a temperatura ambiente o corporal. En la mayoría de los cementos desarrollados durante los últimos años, el producto de reacción es una hidroxiapatita, que es muy similar a la biológica: es nanocristalina, no estequiométrica y puede incorporar distintos iones dependiendo de la composición de los reactivos y del medio.

25 El desarrollo de cementos, especialmente para tratar defectos óseos, se asocia con dos ventajas importantes en comparación con el uso de fosfatos cálcicos en gránulos o bloques. Por una parte, la inyectabilidad permite la implantación del cemento mediante técnicas quirúrgicas mínimamente invasivas. Por otra parte, el cemento se adapta perfectamente a la geometría del defecto, incluso en los complicados, lo que garantiza una aposición perfecta del tejido óseo y del material. Esto permite la estabilización del defecto y, por lo tanto, el procedimiento de cicatrización es más rápido.

30 Se pueden regular las propiedades del fraguado y del endurecimiento del cemento modificando distintos parámetros de procesamiento, tales como la composición química de los reactivos, el tamaño de las partículas, la adición de materiales germinales, etc. Esto hace que los cementos de fosfato cálcico sean materiales muy versátiles, dado que pueden adaptarse a requisitos clínicos para distintas aplicaciones.

35 Distintos estudios han demostrado que los cementos de fosfato cálcico son sumamente biocompatibles, osteoconductores y que estimulan la regeneración ósea. Sin embargo, además de ser osteoconductor, el cemento ideal debería ser capaz de ser resorbido con la misma velocidad a la que puede crecer el tejido óseo, siendo sustituido progresivamente por el tejido óseo recién formado. Aunque la mayoría de los cementos desarrollados son más resorbibles que las apatitas sinterizadas a alta temperatura, presentan cinéticas sumamente bajas de resorción y, en muchos casos, el cemento permanece intacto en el tejido óseo circundante durante años.

40 En los cementos apatíticos, que se reabsorben principalmente mediante procedimientos activos de resorción celular, la macroporosidad desempeña un papel importante. Estos procedimientos activos de resorción están basados en el hecho de que los osteoclastos (células óseas) degradan el material capa a capa comenzando con la superficie de contacto exterior hueso-cemento y yendo hacia el interior. Este procedimiento es muy lento cuando tiene que ver con un material denso o uno microporoso. Ciertamente, distintos estudios establecieron que para que el procedimiento de colonización del tejido óseo sea posible, es necesario tener poros superiores a 70  $\mu\text{m}$ . Los cementos convencionales de fosfato cálcico, aunque son micro o nanoporosos después del fraguado, no contienen macroporosidad en este intervalo que estimula el crecimiento óseo. Esto obstruye su resorción y su transformación en tejido óseo en un periodo adecuado de tiempo. Al contrario, si se obtiene un material con una macroporosidad interconectada, se permiten la angiogénesis y el crecimiento tisular en el interior del material. Si los macrófagos y los osteoclastos pueden penetrar hacia el interior del material, la resorción se producirá en volumen y, por lo tanto, será más rápida. Por otra parte, el recrecimiento tisular puede ser estimulado llenando los poros con factores osteoinductores u osteoconductores, tales como las proteínas morfogenéticas del hueso (BMP). Estos factores son bien conocidos por un experto en la técnica. También se pueden introducir otros agentes terapéuticos tales como

45

50

55 antibióticos u otros fármacos en el material, mezclándolos con la fase líquida o con la fase pulverulenta.

Cuando fraguan los cementos de fosfato cálcico, forman una malla de cristales de fosfato cálcico, formados por precipitación a partir de la disolución de reactivos. Esta estructura tiene una porosidad muy elevada, en el intervalo micro o nanométrico, que puede alcanzar valores de hasta un 60%. No obstante, esta micro o nanoporosidad no es suficiente para permitir ni el crecimiento del tejido óseo hacia el interior del material, ni la angiogénesis, siendo este aspecto crucial para obtener una regeneración ósea real. Esta regeneración exige la colonización progresiva del material por tejido recién formado, y la reabsorción simultánea del material, mediante la acción de las células osteoclasticas.

Las patentes EP 1150722 y US 6642285 dan a conocer implantes porosos basados en cementos de fosfato cálcico, que se obtienen en un procedimiento de dos etapas, obteniendo, en concreto, una pasta de cemento que contiene calcio y mezclándola, subsiguientemente, con un líquido hidrófobo. Se divulga un agente tensioactivo como un aditivo en la fase acuosa, con el fin de reducir la tensión superficial y facilitar, de esta manera, la formación de la emulsión entre las dos fases (la pasta de cemento y el líquido hidrófobo). Al escoger el líquido hidrófobo y las proporciones correspondientes de forma adecuada, el fraguado del cemento proporciona una estructura macroporosa de hidroxiapatita.

La patente EP1117626 B2 da a conocer un procedimiento para producir cerámica alveolar utilizando un aglutinante y/o uno o más tensioactivos orgánicos en un procedimiento de dos etapas. En primer lugar, se espuma la cubierta cerámica que incluye el aglutinante orgánico y, opcionalmente, el o los tensioactivos utilizando un molino de bolas. Entonces, se calienta la espuma resultante para quemar el aglutinante orgánico y es sinterizada a alta temperatura y, por lo tanto, no es adecuada para su inyección en un cuerpo de mamífero y un fraguado subsiguiente en el interior del cuerpo de mamífero.

La patente US6340648 B1 da a conocer un procedimiento de tres etapas para producir sustitutos óseos macroporosos. Se prepara una suspensión espesa dispersando/disolviendo polvo de fosfato cálcico, un polímero orgánico y un agente espumante. Entonces, se espuma mecánicamente dicha suspensión espesa y es reticulada para ser secada finalmente y sinterizada a alta temperatura.

La patente US6713420 B2 da a conocer un procedimiento para producir cerámica porosa, presentando al menos un 80% de los poros un diámetro de al menos 5  $\mu\text{m}$ . El procedimiento consiste en espumar una mezcla de una resina polimérica reticulable, polvo de hidroxiapatita y un tensioactivo. Entonces, se añade un producto reticulante a la misma, y se seca la suspensión espesa espumada y se la sinteriza a alta temperatura, no siendo adecuada por lo tanto, para su inyección en un cuerpo de mamífero y un fraguado subsiguiente en el interior del cuerpo de mamífero. De forma similar, la patente US 6340648 B1 describe un procedimiento para producir un cuerpo sinterizado poroso de fosfato cálcico. El procedimiento comprende distintas etapas: preparar una suspensión espesa dispersando y/o disolviendo polvo de fosfato cálcico y un material polimérico orgánico y un agente espumante; espumarla hasta un volumen recomendado agitando y/o introduciendo gas; añadir un agente reticulante y/o un iniciador de reticulación a la suspensión espesa alveolar; mezclarla y endurecerla mediante una polimerización reticulante para formar un cuerpo compacto; y secar el cuerpo compacto seguido de su sinterización. Por lo tanto, como en la patente descrita anteriormente, la etapa final es un tratamiento térmico para obtener un cuerpo poroso sinterizado.

Zhou y otros, (Preparation of high open porosity ceramic foams via direct foaming molded and dried at room temperature, J Eur Ceram Soc 2014: 1-10) dan a conocer un procedimiento de tres etapas utilizando  $\alpha$ -TCP para estabilizar la espuma producida antes de la sinterización.

La patente EP1787626 B1 da a conocer un procedimiento de dos etapas, en el que se espuma una fase líquida y es mezclada, subsiguientemente, bien con la fase pulverulenta o bien con una pasta preparada anteriormente. De forma similar, Montufar y otros, publicaron resultados de interés (Montufar, E. B. y otros, Foamed surfactant solution as a template for self-setting injectable hydroxyapatite scaffolds for bone regeneration. Acta Biomater. 6, 876-885 (2010); Montufar, E. B., Traykova, T., Planell, J. A. y Ginebra, M. P. Comparison of a low molecular weight and a macromolecular surfactant as foaming agents for injectable self-setting hydroxyapatite foams: Polysorbate 80 versus gelatine. Mater. Sci. Eng. C 31, 1498-1504 (2011)) relacionados con la obtención de espumas autofraguables de fosfato cálcico. El procedimiento de fabricación se basó en la preparación de una espuma estable a base de agua mediante un batido mecánico de una disolución acuosa que contiene moléculas tensioactivas. En una segunda etapa, esta espuma estable fue mezclada subsiguientemente con una fase pulverulenta de fosfato cálcico. Se afirmó que el líquido espumado actuaba como plantilla para la fabricación de espuma sólida.

La patente US 2014012271 A1 da a conocer un procedimiento y un dispositivo para preparar una espuma de fosfato cálcico que comprende: mezclar a) una primera fase que comprende agua, propelente y un agente estabilizante y b) una segunda fase que comprende una o más fuentes de calcio y/o de fosfato, e iniciar un espumado durante la mezcla de las fases primera y segunda. El propelente permite el espumado de la primera fase y de la segunda cuando se mezclan las al menos dos fases y el agente estabilizante soporta las burbujas formadas durante el espumado.

Kim y otros, (Self-setting wet foams to porous ceramics by direct foaming, Journal of Ceramics Processing Research 2013: 14-4) dan a conocer un procedimiento en el que se lleva a cabo un espumado mecánico después de mezclar

una suspensión coloidal con Portland Cement. Además, el uso de sales de litio es perjudicial para la biocompatibilidad.

5 Gauckler y otros, (Microstructural control of self-setting particle-stabilized ceramic foams, J.Am.Ceram.Soc. 2011: 94-1) presentaron un protocolo similar cuando la adición de polvo de cemento y de acelerante era seguida por una dispersión y un espumado.

10 Aunque se demostró que se obtenían cuerpos macroporosos mediante diversos procedimientos, la mayoría de ellos no dio lugar a materiales inyectables. Cuando se considera el material utilizado como injerto óseo, la inyectabilidad garantiza que el material rellena todo el defecto, incluso en un caso de geometría compleja. Además, se pueden utilizar materiales inyectables en cirugías mínimamente invasivas y, por lo tanto, reducen la morbilidad de la operación.

La etapa de sinterización del cuerpo no tratado presente en diversos procedimientos para producir fosfatos cálcicos macroporosos requiere alcanzar temperaturas elevadas durante una cantidad adecuada de tiempo, generalmente unas horas. Entonces, los procedimientos pueden llevar mucho tiempo y ser costosos.

15 Múltiples etapas en el procedimiento de fabricación pueden ser un obstáculo a un aumento de escala eficaz del procedimiento. La aplicabilidad industrial y la rentabilidad de la implementación de una preparación de dos o tres etapas de materiales macroporosos son bajas en comparación con un procedimiento de una sola etapa. Un procedimiento reproducible de una única etapa permite una industrialización más sencilla del procedimiento de fabricación.

#### Sumario de la invención

20 La presente invención versa acerca de un procedimiento para obtener espumas autofraguables de fosfato cálcico que comprende la etapa de mezclar y de espumar simultáneamente una fase pulverulenta y una fase líquida, comprendiendo la fase pulverulenta al menos una fuente de calcio y al menos una fuente de fosfato, y comprendiendo la fase líquida una disolución acuosa. Al menos una de las fases contiene al menos un aditivo seleccionado del grupo constituido por agentes espumantes y tensioactivos. Específicamente, la presente invención describe la composición el procedimiento adecuados para obtener n espumas autofraguables de fosfato cálcico de una forma reproducible y aplicable industrialmente. Debido a su capacidad autofraguable, no es necesario sinterizar los materiales después del espumado. Se puede permitir que se fragüen estas espumas para proporcionar un cuerpo sólido, por ejemplo mediante el uso de un molde que tiene la forma del defecto óseo de interés. De forma alternativa, se puede inyectar la espuma en un cuerpo de mamífero, preferentemente un cuerpo humano, y fraguarse en el mismo, proporcionando una estructura sólida macroporosa de fosfato cálcico, con una macroporosidad muy interconectada, producida durante el procedimiento de espumado. La macroporosidad se superpone a la micro/nanoporosidad inherente de las paredes de fosfato cálcico.

25

30

35 El procedimiento según la invención se define en la reivindicación 1 y permite obtener estructuras sólidas macroporosas interconectadas de fosfato cálcico fácilmente reproducibles, que permiten el rápido recrecimiento óseo y que tienen una tasa adecuada de resorción. Esto hace que sea posible la sustitución progresiva del material por tejido óseo recién formado.

40 Un procedimiento para la preparación de una estructura sólida, adecuada para su uso en cirugía ósea y en odontología, en regeneración ósea, en el relleno de defectos óseos, la estabilización de fracturas de hueso, el recubrimiento de prótesis o de implantes, la fijación de prótesis o de implantes, sistemas de administración de fármacos, y matrices de ingeniería tisular, puede comprender un procedimiento según la invención y una etapa adicional de permitir que se fragüe la espuma, bien después de la inyección en un cuerpo de mamífero, o bien fuera de un cuerpo de mamífero.

45 Las espumas de fosfato cálcico desarrolladas pueden ser utilizadas bien inyectándolas directamente en el cuerpo, como materiales de regeneración ósea, o bien fabricando estructuras sólidas fraguadas de antemano, que pueden ser implantadas en un estado sólido o que pueden ser utilizadas como matrices o sustratos para la ingeniería tisular.

#### Descripción detallada de la invención

50 La presente invención aborda el procedimiento de producción o de preparación de una espuma macroporosa autofraguable de fosfato cálcico que puede ser inyectada y que se obtiene mezclando y espumando simultáneamente una fase líquida y una fase pulverulenta que comprende al menos una fuente de calcio y al menos una fuente de fosfato. La forma sugerida es mezclar y espumar simultáneamente la fase líquida y la fase pulverulenta. La adición de moléculas de tensioactivo o de un agente espumante al cemento, como una forma de estabilizar las burbujas de aire en la pasta, permite obtener una espuma macroporosa interconectada. Se ha verificado que el mezclado y el espumado simultáneos de la fase líquida y de la fase pulverulenta producen una macroporosidad elevada con un grado elevado de interconexión entre los macroporos. No se necesita ningún propelente para el procedimiento de espumado.

55

En consecuencia, la invención versa acerca de un procedimiento según se define en la reivindicación 1 para la preparación de una espuma autofraguable de fosfato cálcico, caracterizado porque comprende la etapa de mezclar y de espumar simultáneamente una fase pulverulenta y una fase líquida, comprendiendo la fase pulverulenta al menos una fuente de calcio y al menos una fuente de fosfato, y comprendiendo la fase líquida una disolución acuosa, y comprendiendo al menos una de las fases uno o más aditivos seleccionados del grupo que consiste en tensioactivos y agentes espumantes. Es decir, la espuma puede obtenerse mediante un procedimiento de una única etapa. Esto es claramente distinto de los procedimientos descritos anteriormente ((Montufar, E. B. y otros, Foamed surfactant solution as a template for self-setting injectable hydroxyapatite scaffolds for bone regeneration. *Acta Biomater.* 6, 876-885 (2010); Montufar, E. B., Traykova, T., Planell, J. A. y Ginebra, M. P. Comparison of a low molecular weight and a macromolecular surfactant as foaming agents for injectable self-setting hydroxyapatite foams: Polysorbate 80 versus gelatine. *Mater. Sci. Eng. C* 31, 1498-1504 (2011) y EP1787626 B1), que requieren obtener una espuma líquida estable antes de mezclarla con una fase pulverulenta. La expresión "fase pulverulenta" hace referencia a uno o diversos sólidos, cada uno de ellos en forma de material particulado o de polvo, es decir con una distribución específica de tamaño de partícula y una composición homogénea.

En el marco de la presente invención, cuando se indica un tamaño de partícula, el procedimiento de medición empleado es el procedimiento de difracción láser.

Según la invención, el mezclado y el espumado simultáneos de las dos fases llevados a cabo mediante el desplazamiento repetitivo de vaivén de las fases entre dos recipientes mediante una conexión estrecha entre los mismos, conteniendo uno de los recipientes inicialmente la fase pulverulenta y el otro la fase líquida. Se prefiere el desplazamiento repetitivo de vaivén de las fases entre dos jeringas conectadas por la punta.

En el marco de la presente invención, la expresión "tensioactivos y agentes espumantes" comprende tanto tensioactivos, que son compuestos que reducen la tensión superficial (o la tensión interfacial) entre dos líquidos o entre un líquido y un sólido, y pueden actuar como detergentes, agentes humectantes, emulsionantes, agentes espumantes y dispersantes, y agentes espumantes, que son materiales que facilitan la formación de espuma, y pueden ser bien un tensioactivo o bien un agente esponjante.

Se prefieren los tensioactivos que tienen propiedades espumantes. Ejemplos preferentes de "tensioactivos y agentes espumantes" son alquilbencenosulfonatos, sulfonatos de lignina, etoxilados de alcohol graso, alquilfenoletoxilados, isocianato, bicarbonato sódico, hidruro de titanio o hidruro de circonio.

Se puede utilizar una gran variedad de moléculas como agentes tensioactivos, con un carácter aniónico, catiónico o no iónico. Sin embargo, dado que el material diseñado debería ser adecuado para ser inyectado en un cuerpo de mamífero, preferentemente un cuerpo humano, y, con más precisión, en el tejido óseo, es conveniente, y por lo tanto preferente, seleccionar un tensioactivo biocompatible. En este sentido, los tensioactivos no iónicos son de interés especial, aunque se sugieren otros tipos de tensioactivos. Algunos ejemplos son los ésteres de sorbitano, tales como monooleato de sorbitano o monopalmitato de sorbitano, ésteres de polioxisorbitano, tales como monooleato de polioxietileno sorbitano (Tween 80, Polisorbato 80) y monolaurato de polioxietileno sorbitano (Tween 20). Todos ellos están autorizados para formulaciones de fármacos parenterales.

Los tensioactivos poliméricos, tales como los basados en polímeros de bloques de óxido de etileno - óxido de propileno (Poloxámeros, también denominados Pluronic), son de interés para estas aplicaciones junto con algunos fosfolípidos, como lecitinas o ésteres de sacarosa.

En una realización preferente, se selecciona el tensioactivo no iónico entre monooleato de sorbitano, monopalmitato de sorbitano, monooleato de polioxietileno sorbitano, monolaurato de polioxietileno sorbitano, copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno, fosfatidilcolina (lecitina), fosfatidiletanolamida, fosfatidilserina, fosfatidilinositol, lisofosfatidilcolina, lisofosfatidiletanolamina, esfingomielina, monolaurato de sacarosa, monooleato de sacarosa y otros ésteres de sacarosa.

Según una realización particular, el aditivo seleccionado del grupo que consiste en tensioactivos y en agentes espumantes es un tensioactivo no iónico. Preferentemente, el tensioactivo es monooleato de polioxietileno sorbitano.

En una realización particular adicional, se añade el monooleato de polioxietileno sorbitano en la fase líquida en un % en peso entre 0,1 y 10%, con respecto a la fase líquida. Según realizaciones particulares adicionales, se utiliza el tensioactivo en un % en peso entre 0,5 y 5.

En otra realización particular, se añade, además, Poloxámero 407, un tensioactivo polimérico, en la fase pulverulenta, en un % en peso entre 1 y 20% con respecto a la fase pulverulenta.

Preferentemente, la relación entre el volumen, proporcionado en mL, de fase líquida, y el peso de la fase pulverulenta, proporcionado en gramos (g), está comprendida entre 0,35 mL (fase líquida)/g (fase pulverulenta) y 0,90 mL (fase líquida)/g (fase pulverulenta). Aún más preferentemente, la relación se encuentra entre 0,50 y 0,65 mL/g.

5 La al menos una fuente de calcio se selecciona, preferentemente, del grupo que consiste en fosfato tetracálcico, fosfato dicálcico anhidro, dihidrato de fosfato dicálcico, fosfato tricálcico alfa, fosfato tricálcico beta, monohidrato de fosfato monocálcico, hidroxiapatita, hidroxiapatita deficiente en calcio, fluorapatita, fosfato cálcico amorfo, fosfato cálcico, sódico y potásico, fosfato cálcico y sódico, fosfato cálcico y potásico, pirofosfato cálcico, carbonato cálcico, sulfato cálcico, hemihidrato de sulfato cálcico, óxido de calcio y hidróxido de calcio.

La al menos una fuente de fosfato se selecciona, preferentemente, del grupo que consiste en fosfato tetracálcico, fosfato dicálcico anhidro, dihidrato de fosfato dicálcico, fosfato tricálcico alfa, fosfato tricálcico beta, monohidrato de fosfato monocálcico, hidroxiapatita, hidroxiapatita deficiente en calcio, fluorapatita, fosfato cálcico amorfo, fosfato cálcico, sódico y potásico, fosfato cálcico y sódico, fosfato cálcico y potásico, pirofosfato cálcico y ácido fosfórico.

10 Aún más preferentemente, se utiliza una fuente común como una fuente de calcio y una fuente de fosfato, por ejemplo fosfato tetracálcico, fosfato dicálcico anhidro, dihidrato de fosfato dicálcico, fosfato tricálcico alfa, fosfato tricálcico beta, monohidrato de fosfato monocálcico, hidroxiapatita, hidroxiapatita deficiente en calcio, fluorapatita, fosfato cálcico amorfo, fosfato cálcico, sódico y potásico, fosfato cálcico y sódico, fosfato cálcico y potásico, y pirofosfato cálcico.

15 Según una realización particular, la fase líquida comprende, además, entre 0,1 y 5% en peso de uno o más de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ .

20 Según una realización particular adicional, la fase líquida comprende, además, entre 0,5 y 15% en peso, con respecto al peso total de la fase líquida, de al menos un compuesto oligomérico o polímero. Preferentemente, el compuesto oligomérico o polímero se selecciona del grupo que consiste en poloxámero, alginato de sodio, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa, almidón de hidroxietilo, almidón soluble, ciclodextrina, sulfato de dextrano, polivinilpirrolidona, quitosano y ácido hialurónico.

25 La fase pulverulenta también puede contener aditivos para que actúen como materiales germinales, tales como fosfato tricálcico precipitado o hidroxiapatita precipitada, que facilitan la nucleación de la fase precipitante en la espuma. Por lo tanto, en otra realización particular, la fase pulverulenta comprende fosfato tricálcico alfa con un tamaño medio de partícula inferior a 100 micrómetros. Preferentemente, el tamaño medio de partícula del fosfato tricálcico alfa es inferior a 15 micrómetros.

Según otra realización particular, la fase pulverulenta comprende fosfato tricálcico precipitado, en una cantidad inferior a un 10% en peso con respecto al peso total de la fase pulverulenta.

30 En una realización particular adicional, al menos una de la fase líquida y de la fase pulverulenta comprende, además, uno o más agentes biológicamente activos. Preferentemente, se selecciona dicho agente biológicamente activo del grupo que consiste en factores de crecimiento, sustancias anticancerígenas, antibióticos, antiinflamatorios, hormonas, proangiogénicos y antioxidantes.

35 El tamaño de los poros puede controlarse mediante distintos parámetros, como la concentración del tensioactivo añadido, el tamaño de la partícula de la fase pulverulenta y el tipo y la concentración de los aditivos. Este es un aspecto clave para facilitar la angiogénesis y la colonización del material por hueso recién formado.

40 Para la preparación de las espumas, es posible cualquier mezcla y composición de fuente de calcio y de fosfato. El producto final de la espuma fraguada puede variar entre dihidrato de fosfato dicálcico ( $\text{Ca/P} = 1$ ), hidroxiapatita deficiente en calcio ( $\text{Ca/P}$  entre 1,33 y 1,67), fosfato octacálcico ( $\text{Ca/P} = 1,33$ ), hidroxiapatita estequiométrica ( $\text{Ca/P} = 1,67$ ) o carbonato de apatita ( $\text{Ca/P} = 1,7$ ). Los reactivos principales para la fase pulverulenta incluyen una fuente de calcio y una fuente de fosfato, que pueden estar presentes como un componente único o como dos o más componentes. Por lo tanto, un fosfato cálcico único puede ser el reactivo principal de la fase pulverulenta, como una fuente de calcio y de fosfato. Como alternativa, puede haber presentes dos o más componentes en la fase pulverulenta y cada uno de ellos puede contener calcio, fosfato o calcio y fosfato. Se pueden seleccionar algunos de los fosfatos cálcicos de interés entre los siguientes: fosfato tetracálcico, fosfato dicálcico anhidro, dihidrato de fosfato dicálcico, fosfato tricálcico alfa, fosfato tricálcico beta, monohidrato de fosfato monocálcico, hidroxiapatita, hidroxiapatita deficiente en calcio, fluorapatita, fosfato cálcico amorfo, fosfato cálcico, sódico y potásico, fosfato cálcico y sódico, fosfato cálcico y potásico, y pirofosfato cálcico. Otros componentes de interés como fuentes de calcio son los siguientes: carbonato cálcico, sulfato cálcico, hemihidrato de sulfato cálcico, óxido de calcio o hidróxido de calcio. Entre las fuentes de fosfato, se pueden mencionar todos los fosfatos solubles y el ácido fosfórico. Los reactivos deberían fraguarse después de mezclarse con la fase líquida, que es una disolución acuosa. Esto requiere una selección precisa de los fosfatos cálcicos, que forman parte de la fase pulverulenta, sus proporciones y sus características, según se muestra, por ejemplo, en Chow y Takagi EP0721320 B1, y Constantz, patentes US 4880610, 5820632 y 6375935, entre otros.

55 La fase líquida comprende una disolución acuosa que puede incorporar uno o más iones de fosfato, de carbonato o de silicato en disolución, que pueden actuar como acelerantes o retardantes de la reacción de fraguado, y que pueden obtenerse mediante una disolución de distintos compuestos. Entre los acelerantes, se pueden mencionar

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ . Preferentemente, el acelerante de la reacción de fraguado es  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  en una concentración entre 1 y 5% en peso de la fase líquida.

5 La fase líquida también puede comprender uno o más compuestos oligoméricos o polímeros bien disueltos o bien en suspensión en la fase líquida del cemento, tal como alginato de sodio, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, celulosa de metilo, almidón de hidroxietilo, almidón soluble, ciclodextrina, sulfato de dextrano, polivinilpirrolidona, quitosano y ácido hialurónico, para aumentar la inyectabilidad y la cohesión de la pasta de cemento, evitando la desintegración de la misma según es sumergida en el medio fisiológico, según se menciona en Driessens y otros, patente U.S. nº 6.206.957.

10 Se incluyen uno o más aditivos seleccionados del grupo que consiste en tensioactivos y agentes espumantes al menos en una de las dos fases, en concreto, la fase líquida y/o la fase pulverulenta.

15 Una vez espumada, la mezcla obtenida puede ser inyectada en un cuerpo de mamífero, preferentemente un cuerpo humano, utilizando una jeringa con un diámetro entre 0,2 y 15 mm, después de un tiempo inferior a 60 minutos después de que ha finalizado el mezclado, preferentemente inferior a 15. De forma alternativa, puede introducirse en un molde y permitir que fragüe, preferentemente en condiciones fisiológicas hasta que se obtenga la estructura sólida.

20 En consecuencia, la invención también hace referencia, en un aspecto adicional, a un procedimiento para la preparación de una estructura sólida adecuada para su uso en cirugía ósea y en odontología, la regeneración ósea, el relleno de defectos óseos, la estabilización de fracturas de hueso, el recubrimiento de prótesis o de implantes, la fijación de prótesis o de implantes, los sistemas de administración de fármacos, y las matrices de ingeniería tisular, que comprenden las etapas de a) obtener una espuma autofraguable de fosfato cálcico según el procedimiento según se ha definido anteriormente y en las reivindicaciones; y b) permitir que se fragüe la espuma autofraguable de fosfato cálcico en el exterior de un cuerpo de mamífero.

Se obtiene una estructura sólida mediante este procedimiento.

25 Preferentemente, la estructura sólida tiene una porosidad total medida mediante porosimetría por inmersión en mercurio comprendida entre un 25 y un 95% en volumen y una macroporosidad (porcentaje de poros introducidos por el procedimiento) comprendida entre un 2 y un 80% en volumen.

Preferentemente, la estructura sólida comprende macroporos que tienen un diámetro comprendido entre 5 y 700  $\mu\text{m}$  según se determina mediante microscopía óptica y electrónica de barrido.

30 Es decir, la espuma autofraguable según la presente invención, tras fraguar, permite obtener una estructura sólida de una porosidad total comprendida entre un 25 y un 95% en volumen y una macroporosidad comprendida entre un 2 y un 80% en volumen. Dicha estructura sólida comprende macroporos que tienen un diámetro comprendido entre 5 y 800  $\mu\text{m}$  según se determina mediante microscopía óptica y electrónica de barrido, preferentemente entre 50 y 700  $\mu\text{m}$ , que constituyen una macroporosidad superpuesta a la porosidad intrínseca del cemento fraguado, que se encuentra en el nivel microscópico y/o nanoscópico.

35 Descripción de los dibujos

40 La Fig. 1. Como un ejemplo ilustrativo, se muestra una imagen FESEM de una sección de la espuma de fosfato cálcico obtenido mediante un procedimiento que no es parte de la invención. La espuma de fosfato cálcico se obtiene mediante la adición de un 1% en peso de un tensioactivo no iónico biocompatible a la fase líquida de un cemento de fosfato tricálcico alfa, utilizando una relación de líquido a polvo de 0,55 ml/g y un 10% en peso de Pluronic como aditivo en la fase pulverulenta. El mezclado y el espumado de las dos fases se llevaron a cabo mediante un batido mecánico durante 30 s a 6000 rpm.

A continuación, se ilustrará adicionalmente la invención con ejemplos, aunque puede entenderse que no debe interpretarse que los ejemplos restrinjan la invención a las composiciones especificadas en los ejemplos.

### Ejemplos

45 Los ejemplos 1-7 describen procedimientos que no son parte de la invención. El ejemplo 8 es parte de la invención.

#### Ejemplos 1-4

50 Para la preparación de la espuma, se utilizó una fase líquida que comprendía un 1% en peso de Tween80® (Polisorbato 80: monooleato de polioxietileno (20) sorbitano o mono-9-octadecenoato poli(oxi-1,2-etanodiílico) (x)-sorbitano disuelto en agua destilada. Se utilizó una fase pulverulenta que comprende partículas de TCP alfa que incluía un 2% en peso de hidroxiapatita precipitada como material germinal. Se escogió la relación de líquido a polvo entre 0,45 y 0,75 mL/g. Se prepararon las espumas mezclando y espumando simultáneamente las dos fases, mediante un batido mecánico a 6000 rpm durante 30 s, y fueron moldeadas, entonces, mediante inyección en moldes cilíndricos y se permitió que fraguasen durante aproximadamente 24 horas, a una humedad relativa del

100% y 37°C, seguido por 6 días sumergidas en agua destilada a 37°C. Entonces, se evaluaron la resistencia a la compresión, el diámetro medio de interconexión y la porosidad total para cada una de las espumas.

- 5 Para todas las espumas que fueron preparadas, se observó que se obtuvo una pasta macroporosa interconectada. Una vez sumergidas en agua destilada, las espumas de fosfato cálcico tuvieron cohesión, proporcionando, después del fraguado, espumas sólidas de hidroxiapatita con distintas propiedades. En la Tabla 1 se presenta la porosidad total, la interconectividad y la resistencia a la compresión.

TABLA 1. Composición, resistencia a la compresión, porosidad total y diámetro medio de interconexión de las distintas espumas preparadas. Se proporciona la desviación estándar entre paréntesis (n=12).

Ejemplo nº	Relación L/P (mL/g)	Resistencia a la compresión (MPa ± SD)	Porosidad total (% ± SD)	Diámetro medio de interconexiones (µm ± SD)
1	0,45	1,85 (± 0,34)	76,7 (± 1,1)	123 ± 13
2	0,55	0,62 (± 0,06)	83,9 (± 0,3)	189 ± 41
3	0,65	0,29 (± 0,03)	86,8 (± 0,6)	203 ± 17
4	0,75	0,11 (± 0,02)	89,0 (± 0,4)	177 ± 19
Ejemplo comparativo	0,55 (EP1787626B1)	-	71,98 (± 4,94)	-

- 10 Se observó que, en todo el intervalo de relación de líquido a polvo estudiado, se obtuvo un efecto sobre la macroporosidad. En general, se obtuvieron espumas más porosas cuando se utilizó una mayor relación de líquido a polvo. El aumento de la relación de líquido a polvo redujo la resistencia a la compresión de las espumas, y también produjo una variación en el diámetro medio de interconexión.

- 15 El coeficiente de variación de espumas con la misma composición preparada mediante el protocolo descrito en el documento EP 1787626 B1 dio lugar a una variación de un 6,86% mientras que el protocolo descrito en la presente memoria dio lugar a una variación de un 0,32% en el valor de la porosidad total, según se mide mediante inmersión en mercurio y picnometría de helio.

#### Ejemplos 5-7

- 20 Para la preparación de espuma, se utilizó una fase líquida que comprendía un 1% en peso de Tween 80® disuelto en agua destilada. Se utilizó una fase pulverulenta que comprendía partículas de TCP alfa que incluían un 2% en peso de hidroxiapatita precipitada como material germinal y un porcentaje variable de Pluronic F127 (Poloxámero 407), un tensioactivo polimérico a base de polímeros de bloques de óxido de etileno - óxido de propileno. Se fijó la relación de líquido a polvo en 0,65 mL/g. Se preparó la espuma mezclando y espumando simultáneamente las dos fases, mediante un batido mecánico a 6000 rpm durante 25 s y fue moldeada, entonces, mediante inyección en moldes cilíndricos y se permitió que fraguase durante aproximadamente 24 horas con una humedad relativa de 25 100% y a 37 °C, seguido por 6 días sumergida en agua destilada a 37 °C. Entonces, se evaluaron la resistencia a la compresión, el diámetro medio de interconexión y la porosidad total para cada espuma.

Tabla 2:

Ejemplo nº	Pluronic (% en peso)	Resistencia a la compresión (MPa ± SD)	Porosidad total (% ± SD)	Diámetro medio de interconexiones (µm ± SD)
3	0	0,29 ± 0,03	86,8 ± 0,6	203 ± 17
5	5	0,22 ± 0,02	88,9 ± 1,1	143 ± 13
6	10	0,76 ± 0,12	83,7 ± 0,2	124 ± 21
7	15	0,86 ± 0,07	84,72 ± 1,25	97 ± 27

La adición de Pluronic F127 permitió controlar el diámetro de las interconexiones entre los macroporos desde 203  $\mu\text{m}$  bajando hasta 97  $\mu\text{m}$ . Siendo la porosidad total superior a un 80%, este aditivo permite afinar el tamaño del poro y las propiedades mecánicas.

Ejemplo 8

- 5 Para la preparación de espuma, se utilizó la fase líquida que comprendía un 1% en peso de Pluronic F-127 (Poloxámero 407) y un 8% en peso de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  como acelerante disuelto en agua destilada. Se utilizó una fase pulverulenta que comprendía partículas de TCP alfa que incluían un 2% en peso de hidroxiapatita precipitada como material germinal y un 9% en peso de Pluronic F127 (Poloxámero 407). Se fijó la relación de líquido a polvo en 0,55 mL/g.
- 10 Se colocó una fase pulverulenta en una jeringa de 3 mL mientras que se colocó la fase líquida en una jeringa de 5 mL. Se conectaron las dos jeringas entre puntas utilizando un conector Luer-Lock hembra doble. Se llevaron a cabo 10 movimientos de vaivén para mezclar y espumar simultáneamente las dos fases, durante 15 s. Entonces, se moldeó la espuma mediante inyección en moldes cilíndricos y se permitió que fraguara durante 7 días con una humedad relativa del 100% y 37 °C.
- 15 En la Fig. 2 se documenta la distribución del tamaño del poro de entrada según se mide mediante porosimetría por inmersión en mercurio. La porosidad total evaluada mediante porosimetría por inmersión en mercurio es de un 74,0%, siendo un 55,5% los poros superiores a 10  $\mu\text{m}$ .

**REIVINDICACIONES**

1. Un procedimiento para la preparación de una espuma autofraguable de fosfato cálcico, caracterizado porque comprende una única etapa de mezclado y de espumado simultáneo, una fase pulverulenta y una fase líquida, en el que la fase pulverulenta comprende al menos una fuente de calcio y al menos una fuente de fosfato, en el que la fase líquida es una disolución acuosa, en el que la fase pulverulenta, la fase líquida o ambas contienen al menos un aditivo seleccionado del grupo que consiste en tensioactivos y agentes espumantes, y en el que el mezclado y el espumado simultáneos son llevados a cabo mediante movimientos de vaivén del material mediante una conexión estrecha entre dos recipientes, conteniendo uno de ellos inicialmente la fase pulverulenta y el otro la fase líquida.
2. Un procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el mezclado y el espumado simultáneos se llevan a cabo mediante un batido mecánico a una velocidad de rotación entre 1000 rpm y 15000 rpm.
3. Un procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque los dos recipientes son dos jeringas y los movimientos de vaivén son llevados a cabo mediante una conexión entre puntas entre las dos jeringas.
4. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque al menos uno de los aditivos es un tensioactivo no iónico y porque el tensioactivo es monooleato de polioxietileno sorbitano.
5. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque se añade monooleato de polioxietileno sorbitano en la fase líquida con un % en peso con respecto a la fase líquida entre 0,1 y 10%.
6. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la relación entre mL de fase líquida y gramos de fase pulverulenta está comprendida entre 0,35 mL/g y 0,90 mL/g.
7. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que:
  - se selecciona la al menos una fuente de calcio del grupo que consiste en fosfato tetracálcico, fosfato dicálcico anhidro, dihidrato de fosfato dicálcico, fosfato tricálcico alfa, fosfato tricálcico beta, monohidrato de fosfato monocálcico, hidroxiapatita, hidroxiapatita deficiente en calcio, fluorapatita, fosfato cálcico amorfo, fosfato cálcico, sódico y potásico, fosfato cálcico y sódico, fosfato cálcico y potásico, pirofosfato cálcico, carbonato cálcico, sulfato cálcico, hemihidrato de sulfato cálcico, óxido de calcio e hidróxido de calcio; y
  - se selecciona la al menos una fuente de fosfato del grupo que consiste en fosfato tetracálcico, fosfato dicálcico anhidro, dihidrato de fosfato dicálcico, fosfato tricálcico alfa, fosfato tricálcico beta, monohidrato de fosfato monocálcico, hidroxiapatita, hidroxiapatita deficiente en calcio, fluorapatita, fosfato cálcico amorfo, fosfato cálcico, sódico y potásico, fosfato cálcico y sódico, fosfato cálcico y potásico, pirofosfato cálcico y ácido fosfórico.
8. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque la fase líquida comprende entre 0,1 y 5% en peso de uno o más de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ .
9. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque al menos una de las fases comprende entre un 1 y un 20% en peso de al menos un compuesto oligomérico o polímero, en el que se selecciona el compuesto oligomérico o polímero del grupo que consiste en poloxámero, alginato de sodio, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa, almidón de hidroxietilo, almidón soluble, ciclodextrina, sulfato de dextrano, polivinilpirrolidona, quitosano y ácido hialurónico.
10. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado porque la fase pulverulenta comprende fosfato tricálcico alfa con un tamaño medio de partícula inferior a 100 micrómetros, preferentemente inferior a 15 micrómetros.
11. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado porque la fase pulverulenta comprende fosfato tricálcico precipitado o hidroxiapatita precipitada, en una cantidad inferior a un 10% en peso con respecto al peso total de la fase pulverulenta.
12. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizado porque al menos una de las fases comprende, además, uno o más agentes biológicamente activos, en el que se selecciona el agente biológicamente activo del grupo que consiste en factores de crecimiento, sustancias anticancerígenas, antibióticos y antioxidantes.
13. Un procedimiento para la preparación de una estructura sólida adecuada para su uso en la regeneración ósea o la ingeniería tisular, que comprende las etapas de
  - a) obtener un fosfato cálcico autofraguable según el procedimiento según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12; y

- b) permitir que se fragüe, en el exterior de un cuerpo de mamífero, la espuma autofraguable de fosfato cálcico.

Fig. 1

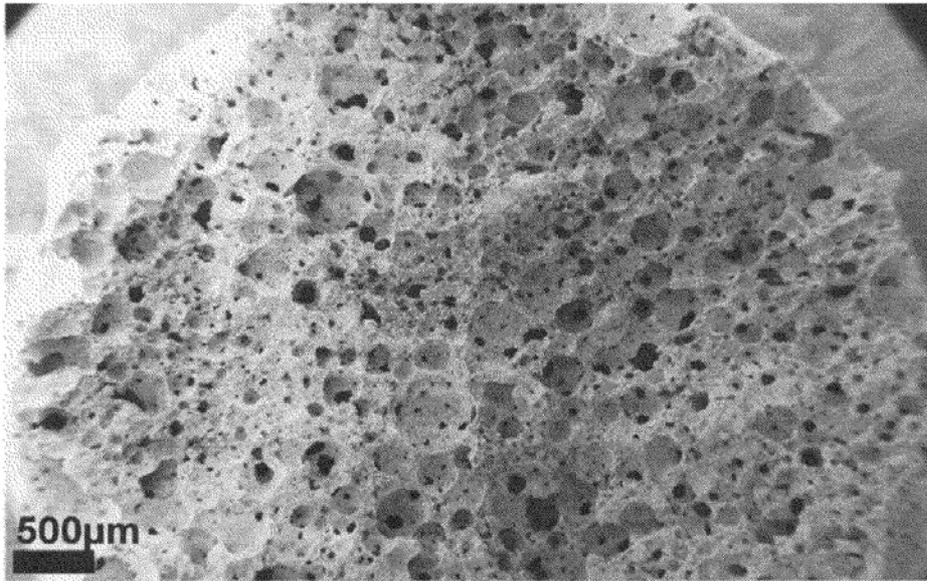


Fig.2

