

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 774 424**

51 Int. Cl.:

**C08K 5/01** (2006.01)

**C08L 79/00** (2006.01)

**C04B 28/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.12.2012 PCT/US2012/071300**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.06.2013 WO13096797**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2012 E 12860704 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019 EP 2793915**

54 Título: **Materiales implantables para reparación ósea**

30 Prioridad:

**23.12.2011 US 201161579806 P**

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

**21.07.2020**

73 Titular/es:

**CERAPEDICS, INC. (100.0%)  
11025 Dover Street, Suite 1600  
Westminster, CO 80021, US**

72 Inventor/es:

**BENEDICT, JAMES JOHN;  
HANNIGAN, NOLAN, CHASE;  
DAVIS, KATHERINE, SUZANNE y  
YOUNG, WHITNEY TERESE**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 774 424 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 implantables para reparación ósea

Antecedentes de la invención

5 La invención se refiere al campo de los rellenos de huecos óseos, y su uso para el tratamiento de afecciones ortopédicas.

10 A veces se recurre a los médicos para reparar el hueso que ha sido dañado por una enfermedad, trauma, cirugía ósea u otras causas, o para hacer que crezca material óseo donde antes no había hueso, tal como durante un procedimiento de fusión de la columna vertebral. Como resultado de ese procedimiento, es deseable que dos o más cuerpos vertebrales se mantengan en una orientación específica. Esto se puede lograr haciendo crecer una columna o puente de hueso rígido entre los cuerpos vertebrales. Esto los mantiene en una posición fija entre sí. La reparación de fracturas de huesos largos a menudo se puede lograr simplemente mediante la reubicación de elementos óseos rotos en proximidad natural y su fijación en su lugar hasta que puedan sanar juntos. Este es el enfoque adoptado por ejemplo en la reparación de fracturas de extremidades ordinarias. El hueso fracturado se restablece, luego se inmoviliza durante un período de semanas en un molde rígido o semirrígido o férula a medida que los elementos fracturados sanan.

15 A veces, sin embargo, este enfoque es insuficiente porque el paciente ha perdido parte del hueso. Esto puede suceder en ciertas clases de traumatismos en los que el hueso está tan destrozado que no se puede reconstruir. Más a menudo, esto sucede como resultado de una enfermedad que destruye la masa ósea o como resultado de una cirugía ósea en la que la destrucción de la masa ósea es inevitable. En estos casos, no existe hueso del paciente para restablecer en la posición adecuada para la curación. En cambio, existe un vacío o defecto que se debe llenar de alguna manera, o un espacio entre dos estructuras óseas que se debe llenar con hueso nuevo. El llenado de este defecto o espacio requiere un material que no solo sea biocompatible, sino que preferiblemente acepte o incluso promueva el hueso natural en crecimiento a medida que el sitio se cura. De esta manera, en forma ideal el material finalmente se reabsorberá a medida que el nuevo hueso natural en crecimiento tome su lugar como parte de la estructura esquelética. El material completamente reabsorbido elimina la posibilidad de que se pueda producir un aumento de tensión cuando queda materia extraña en el esqueleto, lo que puede originar una fractura en el futuro.

20 Los médicos han empleado numerosos materiales de reemplazo óseo con diversos grados de éxito. Un enfoque es utilizar material óseo recuperado del propio paciente, o el llamado hueso autólogo. Este enfoque es ventajoso porque evita problemas de biocompatibilidad y biorrechazo. Sin embargo, este enfoque implica necesariamente dos procedimientos quirúrgicos, dos sitios quirúrgicos y dos procedimientos de curación: uno para la lesión original y otro para el sitio del material óseo donado. Esto significa un mayor costo y un aumento del riesgo de infección y morbilidad para un paciente que ya está gravemente enfermo o lesionado. Además, este enfoque puede requerir mucho tiempo y habilidad quirúrgica ya que el cirujano retira el material donado del sitio de donación, lo moldea y lo ajusta al sitio primario, y luego repara ambos sitios. Finalmente, obviamente hay un límite en la cantidad de hueso del cuerpo del paciente disponible para ser sacrificado como material donante.

25 Alternativamente, se puede usar un sustituto de injerto óseo en partículas para llenar el defecto óseo. La selección del sustituto de injerto óseo en partículas depende de su función deseada en el tratamiento, su biocompatibilidad con el cuerpo humano y su disponibilidad. Una limitación clave es si la función del tratamiento requiere que el material sea reabsorbido por acciones corporales naturales o permanezca en su lugar como estructuras de soporte permanentes. De los particulados de cerámica útiles, el material alogénico está fácilmente disponible y, como alternativa, también se utilizan fuentes óseas xenogénicas. También se dispone de materiales sintéticos, principalmente hidroxiapatita. Los particulados cerámicos, no formulados, están disponibles como gránulos secos y generalmente carecen de suficiente cohesión y adhesión para llenar un defecto óseo. Por lo tanto, a menudo se mezclan con un portador apropiado.

30 En general, los formuladores de materiales de tratamiento óseo han realizado un gran esfuerzo para mejorar las características de manipulación mediante la selección de un portador apropiado para proporcionar el material de reparación ósea al sitio del defecto. Es deseable que el material de reparación ósea se coloque fácilmente, pero que no se permita que migre del defecto. Además, y principalmente, el portador no debe inhibir la formación ósea. Es decir, los materiales portadores para el material de reparación ósea deben ser biocompatibles y no interferir en la formación ósea mediada, mientras que ayudan a proporcionar un espacio adecuado entre los particulados de material de reparación para permitir la infiltración celular y vascular. El material portador se debe biodegradar y reabsorber. Sin embargo, no se prefiere una velocidad de degradación demasiado rápida ya que no se puede desarrollar la infiltración celular y vascular. Una velocidad de reabsorción demasiado lenta también interfiere en la migración celular, penetración vascular y formación de hueso.

35 El documento US 2011/027332 D1 divulga una pasta de reparación ósea que se puede liofilizar para proporcionar un sustituto de injerto óseo flexible. La composición flexible comprende del 5 al 20% (p/p) de un agente dispersante (por ejemplo, glicerina), del 1 al 6% (p/p) de carboximetilcelulosa, del 65 al 95% (p/p) de componente osteoconductor particulado (mineral óseo inorgánico opcionalmente revestido con péptido P-15) que tiene un tamaño medio de partícula de 250 a 425 micrones y del 1 al 5% (p/p) de agua.

Aún existe la necesidad de formulaciones de tratamiento de reparación ósea que incluyan altas concentraciones de particulados cerámicos reabsorbibles en un portador que, cuando se aplican a un sitio con defecto, permanecen con una migración mínima de los particulados cerámicos desde el sitio de implantación.

#### Compendio de la invención

5 La invención presenta pastas de reparación ósea reforzadas con fibra e implantes liofilizados flexibles reforzados con fibra que son útiles para el tratamiento de defectos óseos. Las pastas y los implantes liofilizados incluyen partículas de hidroxiapatita. Las formulaciones de la invención pueden exhibir una migración reducida de las partículas de hidroxiapatita, y están reforzadas mecánicamente para que el médico pueda manipular agresivamente los materiales durante un procedimiento de implantación sin rasgado o perforación. El alcance de la invención está definido por las reivindicaciones.

Cualquier referencia en la descripción de la terapia se refiere a las composiciones para usar en un procedimiento de tratamiento del cuerpo humano mediante terapia.

15 En un primer aspecto, la invención presenta una pasta de reparación ósea que incluye: (i) de 25% al 65% (p/p) (por ejemplo, 25% al 35%, 35% al 45%, 45% al 55%, o 55% al 65% (p/p)) partículas de hidroxiapatita que tienen un tamaño medio de partícula de 100  $\mu$ m a 1000  $\mu$ m (por ejemplo, 150  $\pm$  50, 250  $\pm$  50, 350  $\pm$  50, 450  $\pm$  50, 550  $\pm$  50  $\mu$ m, 600  $\pm$  50  $\mu$ m, o 750  $\pm$  250  $\mu$ m); (ii) del 30% al 75% (p/p) (por ejemplo, de 30% al 40%, de 40% al 50%, de 50% al 60%, de 60% al 70%, o del 65% al 75% (p/p)) de portador de hidrogel para suspender el sustituto de injerto óseo en partículas; y (iii) del 0,2% al 2% (p/p) (por ejemplo, 0,2% al 0,6%, 0,5% al 0,9%, 0,8% al 1,2%, o 1,1% al 2,0% (p/p)) de fibras, las fibras tienen una longitud promedio de 0,5 a 15 mm (por ejemplo, 0,5 a 1,5 mm, 1,0 a 3,0 mm, 2,5 a 15 mm, 4,5 a 9 mm, 7,0 a 15 mm, o 10 a 15 mm), en la que la pasta de reparación ósea no se fragua y es maleable, y en la que se reduce la migración de las partículas cerámicas de la pasta. Las pastas reforzadas con fibra de la invención pueden exhibir migración reducida o ausencia de migración in vivo, y pueden exhibir un tiempo de migración reducido in vitro. En realizaciones particulares, el portador de hidrogel incluye un agente dispersante seleccionado de glicerina, polietilenglicol, N-metilpirrolidona y triacetina; un polímero seleccionado de carboximetilcelulosa de sodio, alcohol polivinílico, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, y ácido hialurónico; y agua. Por ejemplo, la pasta de reparación ósea puede incluir: (a1) del 3% al 10% (p/p) (por ejemplo, 3% al 5%, 4,5% al 7%, 6% al 8%, o 7% al 10% (p/p)) de un agente dispersante seleccionado de glicerina, polietilenglicol, N-metilpirrolidona y triacetina; (a2) del 0,5% al 2,0% (p/p) (por ejemplo, 0,5% al 1,5% (p/p)) de un polímero seleccionado de carboximetilcelulosa de sodio, alcohol polivinílico, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, y ácido hialurónico; (a3) del 40% al 60% (p/p) (por ejemplo, 40% al 45%, 40% al 50%, 45% al 55%, 50% al 60%, o 55% al 60% (p/p)) de partículas de hidroxiapatita; (a4) del 25% al 55% (p/p) (por ejemplo, del 25% al 35%, del 30% al 40%, del 35% al 45%, del 40% al 55%, o del 45% al 55% (p/p)) agua; y (v) del 0,2% al 2% (p/p) (por ejemplo, 0,2% al 0,6%, 0,5% al 0,9%, 0,8% al 1,2%, o 1,1% al 2,0% (p/p)) de fibras, las fibras tienen una longitud promedio de 0,5 a 15 mm (por ejemplo, 0,5 a 1,5 mm, 1,0 a 3,0 mm, 2,5 a 15 mm, 4,5 a 9 mm, 7,0 a 15 mm, o 10 a 15 mm). Las partículas de hidroxiapatita tienen diámetros entre 250 micrones y 425 micrones, tal como un mineral óseo inorgánico revestido con péptido P-15. En realizaciones particulares, la pasta de reparación ósea incluye el polímero de carboximetilcelulosa de sodio y el agente dispersante glicerina. La pasta de reparación ósea puede incluir: (b1) del 4,5% al 7,5% (p/p) de glicerina; (b2) del 1,0% al 2,0% (p/p) de carboximetilcelulosa de sodio; (b3) del 45% al 65% (p/p) mineral óseo inorgánico; y (b4) del 0,2% al 2% (p/p) (por ejemplo, 0,2% al 0,6%, 0,5% al 0,9%, 0,8% al 1,2%, o 1,1% al 2,0% (p/p)) de fibras, las fibras tienen una longitud promedio de 0,5 a 15 mm (por ejemplo, 0,5 a 1,5 mm, 1,0 a 3,0 mm, 2,5 a 15 mm, 4,5 a 9 mm, 7,0 a 15 mm, o 10 a 15 mm); y (b5) del 35% al 45% (p/p) de agua.

45 Las fibras se seleccionan de fibras de seda (por ejemplo, seda textil o seda quirúrgica), fibras de celulosa, fibras de nylon, fibras de colágeno, fibras de elastina, fibras de gelatina, fibras de queratina, fibras de hialuronano, fibras de alginato, fibras de glico-láctido, fibras de quitosano, polietileno, fibras de poliuretano, fibras de poliglicólido, fibras de poli-1-láctido, fibras de ácido poli- $\beta$ -hidroxibutírico, fibras de polidioxanona, fibras de poliéster (por ejemplo, PLLA, PGA, PLG, PCL, PMA, PET y PLA), fibras de policarbonato, fibras de dacrón, fibras de vidrio bioactivas, fibras de oro, fibras de carbono, fibras de nitinol y fibras de acero inoxidable. Por ejemplo, la pasta puede incluir del 0,75% al 1,25% (p/p) (por ejemplo, 0,75% al 0,90%, 0,85% al 0,95%, 0,90% al 1,05%, o 1,0% al 1,25% (p/p)) de fibras de seda que tienen una longitud promedio de 7 a 12 mm (por ejemplo, 7  $\pm$  2, 8  $\pm$  2, 9  $\pm$  2, 10  $\pm$  2, 11  $\pm$  2 o 12  $\pm$  2 mm). En las pastas de reparación ósea de la invención, el particulado incluye partículas y la relación del número de partículas al número de fibras en la pasta es de 0,1 a 10 (por ejemplo, de 0,25 a 4, 0,5 a 2, 0,75 a 1,25, o de 0,9 a 1,1).

50 En un aspecto relacionado, la invención presenta una composición implantable flexible para corregir defectos óseos formados mediante la liofilización de la pasta de reparación ósea de la invención. En realizaciones particulares, la composición implantable flexible tiene una relación de carga hasta la falla (LAF) de LAF<sub>seco</sub> a LAF<sub>húmedo</sub> de 1,5 a 15 (por ejemplo, 1,5 a 3, 2,5 a 6, 5 a 9, o 8 a 15). En otras realizaciones, la relación de LAF<sub>FR</sub> a LAF<sub>sin fibra</sub> es de 3 a 100 (por ejemplo, 3 a 12, 10-15, 15 a 22, o 22 a 35, o 35 a 100). En otras realizaciones, la composición implantable flexible tiene una relación de límite elástico (YS) de YS<sub>FR</sub> a YS<sub>sin fibra</sub> de 3 a 15 (por ejemplo, 5  $\pm$  2, 7  $\pm$  2, 9  $\pm$  2, 11  $\pm$  2, 13  $\pm$  2, o 15  $\pm$  2). La composición implantable flexible puede tener una relación de módulo (M) de M<sub>FR</sub> a M<sub>sin fibra</sub> de 5 a 40 (por ejemplo, 8  $\pm$  3, 15  $\pm$  5, 20  $\pm$  5, 25  $\pm$  5, 30  $\pm$  5, 35  $\pm$  5, o 40  $\pm$  5). Las composiciones implantables flexibles reforzadas con fibra de la invención pueden exhibir una migración reducida o ausencia de migración in vivo, y pueden exhibir un tiempo de migración reducido in vitro.

La invención además presenta una composición implantable flexible para corregir defectos óseos que incluyen: (c1) del 5% al 20% (p/p) (por ejemplo, 5% al 10%, 10% al 15%, o 15% al 20% (p/p)) a agente dispersante seleccionado de glicerina, polietilenglicol, N-metilpirrolidona, y triacetina; (c2) del 1,0% al 6,0% (p/p) (por ejemplo, 1,0% al 1,5%, 1,5% al 2,5%, 2,5% al 4,5%, o 3,5% al 6,0% (p/p)) a polímero seleccionado de carboximetilcelulosa de sodio, alcohol polivinílico, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, y ácido hialurónico; (c3) del 65% al 90% (p/p) (por ejemplo, 65% al 75%, 75% al 85%, 80% al 90%, o 85% al 90% (p/p)) partículas de hidroxiapatita que tiene un tamaño medio de partícula de 100  $\mu\text{m}$  a 1000  $\mu\text{m}$  (por ejemplo, 150  $\pm$  50, 250  $\pm$  50, 350  $\pm$  50, 450  $\pm$  50, 550  $\pm$  50  $\mu\text{m}$ , 600  $\pm$  50  $\mu\text{m}$ , o 750  $\pm$  250  $\mu\text{m}$ ); y (c4) del 0,2% al 3,5% (p/p) (por ejemplo, 0,2% al 0,6%, 0,5% al 0,9%, 0,8% al 1,2%, 1,1% al 2,0%, 1,5% al 2,2%, 1,9% al 2,7%, o 2,4% al 3,5% (p/p)) de fibras, las fibras que tienen una longitud promedio de 0,5 a 15 mm (por ejemplo, 0,5 a 1,5 mm, 1,0 a 3,0 mm, 2,5 a 15 mm, 4,5 a 9 mm, 7,0 a 15 mm, o 10 a 15 mm), en la que la composición implantable flexible tiene una porosidad del 5% al 35% e incluye del 1,5% al 20% (p/p) (por ejemplo, del 1,5% al 6%, 5% al 9%, 8% al 12%, o 11% al 20% (p/p)) de agua. En realizaciones particulares, el tamaño medio de poro en la composición implantable flexible es de aproximadamente 25  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 200  $\mu\text{m}$ . Por ejemplo, el sustituto de injerto óseo en partículas puede ser partículas de hidroxiapatita que tienen diámetros entre 250 micrones y 425 micrones. En una realización particular, el sustituto de injerto óseo en partículas es un mineral óseo inorgánico revestido con péptido P-15. En ciertas realizaciones, el polímero es carboximetilcelulosa de sodio y el agente dispersante es glicerina. Por ejemplo, la composición puede incluir: (d1) del 8% al 15% (p/p) (por ejemplo, 8,0% al 9,5%, 9,5% al 12,5%, o 12,5% al 15% (p/p)) glicerina; (d2) del 1,5% al 3,0% (p/p) (por ejemplo, 1,5% al 1,75%, 1,75% al 2,25%, 2,25% al 2,75%, o 2,75% al 3,0% (p/p)) carboximetilcelulosa de sodio; (d3) del 75% al 90% (p/p) (por ejemplo, 75% al 80%, 80% al 85%, o 85% al 90% (p/p)) mineral óseo inorgánico; y (d4) del 0,2% al 3,5% (p/p) (por ejemplo, 0,2% al 0,6%, 0,5% al 0,9%, 0,8% al 1,2%, 1,1% al 2,0%, 1,5% al 2,2%, 1,9% al 2,7%, o 2,4% al 3,5% (p/p)) de fibras, las fibras que tienen una longitud promedio de 0,5 a 15 mm (por ejemplo, 0,5 a 1,5 mm, 1,0 a 3,0 mm, 2,5 a 15 mm, 4,5 a 9 mm, 7,0 a 15 mm, o 10 a 15 mm); y (d5) del 1,5% al 6% (p/p) (por ejemplo, 1,5% al 2,5%, 2,25% al 3,25%, 3,25% al 4,75%, o 4,75% al 6,0% (p/p)) de agua. Las fibras se seleccionan de fibras de seda (por ejemplo, seda textil o seda quirúrgica), fibras de celulosa, fibras de nylon y fibras de poliéster (por ejemplo, PLLA o PGA). Por ejemplo, la composición implantable flexible pueden incluir del 1,2% al 1,8% (p/p) (por ejemplo, 1,2% al 1,5% o 1,4% al 1,7%, (p/p)) fibras de seda que tienen una longitud promedio de 7 a 12 mm (por ejemplo, 7  $\pm$  2, 8  $\pm$  2, 9  $\pm$  2, 10  $\pm$  2, 11  $\pm$  2, o 12  $\pm$  2 mm). En realizaciones de la composición implantable flexibles de la invención, el particulado incluye partículas y la relación del número de partículas al número de fibras en la pasta es de 0,1 a 10 (por ejemplo, de 0,25 a 4, 0,5 a 2, 0,75 a 1,25, o de 0,9 a 1,1). En realizaciones particulares, la composición implantable flexible tiene una relación de  $LAF_{\text{seco}}$  a  $LAF_{\text{húmedo}}$  de 1,5 a 15 (por ejemplo, 1,5 a 3, 2,5 a 6, 5 a 9, o 8 a 15). En otras realizaciones, la relación de  $LAF_{\text{FR}}$  a  $LAF_{\text{sin fibra}}$  es de 3 a 100 (por ejemplo, 3 a 12, 10-15, 15 a 22, o 22 a 35, o 35 a 100). En otras realizaciones, la composición implantable flexible tiene una relación de límite elástico (YS) de  $YS_{\text{FR}}$  a  $YS_{\text{sin fibra}}$  de 3 a 15 (por ejemplo, 7  $\pm$  2, 9  $\pm$  2, 11  $\pm$  2, 13  $\pm$  2, o 15  $\pm$  2). La composición implantable flexible puede tener una relación de módulo (M) de  $M_{\text{FR}}$  a  $M_{\text{sin fibra}}$  de 5 a 40 (por ejemplo, 20  $\pm$  5, 25  $\pm$  5, 30  $\pm$  5, 35  $\pm$  5, o 40  $\pm$  5). Las composiciones implantables flexibles reforzadas con fibra de la invención pueden exhibir una migración reducida o ausencia de migración in vivo, y pueden exhibir un tiempo de migración reducido in vitro.

En una realización particular de cualquiera de las composiciones anteriores, el sustituto de injerto óseo en partículas está revestido con un péptido de adhesión celular derivado de un dominio de unión de una proteína de adhesión celular de una matriz extracelular (por ejemplo, fibronectina, vitronectina, laminina, elastina, fibrinógeno, colágeno tipo I, colágeno tipo II o colágeno tipo V). Por ejemplo, el péptido de adhesión celular puede incluir una secuencia de aminoácidos seleccionada entre arginina-glicina-aspartato (RGD) y tirosina-isoleucina-glicina-serina-arginina (YIGSR). En realizaciones particulares, el péptido de adhesión celular es un péptido mimético de colágeno de unión  $\alpha 2\beta 1$  o  $\alpha 1\beta 1$ . Los ejemplos de péptidos miméticos de colágeno incluyen, sin limitación, péptidos que incluyen una secuencia de aminoácidos seleccionada de DGEA, GFOGER, GLOGER, GMOGER, GLSGER, GASGER, GAOGER y GTPGPQGIAGQRGVV (P15), o un fragmento bioactivo de estos. La composición puede incluir además un sustituto de injerto óseo en partículas, tal como un mineral óseo inorgánico, revestido con péptido P-15.

En realizaciones particulares de cualquiera de las pastas de reparación ósea, la pasta de reparación ósea se procesa por extrusión.

En realizaciones particulares de cualquiera de las composiciones implantables flexibles anteriores, la composición implantable flexible se forma de una pasta de reparación ósea procesada por extrusión.

La invención además presenta un procedimiento para corregir un defecto óseo en un sujeto mediante la implantación en el sujeto de una composición implantable de la invención en el sitio del defecto óseo. El defecto óseo puede ser cualquier tipo de defecto óseo descrito en la presente.

Por "péptido mimético de colágeno" se entiende un péptido sintético de 3 a 50 residuos de aminoácidos que tienen afinidad por la integrina  $\alpha 2\beta 1$ . Los péptidos miméticos de colágeno  $\alpha 2\beta 1$  incluyen, sin limitación, péptidos que incluyen las secuencias peptídicas de cualquiera de las SEQ ID NOS. 1-20: Gly-Thr-Pro-Gly-Pro-Gln-Gly-Ile-Ala-Gly-Gln-Arg-Gly-Val-Val (SEQ ID NO. 1, también conocida como "P-15"), Gly-Pro-Gln-Gly-Ile-Ala-Gly-Gln-Arg (SEQ ID NO: 2), Gln-Gly-Ile-Ala-Gly-Gln (SEQ ID NO: 3), Gln-Gly-Ile-Ala-Gly-Gln-Arg (SEQ ID NO: 4), Phe-Gly-Ile-Ala-Gly-Phe (SEQ ID NO: 5), Gly-Ile-Ala-Gly-Gln (SEQ ID NO: 6), Gln-Gly-Ala-Ile-Ala-Gln (SEQ ID NO: 7), Phe-Gly-Ile-Ala-Gly-Phe (SEQ ID NO: 8), Cys-Gly-Ile-Ala-Gly-Cys (SEQ ID NO: 9), Glu-Gly-Ile-Ala-Gly-Lys (SEQ ID NO: 10), N-Acetil Ile-Ala-Ala (SEQ ID NO: 11), Ile-Ala- $\beta$ Ala (SEQ ID NO: 12),

N-Acetil-Ile-Ala-NMe (SEQ ID NO:13), Asp-Gly-Glu-Ala (SEQ ID NO:14), Asp-Gly-Glu-Ala-Gly-Cys (SEQ ID NO:15), Gly-Phe-Pro\*-Gly-Glu-Arg (SEQ ID NO:16, en la que Pro\* = hidroxiprolina), Gly-Leu-Pro\*-Gly-Glu-Arg (SEQ ID NO:17, en la que Pro\* = hidroxiprolina), Gly-Met-Pro\*-Gly-Glu-Arg (SEQ ID NO:18, en la que Pro\* = hidroxiprolina), Gly-Ala-Ser-Gly-Glu-Arg (SEQ ID NO:19), Gly-Leu-Ser-Gly-Glu-Arg (SEQ ID NO:19), Gly-Ala-Pro\*-Gly-Glu-Arg (SEQ ID NO:20, en la que Pro\* = hidroxiprolina), y cualquier otro péptido mimético de colágeno  $\alpha 2\beta 1$  descrito en la patente U. S. N° 7.199.103.

Como se usa en la presente, la expresión “péptido de adhesión celular” se refiere a péptidos de 3 a 100 residuos de aminoácidos de longitud (por ejemplo, de 3 a 80, de 3 a 60, de 3 a 50, o de 3 a 40 residuos de aminoácidos en longitud) que son capaces de unirse a las células dependientes del anclaje a través de moléculas de la superficie celular, tales como las integrinas, que se muestran en la superficie de las células dependientes del anclaje.

Como se usa en la presente, la expresión “procesado por extrusión” se refiere al procedimiento de pasar una pasta de reparación ósea reforzada con fibra de la invención a través de un orificio de tamaño adecuados para formar trozos (por ejemplo, hilos o cuerdas o cintas de material extrudido usando un orificio de aproximadamente  $2 \pm 1$  mm,  $4 \pm 1$  mm,  $6 \pm 2$  mm,  $10 \pm 2$  mm o  $12 \pm 3$  mm en su dimensión más grande) o láminas (por ejemplo, usando un orificio de  $4 \pm 2$  mm x  $25 \pm 8$  mm). Los trozos se pueden colocar lado a lado y presionar en cualquier forma predeterminada deseada antes de la implantación. Opcionalmente, los trozos se liofilizan para formar una composición implantable flexible.

Como se usa en la presente, la expresión “matriz ósea desmineralizada particulada” se refiere a partículas óseas a las que se les ha eliminado alguna porción de su contenido mineral original mediante un procedimiento de desmineralización. La desmineralización elimina el componente mineral inorgánico del hueso mediante el empleo de soluciones ácidas (ver Reddi et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 69: 1601 (1972)). La fuerza de la solución ácida, la forma de las partículas óseas y la duración del tratamiento de desmineralización pueden determinar el grado de desmineralización (ver Lewandowski et al., J Biomed Materials Res. 31: 365 (1996)).

Como se usa en la presente, la expresión “relación de  $LAF_{FR}$  a  $LAF_{sin\ fibra}$ ” se refiere a la relación de la carga hasta la falla para una formulación reforzada con fibra de la invención ( $LAF_{FR}$ ) a la carga hasta la falla para una formulación liofilizada sin fibra que contiene 81-84% (p/p) ABM/P-15; 2,3-2,5% (p/p) carboximetilcelulosa de sodio; 11,0-11,3% (p/p) de glicerol; y 3-5% de agua.

Como se usa en la presente, la expresión “relación de  $YS_{FR}$  a  $YS_{sin\ fibra}$ ” se refiere a la relación del límite elástico para una formulación reforzada con fibra de la invención ( $YS_{FR}$ ) al límite elástico para una formulación liofilizada sin fibra que contiene 81-84% (p/p) ABM/P-15; 2,3-2,5% (p/p) carboximetilcelulosa de sodio; 11,0-11,3% (p/p) de glicerol; y 3-5% de agua.

Como se usa en la presente, la expresión “relación de  $M_{FR}$  a  $M_{sin\ fibra}$ ” se refiere a la relación del módulo para una formulación reforzada con fibra de la invención ( $YS_{FR}$ ) al módulo para una formulación liofilizada sin fibra que contiene 81-84% (p/p) ABM/P-15; 2,3-2,5% (p/p) carboximetilcelulosa de sodio; 11,0-11,3% (p/p) de glicerol; y 3-5% de agua.

Como se usa en la presente, la expresión “relación de  $LAF_{seco}$  a  $LAF_{húmedo}$ ” se refiere a la relación de la carga hasta la falla para formulación reforzada con fibra seca de la invención ( $LAF_{seco}$ ) a la carga hasta la falla para la misma formulación cuando es húmeda usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 2.

Como se usa en la presente, la expresión “migración reducida” se refiere a una reducción en la migración observada in vivo de partículas cerámicas para una formulación reforzada con fibra de la invención en comparación con el rendimiento de la misma formulación, excepto que se han eliminado las fibras, en el procedimiento PLIF descrito en el Ejemplo 10. Por “no migración” se entiende que no se observa migración in vivo de partículas cerámicas en el ensayo PLIF del Ejemplo 10.

Como se usa en la presente, la expresión “tiempo de extrusión reducido” se refiere a una reducción en la tasa de extrusión in vitro de una pasta reforzada con fibras de la invención en comparación con el rendimiento de la misma formulación, excepto que se han eliminado las fibras, en el procedimiento descrito en el Ejemplo 6. Por ejemplo, el tiempo de extrusión para una pasta reforzada con fibra de la invención puede ser  $3 \pm 0,5$  minutos,  $4 \pm 0,5$  minutos,  $5 \pm 0,5$  minutos,  $6 \pm 0,5$  minutos,  $7 \pm 0,5$  minutos, o  $8 \pm 0,5$  minutos.

Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada, los dibujos y las reivindicaciones.

#### Dibujos

La Figura 1 son imágenes del dispositivo usado para llevar a cabo la prueba de deformación por punzón de bola (BPD) descrita en el Ejemplo 2.

La Figura 2 son gráficos que representan la carga de compresión (N) versus la extensión (mm) para muestras liofilizadas analizadas en seco (izquierda) y húmedo (derecha) usando la prueba BPD descrita en el Ejemplo 2.

La Figura 3 es un dibujo que representa la interacción de las fibras con las partículas cerámicas en las formulaciones

de la invención. Se considera que este tipo de interacción (así como las interacciones con la matriz portadora) aumenta la concentración de las formulaciones y reducen la migración de partículas.

5 Las Figuras 4A-4D son imágenes de un dispositivo de prueba de extrusión de partículas in vitro descrito en el Ejemplo 6. La Figura 4B es una imagen que representa el rendimiento de la pasta sin fibra. La Figura 4C es una imagen que representa el rendimiento del 0,5% en peso de pasta reforzada con fibra de seda (SFR). La Figura 4D es una imagen que representa el rendimiento del 1,0% en peso de pasta SFR. Estas fotografías se tomaron después de que se produjo la extrusión, en diferentes puntos de tiempo para cada fotografía.

10 La Figura 5 es un dibujo que representa la carga hasta la falla (LAF) de muestras en la prueba BPD (ver Ejemplo 9). La prueba de la formulación de Flex sin fibra no se realizó en húmedo, la LAF es consistentemente muy baja (es decir, 0,5 N). Las barras de error superior e inferior son para muestras secas y húmedas, respectivamente, y representan los intervalos de confianza del 95%.

15 Las Figuras 6A y 6B son imágenes de microscopía electrónica de barrido de las formulaciones de Flex reforzado con fibra de seda. El diámetro medio de los poros se midió en tres campos de visión separados para dos muestras de Flex reforzado con fibra de seda. En la primera muestra, el diámetro medio de los poros fue de  $96 \pm 69$  micrones. En la segunda muestra, el diámetro medio de poro era de  $59 \pm 31$  micrones (ver el Ejemplo 11). Las imágenes SEM muestran la interacción de las fibras con la matriz de hidrogel liofilizada en las formulaciones de la invención. Se considera que este tipo de interacción aumenta la concentración de las formulaciones y reduce la migración de partículas.

20 La Figura 7 es un gráfico de tensión de compresión versus deformación en formulaciones de Flex reforzado con fibra de seda 1,0% húmeda y seca (ver Ejemplo 12). Se encontró que el límite elástico estimado (0,2% de compensación de deformación) de las muestras secas y húmedas era 1,5 MPa y 0,55 MPa, respectivamente ( $n = 1,2$ ).

#### Descripción detallada

25 La invención presenta pastas de reparación ósea reforzadas con fibra e implantes liofilizados flexibles reforzados con fibra que son útiles para el tratamiento de defectos óseos. Las pastas y los implantes liofilizados incluyen partículas de hidroxiapatita suspendidas en un portador de hidrogel, e incluyen una cantidad de fibras. Las formulaciones reforzadas con fibra de la invención pueden exhibir una migración reducida de las partículas de hidroxiapatita, y estar mecánicamente fortalecidas para que un médico pueda manipular agresivamente los materiales durante un procedimiento de implantación sin rasgar o perforar.

#### Fibras

30 Las formulaciones de la invención incluyen fibras que tienen una longitud de aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 15 mm. Las fibras se seleccionan de fibras de seda (por ejemplo, seda textil o seda quirúrgica), fibras de celulosa, fibras de nylon, fibras de colágeno, fibras de elastina, fibras de gelatina, fibras de queratina, fibras de hialuronano, fibras de alginato, fibras de glicoláctido, fibras de quitosano, fibras de polietileno, fibras de poliuretano, fibras de poliglicólido, fibras de poli-1-láctido, fibras de ácido poli- $\beta$ -hidroxibutírico, fibras de polidioxanona, fibras de poliéster (por ejemplo, PLLA, PGA, PLG, PCL, PMA, PET, y PLA), fibras de policarbonato, fibras de dacrón, fibras de vidrio bioactivas, fibras de oro, fibras de carbono, fibras de nitinol y fibras de acero inoxidable.

40 Por ejemplo, las fibras que se pueden usar en las formulaciones de la invención incluyen, sin limitación, fibras reabsorbibles, tales como homopolímeros o copolímeros de monómeros seleccionados del grupo que consiste en L-láctido, ácido L-láctico, D-láctido, D-ácido láctico, D,L-láctido, glicólido, ácido  $\alpha$ -hidroxibutírico, ácido  $\alpha$ -hidroxivalérico, ácido  $\alpha$ -hidroxiacético, ácido  $\alpha$ -hidroxicaproico, ácido  $\alpha$ -hidroxiheptanoico, ácido  $\alpha$ -hidroxidecanoico, ácido  $\alpha$ -hidroximiriístico, ácido  $\alpha$ -hidroxioctanoico, ácido  $\alpha$ -hidroxiesteárico, hidroxibutirato, hidroxivalerato,  $\beta$ -propioláctido, ácido  $\alpha$ -propioláctico,  $\gamma$ -caprolactona,  $\beta$ -caprolactona,  $\gamma$ -butirolactona, pivalolactona, tetrametilglicólido, ácido tetrametilglicólico, ácido dimetilglicólico, carbonato de trimetileno, y dioxanona; fibras peptídicas, tales como seda, colágeno, y queratinas; fibras de polisacáridos, tales como celulosa, quitina y quitosano; y mezclas de los mismos. Alternativamente, las fibras usadas en las formulaciones de la invención pueden ser fibras inorgánicas, tales como fibras de vidrio bioactivas, fibras de oro, fibras de carbono, fibras de nitinol y fibras de acero inoxidable.

50 Las fibras usadas en las formulaciones de la invención tiene una longitud promedio 0,5 a 15 mm (por ejemplo, 0,5 a 1,5 mm, 1,0 a 3,0 mm, 2,5 a 15 mm, 4,5 a 9 mm, 7,0 a 15 mm, o 10 a 15 mm), y un diámetro medio de 5  $\mu$ m a 60  $\mu$ m (por ejemplo, de 5  $\mu$ m a 20  $\mu$ m, 15  $\mu$ m a 30  $\mu$ m, 20  $\mu$ m a 40  $\mu$ m, o 35  $\mu$ m a 60  $\mu$ m).

#### Sustituto de injerto óseo en partículas

55 Las formulaciones de la invención incluyen un sustituto de injerto óseo en partículas. El sustituto de injerto óseo es un material de fosfato de calcio tal como material óseo inorgánico mineral óseo inorgánico. El material de fosfato de calcio se puede producir por reacción ácido-base en estado sólido de reactivos de fosfato de calcio cristalino para formar sólidos cristalinos de hidroxiapatita. En la técnica se conocen otros procedimientos para fabricar materiales de fosfato de calcio, algunos de los cuales se describen a continuación. Alternativamente, el material de fosfato de calcio puede

ser hidroxiapatita cristalina (HA). La HA cristalina se describe, por ejemplo, en las patentes U. S. Nros. Re. 33,221 y Re. 33,161. Estas patentes enseñan la preparación de composiciones de remineralización de fosfato de calcio y de un material portador de hidroxiapatita gradualmente reabsorbible, no cerámico y finamente cristalino basado en la misma composición de fosfato de calcio. Un sistema similar de fosfato de calcio, que consiste en fosfato tetracálcico (TTCP) y fosfato monocálcico (MCP) o su forma de monohidrato (MCPM), se describe en las patentes U. S. Nros. 5.053.212 y 5.129.905. Este material de fosfato de calcio se produce por reacción ácido-base en estado sólido de reactivos de fosfato de calcio cristalino para formar sólidos cristalinos de hidroxiapatita. Se pueden preparar materiales de HA cristalinos sustituidos con carbonato (comúnmente denominados dallita) (ver la patente U. S. N° 5.962.028. Estos materiales de HA (comúnmente conocidos como hidroxiapatita carbonatada) se pueden formar mediante la combinación de los reactivos con un líquido acuoso para proporcionar una mezcla sustancialmente uniforme, se moldea la mezcla según corresponda y se deja que la mezcla se endurezca en presencia de agua. Durante el endurecimiento, la mezcla cristaliza en una estructura apatítica sólida y esencialmente monolítica. Los reactivos generalmente incluirán una fuente de fosfato, por ejemplo, ácido fosfórico o sales de fosfato, un metal alcalinotérreo, particularmente calcio, núcleos opcionalmente cristalinos, particularmente cristales de hidroxiapatita o fosfato de calcio, carbonato de calcio y un lubricante fisiológicamente aceptable. Los ingredientes secos se pueden preparar previamente como una mezcla y posteriormente combinarse con ingredientes líquidos acuosos en condiciones en las que se produce una mezcla sustancialmente uniforme.

#### Péptidos de adhesión celular

Las partículas cerámicas en las formulaciones de la invención están opcionalmente revestidas con uno o más péptidos de adhesión celular. Los péptidos de adhesión celular pueden incluir cualquiera de las proteínas de la matriz extracelular que se sabe que cumplen un papel en la adhesión celular, que incluyen fibronectina, vitronectina, laminina, elastina, fibrinógeno y colágenos, tales como los tipos I, II y V, así también como sus fragmentos bioactivos. Además, los péptidos de adhesión celular pueden ser cualquier péptido derivado de cualquiera de las proteínas mencionadas anteriormente, que incluyen derivados o fragmentos que contienen los dominios de unión de las moléculas descritas anteriormente. Los ejemplos de péptidos incluyen aquellos que tienen motivos de unión a integrina, tales como el motivo RGD (arginina-glicina-aspartato), el motivo YIGSR (tirosina-isoleucina-glicina-serina-arginina) y péptidos relacionados que son equivalentes funcionales. Por ejemplo, es sabido que los péptidos que contienen secuencias RGD (por ejemplo, GRGDS) y secuencias WQPPRARI dirigen la propiedades propagación y migratorias de las células endoteliales (ver V. Gauvreau et al., *Bioconjug. Chem.* 16: 1088 (2005)). Se ha demostrado que el tetrapéptido REDV permite la adhesión de células endoteliales, pero no las de células del músculo liso, fibroblastos o plaquetas, y se ha demostrado que el pentapéptido YIGSR promueve la unión de las células epiteliales, pero no la adhesión de plaquetas (ver Boateng et al., *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 288: 30 (2005). Otros ejemplos de secuencias adhesivas de células son el tripéptido NGR, que se une al CD13 de las células endoteliales (ver L. Holle et al., *Oncol. Rep.* 11: 613 (2004)) y DGEA que se une al colágeno tipo I (ver Hennessy et al. *Biomaterials*, 30: 1898 (2009)).

Los péptidos de adhesión celular que se pueden usar en las composiciones implantables de la invención incluyen, sin limitación, los mencionados anteriormente, y los péptidos descritos en la patente U. S. N° 6.156.572; publicación de patente U. S. N° 2003/0087111; y publicación de patente U. S. N° 2006/0067909.

Alternativamente, los péptidos de adhesión celular se pueden obtener mediante detección de bibliotecas de péptidos para la adhesión y selectividad a tipos de células específicas (por ejemplo, células endoteliales) o desarrolladas empíricamente a través de tecnologías de despliegue en fagos.

En ciertas realizaciones, el péptido de adhesión celular es un péptido mimético de colágeno. La integrina  $\alpha\beta1$  consiste de dos subunidades no idénticas,  $\alpha2$  y  $\beta1$ , miembros de la familia de la integrina, cada uno con un dominio transmembrana único, y se sabe que  $\alpha\beta1$  se une al colágeno a través de una región especializada de la subunidad  $\alpha2$ . Hay varios sitios de reconocimiento  $\alpha\beta1$  conocidos dentro de los colágenos. Este conocimiento surge del uso de fragmentos de colágeno derivados de cadenas  $\alpha$  purificadas escindidas en péptidos específicos y reproducibles. Los péptidos miméticos de colágeno que se pueden usar en las composiciones implantables de la invención incluyen, sin limitación, los descritos en las publicaciones PCT Nos. WO 1999/050281; WO 2007/017671; y WO 2007/052067. Los péptidos miméticos de colágeno incluyen, sin limitación, péptidos que incluyen las secuencias peptídicas de cualquiera de las SEQ ID NOS. 1-20: Gly-Thr-Pro-Gly-Pro-Gln-Gly-Ile-Ala-Gly-Gln-Arg-Gly-Val-Val (SEQ ID NO: 1, también conocida como "P-15"), Gly-Pro-Gln-Gly-Ile-Ala-Gly-Gln-Arg (SEQ ID NO: 2), Gln-Gly-Ile-Ala-Gly-Gln (SEQ ID NO: 3), Gln-Gly-Ile-Ala-Gly-Gln-Arg (SEQ ID NO: 4), Phe-Gly-Ile-Ala-Gly-Phe (SEQ ID NO: 5), Gly-Ile-Ala-Gly-Gln (SEQ ID NO: 6), Gln-Gly-Ala-Ile-Ala-Gln (SEQ ID NO: 7), Phe-Gly-Ile-Ala-Gly-Phe (SEQ ID NO: 8), Cys-Gly-Ile-Ala-Gly-Cys (SEQ ID NO: 9), Glu-Gly-Ile-Ala-Gly-Lys (SEQ ID NO: 10), N-Acetil Ile-Ala-Ala (SEQ ID NO: 11), Ile-Ala- $\beta$ Ala (SEQ ID NO: 12), N-Acetil-Ile-Ala-NMe (SEQ ID NO: 13), Asp-Gly-Glu-Ala (SEQ ID NO: 14), Asp-Gly-Glu-Ala-Gly-Cys (SEQ ID NO: 15), Gly-Phe-Pro\*-Gly-Glu-Arg (SEQ ID NO: 16, en la que Pro\* = hidroxiprolina), Gly-Leu-Pro\*-Gly-Glu-Arg (SEQ ID NO: 17, en la que Pro\* = hidroxiprolina), Gly-Met-Pro\*-Gly-Glu-Arg (SEQ ID NO: 18, en la que Pro\* = hidroxiprolina), Gly-Ala-Ser-Gly-Glu-Arg (SEQ ID NO: 19), Gly-Leu-Ser-Gly-Glu-Arg (SEQ ID NO: 19), Gly-Ala-Pro\*-Gly-Glu-Arg (SEQ ID NO: 20, en la que Pro\* = hidroxiprolina), y cualquier otro péptido mimético de colágeno descrito en la patente U. S. N° 7,199,103.

Por ejemplo, el péptido de adhesión celular se puede revestir sobre partículas ABM que tienen un diámetro medio de partícula de 300 micrones, y casi todas se hallarán dentro de intervalo entre 200 micrones y 425 micrones. Sin

embargo, también se puede usar un intervalo de tamaño de partícula entre 50 micrones y 2000 micrones.

#### Hidrogel

5 Para preparar una pasta reforzada con fibra de la invención, el sustituto de injerto óseo en partículas se puede suspender en un gel de polisacárido biocompatible junto con fibras cortas. Los polisacáridos que se pueden utilizar incluyen, por ejemplo, cualquier polisacárido adecuado dentro de las siguientes clases de polisacáridos: celulosas/almidón, quitina y quitosano, ácido hialurónico, alginatos, carragenanos, agar y agarosa. Ciertos polisacáridos específicos que se pueden usar incluyen agar metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa, etilcelulosa, celulosa microcristalina, celulosa oxidada, quitina, quitosano, ácido algínico, alginato de sodio y goma de xantano.

10 Los hidrogel incluirán típicamente un disolvente para controlar la viscosidad del material. El disolvente puede ser un alcohol o un éster de alcohol, que incluye, por ejemplo, glicerol, triacetina, alcohol isopropílico, etanol y etilenglicol, o mezclas de estos. La pasta o el gel pueden incluir otros componentes, como tensioactivos, estabilizantes, tampones de pH y otros aditivos (por ejemplo, factores de crecimiento, antibióticos, analgésicos, etc.). Por ejemplo, se puede preparar un gel o pasta adecuada usando agua, glicerina y carboximetilcelulosa de sodio.

15 Los implantes reforzados con fibra, flexibles y liofilizados (es decir, los materiales Flex) se preparan, como se describe en el Ejemplo 1, por liofilización de una pasta reforzada con fibra.

#### Terapia

20 Las composiciones de la invención se pueden usar como sustitutos de injerto óseo que se implantan en un sujeto. Las composiciones de la invención pueden incluir un péptido de adhesión celular para promover la rápida osificación del implante.

25 Las composiciones de la invención pueden ser útiles para reparar una variedad de afecciones ortopédicas. Por ejemplo, las composiciones se pueden inyectar en el cuerpo vertebral para la prevención o el tratamiento de fracturas vertebrales, inyectar en fracturas de hueso largo o plano para aumentar la reparación de la fractura o estabilizar los fragmentos fracturados, o inyectar en huesos osteoporóticos intactos para mejorar la resistencia ósea. Las composiciones pueden ser útiles para aumentar una interfaz hueso-tornillo o hueso-implante. Además, las composiciones pueden ser útiles como relleno óseo en áreas del esqueleto donde el hueso puede ser deficiente. Los ejemplos de situaciones en las que pueden existir tales deficiencias incluyen pos-trauma con pérdida ósea segmentaria, poscirugía de tumor óseo donde se extirpó el hueso y después de una artroplastia total de la articulación (por ejemplo, injerto de impactación, y similares). Las composiciones se pueden formular como una pasta antes de la implantación para sujetar y fijar componentes articulares artificiales en pacientes sometidos a artroplastia articular, como un puntal para estabilizar la columna anterior de la columna vertebral después de la cirugía de excisión, como un soporte estructural para hueso segmentado (por ejemplo, para ensamblar segmentos óseos y tornillos de soporte, placas externas y hardware de fijación interna relacionado), y como sustituto de injerto óseo en fusiones espinales.

35 Las composiciones de la invención se pueden usar para revestir implantes óseos protésicos. Por ejemplo, cuando el implante óseo protésico tiene una superficie porosa, la composición se puede aplicar a la superficie para promover el crecimiento óseo en la misma (es decir, crecimiento interno óseo). La composición también se puede aplicar a un implante óseo protésico para mejorar la fijación dentro del hueso.

40 Las composiciones de la invención se pueden usar como implante de remodelación o reemplazo óseo protésico, por ejemplo en cirugía ortopédica, que incluye revisiones de cadera, reemplazo de pérdida ósea, por ejemplo en traumatología, remodelación en cirugía maxilofacial o relleno de defectos periodontales y alvéolos de extracción de dientes, que incluyen aumento de cresta y elevación de seno. Por lo tanto, las composiciones de la invención se pueden usar para corregir diversas deficiencias óseas en un sitio de reparación ósea.

45 Los siguientes ejemplos se presentan para proporcionar a los expertos en la técnica una divulgación y descripción completas de cómo los procedimientos y compuestos reivindicados en la presente se realizan, obtienen y evalúan, y están destinados a ser puramente ejemplificativos de la invención y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran como su invención.

#### Ejemplo 1. Preparación de materiales implantables reforzados con fibra.

Se prepararon una pasta reforzada con fibra y Flex reforzado con fibra (pasta liofilizada) usando procedimientos análogos a los descritos en la publicación PCT N° WO 2007070681.

#### 50 Preparación de pasta

Un material de pasta que contiene aproximadamente 51,9% (p/p) de partículas de mineral ósea inorgánico (ABM, un material óseo microporoso natural xenogénico también conocido como OsteoGraf®-N 300); aproximadamente 1,5% (p/p) de carboximetilcelulosa de sodio; aproximadamente 6,98% (p/p) de glicerol; aproximadamente 39,57% (p/p) de agua se preparó mediante la mezclando del agua, glicerol y carboximetilcelulosa de sodio para formar un hidrogel, y la

mezcla de las partículas de ABM con el hidrogel para formar una pasta. El hidrogel/pasta se somete opcionalmente a vacío para eliminar cualquier burbuja de aire formada durante la mezcla. Las partículas de ABM incluyen opcionalmente el péptido P-15 (ver la patente U. S. N° 5.635.482) unida a su superficie (vendida como PEPGEN P-15® por Dentsply Tulsa Dental Specialties).

5 Preparación de la pasta reforzada con fibra

A la pasta anterior se le añadió una cantidad predeterminada de fibras en pequeños incrementos con mezcla. Se obtuvo un lote homogéneo usando un dispositivo de mezcla, tal como un mezclador planetario doble Ross equipado con paletas, tales como las paletas Ross de alta viscosidad (HV).

Preparación de Flex reforzado con fibra

10 La pasta reforzada con fibra se moldeó (es decir, en un molde), se colocó en un congelador a baja temperatura (-65°C) durante no menos de una hora y se liofilizó durante al menos 5 horas. El contenido de agua del material Flex reforzado con fibra resultante se puede evaluar después de la exposición al aire ambiente. El contenido de agua se puede ajustar por exposición a las condiciones de humedad o secado, según sea necesario.

15 Las formulaciones de Flex reforzado con fibra descritas en los ejemplos se identifican por el porcentaje en peso de fibra incluida en la pasta liofilizada para formar la formulación de Flex. El porcentaje en peso aproximado de fibra en las formulaciones de Flex resultantes es mayor después de la eliminación del agua de la pasta. El contenido de fibra aproximado de las formulaciones de Flex se proporciona en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1

Producto Flex	Contenido de fibra en la formulación de la pasta	Intervalo de contenido de fibra en la formulación de Flex <sup>1</sup>
Flex	0	0
Flex 0,25%	0,25% (p/p)	0,38% al 0,41% (p/p)
Flex 0,5%	0,5% (p/p)	0,77% al 0,82% (p/p)
Flex 1%	1,0% (p/p)	1,54% al 1,64 % (p/p)
Flex 2%	2,0% (p/p)	2,99% al 3,19% (p/p)
1. Concentración calculada asumiendo 1% al 7% de contenido de agua en la formulación de Flex.		

20 Ejemplo 2. La prueba de deformación por punzón de bola modificada

El Flex reforzado con fibra puede mejorar la facilidad de manipulación e implantación para el cirujano en comparación con las formulaciones sin fibra. Los materiales reforzados con fibra también pueden reducir la migración de partículas después de la implantación.

25 Una prueba de tracción, que es la prueba mecánica estándar para el producto Flex actual, no puede probar adecuadamente el material en un escenario del mundo real ya que el producto rara vez se desmonta. Más bien, durante la implantación de las formulaciones liofilizadas, se aplica presión manual a las tiras de Flex en un movimiento punzante, no tirante. Para determinar el desempeño del producto en condiciones quirúrgicas realistas, también se puede realizar una prueba ideal en muestras de Flex tanto en seco como húmedo (usando diversas técnicas y fluidos).

30 Para evaluar si un Flex reforzado con fibra puede resistir mejor el movimiento de punzado manual, se desarrolló un nuevo procedimiento de prueba, la Prueba de deformación por punzón de bola modificada (prueba BPD). La prueba BPD imita las características de manipulación del mundo real para los productos Flex y Flex reforzados con fibra. Además, esta prueba es una versión modificada de la norma ASTM E643.

35 Se coloca una muestra del material Flex en el soporte de muestra del dispositivo de prueba BPD (ver la Figura 1B). El dispositivo incluye una matriz de 12,7 millones (bola de 1/2") con 19,05 mm (3/4") (ver la Figura 1A). La muestra se alinea sobre el orificio en la matriz inferior, la matriz superior se alinea sobre la muestra y los pestillos se sujetan para que la muestra no se mueva. Una pieza base con trama cruzada también minimiza la retracción de la muestra (tirando desde los lados). La bola se centra sobre el orificio de 19,05 mm (3/4") del soporte y se coloca justo por encima de la muestra para analizar. La prueba comienza a medida que la bola se mueve a 0,5 mm/segundo con una extensión máxima de 15 mm desde el punto de primer contacto. La carga de compresión (es decir, la fuerza aplicada en la compresión medida en Newton) se registra a medida que la bola avanza contra la muestra. La prueba BPD mide (i) la carga hasta la falla (LAF, la carga máxima alcanzada antes de la falla de la muestra), (ii) la extensión hasta la falla (EAF, el valor de extensión de compresión a carga máxima) y (iii) el módulo (es decir, la rigidez) de la muestra (la

pendiente de la región lineal de la curva de prueba BPD que representa la carga de compresión versus extensión compresiva).

5 Para probar el producto Flex humedecido, el Flex se humedece mediante la inmersión del ensamblaje entero de la muestra de Flex seca colocada en el soporte de muestra en solución salina tamponada con fosfato (PBS) durante cinco minutos. Luego se elimina el exceso de líquido y se analiza la muestra.

10 Los ejemplos de datos se muestran en la Figura 2. Los resultados de la prueba BPD se representan para Flex sin fibra. Los resultados de la prueba muestran buena reproducibilidad para material seco con un LAF promedio de 8,5 N y una EAF promedio de aproximadamente 9 mm (ver Figura 2 a la derecha). Por el contrario, Flex húmedo sin fibra exhibe una disminución apreciable en la LAF (promedio de aproximadamente 0,15 N), y una disminución apreciable en la EAF (promedio de aproximadamente 3,7 mm) (ver Figura 2 a la izquierda).

Ejemplo 3. Efecto de la longitud y concentración de la fibra de seda sobre las propiedades mecánicas de Flex reforzado con fibra.

El propósito del siguiente estudio fue comprender el efecto de la longitud y concentración de la fibra de seda sobre las propiedades mecánicas de las muestras de Flex reforzado con fibra de seda (Flex SFR).

15 Las muestras de Flex SFR se prepararon usando los procedimientos descritos en el Ejemplo 1. Las fibras utilizadas para este estudio fueron fibras de seda hiladas (grado textil) cortadas en longitudes de 12,7 mm, 9,53 mm y 6,35 mm (1/2", 3/8" y). Las muestras se sometieron a pruebas de BPD como se describe en el Ejemplo 2. Los resultados se tabulan a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2

Longitud de la fibra (in)	Porcentaje de fibra (%)	Ambiente de prueba	Carga hasta la falla (N)
NA	0	Seco	13,53
		Húmedo	0,352
1/2	1,0	Seco	55,85
		Húmedo	20,794
	0,5	Seco	42,13
		Húmedo	6,294
	0,25	Seco	32,2
		Húmedo	2,395
3/8	1,0	Seco	63,09
		Húmedo	26,981
	0,5	Seco	39,83
		Húmedo	10,497
	0,25	Seco	26,07
		Húmedo	5,435
1/4	1,0	Seco	50,49
		Húmedo	9,457
	0,5	Seco	22,12
		Húmedo	3,658
	0,25	Seco	21,43
		Húmedo	2,753

## Resultados y discusión:

Se puede observar una disminución constante en LAF a medida que disminuye el contenido de fibra, los valores más bajos de LAF generalmente se observan en muestras de Flex sin fibra. Las muestras de Flex SFR en seco del 1,0% exhiben valores de LAF tan altos como cinco veces mayores que la de Flex en seco sin fibra. Todas las muestras de Flex SFR en seco del 0,5% son más fuertes que las Flex sin fibra en seco con valores de LAF de más de dos a casi cuatro veces más grandes. Las muestras de Flex en seco del 0,25% son aproximadamente dos veces más fuertes que las de Flex en seco sin fibra.

Se observó que el módulo de las muestras de Flex SFR en seco del 0,1% era similar pero en las muestras de Flex SFR en seco del 0,5% y Flex SFR en seco del 0,25% el módulo comienza a disminuir, lo que indica una menor rigidez en esas muestras. Esto se puede sentir cualitativamente entre muestras. En promedio, las muestras de Flex SFR 1,0% fueron más rígidas en comparación con todas las demás. Mantuvieron la flexibilidad de torsión pero fueron mucho más rígidas en la tensión. Esto se debe probablemente al aumento de la fuerza de fricción interna entre las fibras y las partículas de ABM. Tras la humectación, las muestras de Flex SFR 1,0% todavía eran muy cohesivas y requerían una gran fuerza para separarse manualmente. Las muestras de Flex SFR 0,5% y Flex SFR 0,25% fueron más flexibles y se comportaron de manera muy similar a Flex sin fibra. Eran notablemente más fuertes y tomaron más fuerza para romperse que Flex sin fibra. Tras la humectación, las muestras aún eran más fuertes que Flex sin fibra, pero se rompieron en forma relativamente fácil.

Las diferencias de resistencia observadas en las muestras de 12,7 mm (1/2") y 9,52 mm (3/8") se pueden atribuir al número de fibras que se encuentran en una muestra dada. Si hay dos pilas de fibras de igual peso con longitudes de 12 mm y 6 mm, habrá el doble de fibras en la pila de 6 mm que las de 12 mm. Por lo tanto, las muestras de Flex SFR 1,0% con fibras de 6 mm tendrán el doble de fibras que una con 12 mm.

Para determinar los recuentos teóricos de fibras, se obtuvo el peso de la seda, tomando un pequeño grupo de fibras y pesándolas. Luego se colocó el grupo en un portaobjetos de microscopio, se deshilachó para separar todas las fibras individuales, se pegó con cinta adhesiva y se contó. El peso se dividió por el número de fibras y luego se dividió por la longitud de la fibra para obtener un peso total por longitud de seda. Por ejemplo, si un grupo de fibras de 9 mm pesa 0,0018 g y se halla que contiene 100 fibras, entonces el peso por mm de fibra es  $0,0018 \text{ g}/(100 \text{ fibras} \cdot 9 \text{ mm}) = 0,00002 \text{ g/mm}$  de fibra

Se calcula que para las muestras de fibra de 9,52 mm (3/8") (i) hay aproximadamente 11,300 fibras más en la muestra de Flex SFR 1,0% que en la muestra de Flex SFR 0,25%; (ii) hay aproximadamente 2,800 más fibras en los 9,52 mm (3/8") en la muestra de Flex SFR 1,0% de 12,7 mm (1/2") que en la muestra de Flex SFR 1,0%; y (iii) hay aproximadamente 33% más de fibras en la muestra de 9,52 mm (3/8") Flex SFR 1,0% que pueden contribuir a la mayor LAF observada en estos materiales.

El mecanismo por el cual las fibras de seda fortalecen las muestras puede surgir de una acción abrasiva entre las fibras y las partículas de ABM. Las fibras de seda pueden estar estrechamente asociadas con las partículas de ABM, más que con el portador de hidrogel. Durante las pruebas de BPD, a medida que la muestra comienza a deformarse, las fibras de seda se alejan de las partículas de ABM hasta que las fibras se separan y la muestra falla. La evidencia de este mecanismo de fortalecimiento se puede ver en la Figura 5. El módulo de las muestras de Flex SFR de 12,7 mm (1/2") y 6,35 mm (1/4") es muy similar (si no el mismo) hasta el punto de ruptura que ocurre cuando las fibras finalmente se liberan de las últimas partículas de ABM. Las muestras de 6,35 mm (1/4") se rompen, en promedio, 1 mm antes que las muestras de 12,7 mm (1/2"). Usando el diámetro medio de 300  $\mu\text{m}$  (0,3 mm) de partículas ABM, hay aproximadamente cuarenta (40) y veinte (20) partículas potenciales que interactúan con las fibras de seda de 12,7 mm (1/2") y 6,75 mm (1/4"), respectivamente ( $12 \text{ mm}/0,3 \text{ mm} = 40$ ). Múltiples fibras también pueden estar interactuando con una partícula de ABM única.

Se calculó que para las formulaciones de pasta y Flex SFR 1,0% que contienen fibras de seda de 9 mm de longitud, la relación numérica de partículas de ABM a fibras en las formulaciones es aproximadamente 1:1. Esta relación, y la longitud de las fibras con respecto al tamaño de partícula, pueden ser importantes para determinar las características de manipulación y la resistencia a la migración después del implante para las formulaciones de la invención.

## Ejemplo 4. Cirugía PLF simulada in vitro

Se usó una fusión posterolateral simulada (PLF) usando un modelo de columna y esponjas para correlacionar datos de pruebas mecánicas cualitativas y cuantitativas para muestras de Flex reforzados con fibra de seda (SFR).

Las muestras de Flex SFR se prepararon usando los procedimientos descritos en el Ejemplo 1. Las fibras utilizadas para este estudio fueron fibras de seda hilada (grado textil) cortadas en longitudes de 9,52 mm (3/8"). Flex SFR 1%, Flex SFR 0,5%, Flex SFR 0,25%, y las muestras de Flex sin fibra se utilizaron en este estudio.

## Simulación de modelo de esponja/columna vertebral:

Se cortó una esponja grande por la mitad como un bollo, dejando una pequeña porción unida a un lado. Las bridas se empujaron a través de la esponja en el centro interior del bollo. Luego se colocó un modelo de los procedimientos

transversales del modelo de columna lumbar dentro del bollo. Las muestras se colocaron en el modelo de esponja en la región del procedimiento inter-transversal. Se aplicó presión manual a cada muestra en el escenario de pero caso (es decir, se usó mucha más presión que de una manera consistente con la cirugía normal). Las muestras se secaron, estiraron y reubicaron numerosa veces. Después de las observaciones iniciales de manipulación, las muestras se moldearon en forma de pasta y se reubicaron en la columna vertebral.

Observaciones de manipulación:

Las muestras de Flex sin fibra eran muy elásticas y flexibles tanto en torsión como en tensión. En el primer posicionamiento de una muestra Flex sin fibra en la región del procedimiento intertransversal, la muestra se rasgó y se produjo un desgarro mayor con una presión manual menor. La muestra Flex sin fibra comenzó a desarmarse poco después de la hidratación y también comenzó a convertirse en pasta. Se observó que más partículas de ABM/P-15 se desprenden (llamado particulación) de muestras de Flex sin fibra que las muestras de Flex SFR.

Las muestras de Flex SFR 0,25% eran flexibles y elásticas en forma seca (esta formulación se sentía como Flex sin fibra). Una vez hidratada, la formulación se volvió viscosa y algo particulada como Flex sin fibra. Se formó un pequeño desgarro después de una presión manual rigurosa, una vez que se formó, la muestra comenzó a desarmarse en forma relativamente fácil. Con hidratación, esta formulación formó una pasta SFR.

Las muestras de Flex SFR 0,5% fueron aceptablemente flexibles, pero menos flexibles que las muestras de Flex sin fibra y Flex SFR 0,25%. La muestra de Flex SFR 0,5% se desgarró inicialmente después de la primera presión aplicada, pero esto no pareció debilitar la tira en absoluto. La formación posterior no produjo más fracasos. La muestra de Flex SFR 0,5%, una vez hidratada, se puede volver a formar en pasta SFR, reformar y reimplantar.

Las muestras de Flex SFR 1,0% eran mucho más rígidas en tensión, pero aún mantenían su flexibilidad de torsión. Esta formulación no se ajustaba inicialmente a los espacios vacíos cuando estaba seca. Sin embargo, la humectación de la formulación hizo que la tira fuera mucho más flexible y las tiras se formaran muy bien. La muestra de Flex SFR 1,0% finalmente se rompió después de humedecer bajo una fuerza de tracción manual grande.

Este estudio aborda dos propiedades mecánicas importantes de los materiales Flex reforzados: conformabilidad y resistencia. La resistencia es una característica vital para comprender cómo un material implantable resistirá la presión manual durante la cirugía. La conformabilidad también es muy importante. Por ejemplo, la muestra de Flex SFR 1,0% era muy rígida y no se ajustaba muy bien al espacio vacío inicialmente. Una vez húmeda, la muestra se volvió más flexible y moldeable. Tiene un 50% más de resistencia que la muestra de Flex SFR 0,5%, pero la muestra de Flex SFR 0,5% tenía conformabilidad inicial y suficiente resistencia para manejar la presión manual (que excedía la que normalmente se puede aplicar durante la implantación).

Además, la reducción del contenido de fibra puede dar como resultado un producto que se extrude más fácilmente y simplificar los procedimientos de mezcla en la fabricación. Los autores han observado que aproximadamente con el contenido de fibra hallado en el Flex SFR 0,5%, la pasta comienza a volverse más cohesiva, lo que lleva a una mezcla más dura y a una extrusión menos fácil para las operaciones de formación. El Flex SFR 0,5% que contiene fibras de 9,52 mm (3/8") se manipula bien, se mezcla bien y exhibe propiedades similares al Flex seco sin fibra, ya sea seco o húmedo.

Ejemplo 5. Efecto del tipo de fibra y el diámetro de la fibra sobre las propiedades mecánicas

El propósito de este estudio fue comprender el efecto del tipo de fibra sobre las propiedades mecánicas de Flex reforzado con fibra (FR).

Las muestras Flex FR se prepararon usando los procedimientos descritos en el Ejemplo 1. Las fibras utilizadas para este estudio fueron fibras de PLLA, PGA y seda (textil y médica) con longitudes de fibra de 12 mm y 6 mm. La seda bobinada se enrolló, midió y cortó manualmente en trozos de 12 mm. También se tomaron mediciones del diámetro de la fibra. Las muestras en seco se sometieron a pruebas de BPD como se describe en el Ejemplo 2. Los resultados se tabulan a continuación en la Tabla 3.

Tabla 3. Rendimiento mecánico de las muestras en seco

Muestra	Tipo de fibra	Longitud de fibra (mm)	Carga hasta la falla (N)
Flex FR 1,0%	Seda médica	12	17,6
Flex FR 0,5%	Seda médica	12	19,2
Flex FR 1,0%	Seda textil	12	55,85
Flex FR 0,5%	Seda textil	12	42,13

Flex FR 0,25%	Seda textil	12	32,12
Flex FR 1,0%	Seda textil	6	50,49
Flex FR 0,5%	Seda textil	6	22,12
Flex FR 0,25%	Seda textil	6	21,43
Flex FR 0,5%	PLLA	12	20,9
Flex FR 0,5%	PGA	12	24,0
Flex sin fibra	NA	0	13,53

Resultados y discusión:

5 Las muestras de seda médica, PGA y PLLA de Flex FR 0,5% muestran valores de LAF similares de 19,2, 24,0 y 20,9 N, respectivamente, y funcionan de manera más similar a la seda textil de 6 mm que a la seda textil de 12 mm. Estas muestras son 1,5 veces más fuertes que Flex sin fibra.

Se observó que en la seda textil en la muestra de Flex SFR 0,5%, la muestra con la LAF más alta, hay tres o más veces más fibras presentes que en cualquier otra muestra. Sorprendentemente, esta muestra de Flex SFR 0,5% (que contiene seda médica) tiene una resistencia comparable a la Flex FR 0,5% hecha usando PLLA y PGA, aunque estas muestras contienen 5 y 7,7 veces el número de fibras, respectivamente.

10 Se tomaron imágenes microscópicas de las fibras y se midieron sus diámetros. Se observó que las fibras PLLA y PGA son mucho más suaves que la seda médica o seda textil. También se observó que la seda de grado médico tiene un diámetro mucho mayor que todas las otras fibras, que incluye la seda textil.

15 Estas fibras más lisas observadas para PLLA y PGA pueden disminuir la fricción entre las partículas de ABM y las fibras. Además, PLLA y PGA son más hidrófilos que la seda. Por lo tanto, se presume que el hidrogel puede formar una capa lubricante alrededor de las fibras PLLA y PGA, se reduce la fricción entre las partículas de ABM que se deslizan a lo largo de las fibras y se reduciendo la LAF observada para estas formulaciones.

20 La seda de grado médico de mayor diámetro puede no ser tan fuerte con el mismo porcentaje de peso de seda textil porque hay muy pocas fibras para las interacciones de fricción. Las fibras más grandes también son más rígidas y no se forman alrededor de espacios vacíos como la seda textil mucho más pequeña. Por lo tanto, la seda médica simplemente se desliza más allá de las partículas de ABM sin añadir mucha fuerza adicional. La seda de grado médico parece ser un compuesto de múltiples fibras de seda y alguna clase de "pegamento", posiblemente sericina o cera.

Ejemplo 6. Efecto de la fibra sobre las propiedades de migración

25 El propósito de este estudio fue comprender el efecto de la pasta reforzada con fibra de seda (SFR) sobre la migración de partículas después de la implantación. Con hidratación in vivo, los materiales Flex forman una pasta. Es importante para el implante retener las partículas de ABM en el sitio del defecto óseo.

Se prepararon muestras de pasta reforzada con fibra usando los procedimientos descritos en el Ejemplo 1.

30 Se desarrolló un modelo in vitro para imitar la cavidad en una caja de implante espinal y el orificio de inserción de la caja (ver Figura 4A). Se coloca una placa intermedia en la placa inferior y la pasta se empaqueta firmemente en la cavidad central. La placa superior se sujeta usando los cuatro tornillos y se sella la cavidad interna de la caja. Se usó una aguja pequeña para llenar los orificios de entrada de fluido con fluido para eliminar las burbujas de aire. Se llenaron dos jeringas con solución salina tamponada con fosfato (PBS) y se unieron a una bomba de jeringa doble ajustada a una velocidad de 100 µl/minuto (200 µl/minuto en total con ambas). Los tubos conectan la jeringa y el modelo de la caja vertebral a través de las entradas de fluido. Se usó un cronómetro para medir el tiempo desde el inicio de la bomba hasta la migración visible de los gránulos de ABM que alcanzan la parte superior de la placa superior y para medir todos los demás puntos de tiempo pertinentes. Los resultados se proporcionan en la Tabla 4.

Tabla 4

Pasta	Fibra	Longitud de fibra (mm)	Tiempo de extrusión (minutos) <sup>a</sup>
Pasta SFR 1,0% en peso	Seda textil	9	7,5

## ES 2 774 424 T3

Pasta SFR 0,5% en peso	Seda textil	9	5,5
Pasta sin fibra	NA	0	2,5
a. La cantidad de tiempo requerida para que el particulado de ABM/P-15 alcance la parte superior del "orificio de inserción"			

### Resultados y discusión:

5 La pasta sin fibra fue la más rápida de extrudir de la cavidad de la caja interna del modelo a los 2,5 minutos (ver Figura 4B). A los nueve minutos, la bomba se apagó porque una gran "serpiente" de pasta había extrudido del orificio y el PBS estaba empezando a salir. Aproximadamente se extrudieron 0,4 cc de pasta durante este experimento.

A los 5,5 minutos, la pasta SFR 0,5% comenzó a extrudirse de la cavidad de la caja interna del modelo (ver la Figura 4C). Al final de la prueba (12 minutos), se habían extrudido aproximadamente 0,05 cc de pasta SFR 0,5%. La mayoría del material extrudido (aprox. 60%) era un portador de hidrogel, y sin partículas de ABM.

10 A los 7,5 minutos, la pasta SFR 1,0% comenzó a extrudirse de la cavidad de la jaula interna del modelo (ver Figura 4D). Al final de la prueba (16 minutos), se habían extrudido aproximadamente 0,05 cc de pasta SFR 1,0%. La mayoría del material extrudido (aprox. 80%) era portador de hidrogel y sin partículas ABM.

Se descubrió que los materiales de pasta FR exhibían una reducción drástica en su capacidad para extrudir del sitio de implantación en comparación con la formulación sin fibra.

### Ejemplo 7. Efecto de la fibra sobre la resistencia a la tracción de las formulaciones de pasta

15 El propósito de este estudio fue comprender el efecto de la fibra de seda sobre la resistencia a la tracción de las formulaciones de pasta.

20 Las muestras de pasta sin fibra y reforzadas con fibra de seda y (1% de fibra) se prepararon usando los procedimientos descritos en el Ejemplo 1. Las formulaciones de pasta se estiraron hasta la falla usando un instrumento de prueba mecánica Instron™. A medida que la formulación de pasta es separada por el instrumento, se midió la fuerza ejercida por el instrumento sobre la muestra y se calculó el límite elástico.

25 El límite de elasticidad (la fuerza por unidad de área aplicada a una muestra durante una prueba mecánica) se midió tanto para la formulación sin fibra como para la formulación SFR 1%. La pasta sin fibra exhibió un límite elástico promedio de  $5 \pm 1$  kPa, mientras que la formulación SFR exhibió un límite elástico promedio de  $21 \pm 2$  kPa. Los resultados muestran que, en promedio, el límite elástico de la pasta aumentó cuatro veces con la adición de las fibras de seda.

### Ejemplo 8. Efecto de la fibra sobre la resistencia a la tracción de las formulaciones de Flex

El propósito de este estudio fue comprender el efecto de la fibra de seda sobre la resistencia a la tracción de las formulaciones de Flex.

30 Se prepararon muestras de Flex sin fibra y Flex SFR 1,0% usando los procedimientos descritos en el Ejemplo 1. Las formulaciones de Flex se estiraron hasta la falla usando un instrumento de prueba mecánica Instron™. A medida que la formulación de Flex es separada por el instrumento, se midió la fuerza ejercida por el instrumento sobre la muestra, y se calcularon el módulo y el límite elástico.

El límite de elasticidad y el módulo se midieron tanto para la formulación de Flex sin fibra como para la formulación de Flex SFR 1%. Los resultados se proporcionan en la Tabla 5.

35 Tabla 5.

Especimen	Grosor de la muestra (mm)	Módulo <sup>a</sup> (kPa)	Límite elástico (kPa)
Flex sin fibra	3,42	111	41
Flex sin fibra	3,42	90	43
Flex sin fibra	3,44	55	34
Flex sin fibra	3,45	103	40
Flex sin fibra	3,45	97	45

## ES 2 774 424 T3

Flex sin fibra	3,44	77	41
Flex SFR 1%	3,83	2761	421
Flex SFR 1%	3,84	2840	440
Flex SFR 1%	3,80	3435	547
Flex SFR 1%	3,80	2298	324
Flex SFR 1%	3,72	1313	261
Flex SFR 1%	3,75	1770	308

a. Resistencia a la deformación elástica de un material. Es la relación de tensión a deformación en la región elástica de una prueba de tracción. La deformación es el cambio en la longitud del material dividido por la longitud original del material durante las pruebas mecánicas.

- 5 El Flex sin fibra exhibió un límite elástico promedio de  $41 \pm 3$  kPa, mientras que la formulación Flex SFR exhibió un límite elástico promedio de  $384 \pm 84$  kPa. El Flex sin fibra exhibió un módulo promedio de  $89 \pm 16$  kPa, mientras que la formulación Flex SFR exhibió un módulo promedio de  $2,403 \pm 458$  kPa. Los resultados muestran que, en promedio, el límite elástico del Flex aumenta nueve veces y el módulo aumenta 27 veces con la adición de las fibras de seda.

Ejemplo 9. Efecto de la fibra sobre la LAF y la EAF de las formulaciones de Flex

Se prepararon muestras de Flex sin fibra y Flex SFR 1,0% usando los procedimientos descritos en el Ejemplo 1. Se analizaron muestras de aproximadamente 4 mm de espesor usando el ensayo BPD descrito en el Ejemplo 2. La carga hasta la falla (LAF) y la extensión hasta la falla (EAF) los resultados se proporcionan en la Tabla 6.

- 10 Tabla 6

Espécimen	Grosor de la muestra (mm)	Carga hasta la falla (LAF) (N)	Extensión hasta la falla (EAF) (mm)
Flex sin fibra	3,60	7,92	10,05
Flex sin fibra	3,53	6,87	10,20
Flex sin fibra	3,63	7,68	10,20
Flex sin fibra	3,71	8,05	9,85
Flex sin fibra	3,55	8,17	10,50
Flex sin fibra	3,67	7,99	10,10
Flex SFR 1%	3,83	64,95	7,40
Flex SFR 1%	3,89	60,39	7,40
Flex SFR 1%	3,87	75,09	8,00
Flex SFR 1%	3,89	57,32	7,15
Flex SFR 1%	3,92	60,41	8,85
Flex SFR 1%	3,93	83,48	8,25

- 15 El Flex sin fibra exhibió una LAF promedio de  $7,8 \pm 0,4$  N y una EAF promedio de  $10,2 \pm 0,2$  mm. Por el contrario, la formulación de Flex SFR 1% exhibió una LAF de  $66,9 \pm 8,2$  N y una EAF de  $7,8 \pm 0,5$  mm. Se observó cierta retracción (es decir, durante las pruebas, las muestras se tirará de los lados del soporte y se sesgarán los datos de extensión) de Flex sin fibra que contribuyen ligeramente a sus valores de EAF más grandes en comparación con los observados para la formulación de Flex SFR.

Ejemplo 10. Características de migración de las formulaciones de Flex en un modelo animal

El propósito de este estudio piloto de tres semanas en la columna lumbar en ovejas fue comparar las características de migración del producto de las formulaciones de Flex reforzado con fibra con la formulación Flex sin fibra. Para evaluar el efecto migratorio de las formulaciones de Flex en un procedimiento de fusión intercorporal lumbar posterior (PLIF), se utilizó un modelo PLIF ovino bien establecido. Este modelo ha sido aceptado por investigadores, médicos y reguladores como un modelo predictivo para los procedimientos relacionados con la fusión de la columna vertebral en seres humanos. El presente estudio tenía como objetivo no solo implantar las construcciones sino también evaluar la migración después de la cirugía en animales vivos. Estas cirugías de fusión espinal se realizaron sin instrumentar para asegurar la máxima movilidad de la columna después de la cirugía y antes del sacrificio. Esto tenía la intención de proporcionar el escenario de prueba de peor caso para cada una de las muestras.

#### 10 Muestras flexibles probadas

Las siguientes muestras de Flex se prepararon usando los procedimientos descritos en el Ejemplo 1:

(1) Flex sin fibra;

(2) Flex reforzado con fibra formado a partir de pasta que contiene 0,5% (p/p) de fibras PLLA de 12 mm de longitud;

15 (3) Flex reforzado con fibra formado a partir de pasta que contiene 0,5% (p/p) de fibras de seda de 9 mm de longitud que se lavaron con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  para eliminar el 98% de la sericina en la superficie de las fibras de seda; y

(4) Flex reforzado con fibra formado a partir de pasta que contiene 1,0% (p/p) de fibras de seda de 9 mm de longitud que se lavaron con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  para eliminar el 98% de la sericina en la superficie de las fibras de seda.

20 Se analizaron tres muestras de cada formulación para determinar el contenido de agua (Karl Fischer) y el contenido porcentual de sólidos. El contenido de agua promedio de las muestras de Flex sin fibra y Flex FR fue del 3,7% y 3,4%, respectivamente. El porcentaje promedio de sólidos anhidros fue del 86% y 86,4% para las muestras de Flex y Flex FR sin fibra, respectivamente.

25 Se analizaron muestras de aproximadamente 3,5 a 4,0 mm de grosor usando el ensayo BPD descrito en el Ejemplo 2. Después de humedecer 1,0% Flex SFR, Flex SFR 0,5%, Flex FR 0,5% que contiene fibras PLLA y Flex sin fibra pierden aproximadamente 59%, 63%, 76% y 94% de su resistencia en seco, respectivamente (ver Figura 5). Aunque la seda y el PLLA en el mismo porcentaje en peso de adición tienen valores de LAF en seco similares, sus valores de LAF en húmedo son significativamente diferentes. Esta pérdida indica una diferencia en la cohesión relativa de las tiras; las formulaciones de seda Flex FR parecen tener una mayor cohesión que FR PLLA.

#### Implantación

30 En resumen, seis ovejas hembras maduras esqueléticamente se sometieron a un procedimiento PLIF no instrumentado de nivel único. Se utilizó un enfoque posterior para exponer la lámina y los procedimientos transversales (TP) con una disección realizada en el nivel L4 al nivel L5 en la línea media a lo largo de los procedimientos espinosos y a través de los procedimientos transversales a las puntas. Las facetas se eliminaron con un ronguer y los procedimientos transversales y los cuerpos vertebrales se decortaron cuidadosamente con una fresa. Los materiales experimentales se colocaron en el canal de la columna vertebral, al lado y a través de los procedimientos transversales de los cuerpos vertebrales lumbares L4 y L5.

35 Se eligió un punto final de tres semanas para probar la migración de implantes sobre la base de las etapas normales de cura de las heridas. A las 3 semanas después de la operación, se esperaba que la ubicación del implante estuviera en su ubicación permanente, lo que permite una determinación exacta de la migración del implante.

40 Las cuatro formulaciones Flex se implantaron en la columna lumbar de ovejas (3 muestras cada una implantada en 6 ovejas). Los sitios quirúrgicos para todas las ovejas estaban muy bien preparados y se mantuvieron lo más secos posible. Durante la implantación, todas las muestras se colocaron en su lugar y se rasgaron para ajustarse (aproximadamente 30 mm de rasgado). Se realizaron necropsias de ovejas y excisiones de la columna lumbar después de 3 semanas de vida.

#### Características de manipulación

45 Todas las muestras de Flex FR fueron menos flexibles que Flex sin fibra, la formulación del 1,0% Flex SFR es la menos flexible de todas (el alargamiento a la tracción fue muy bajo, pero aún era muy flexible en torsión y flexión).

Todas las muestras exhibieron alguna partícula en el sitio de desgarro, y Flex sin fibra se estaba desmoronando en esta región. Todas las muestras reforzadas con fibra fueron más difíciles de rasgar que Flex sin fibra, el Flex SFR 1,0% fue el más difícil.

50 Las formulaciones de Flex FR 0,5% con fibras PLLA y 1,0% Flex SFR no fueron tan cohesivas inicialmente para el sitio de implantación como Flex sin fibra y se recuperaron. Después de cierta hidratación, comenzaron a adherirse al hueso y fueron más conformables.

## Radiografía posnecropsia, CT y disección

Las radiografías pos-necropsia proporcionaron información de adelgazamiento y migración a primera vista con buena resolución. Para las tres muestras implantadas, en la Tabla 7 se proporciona un recuento de muestras observadas que se han adelgazado o migrado.

5

Tabla 7

Muestra	Adelgazada	Migrada
Flex sin fibra	3	1
Flex FR 0,5% (PLLA)	1	1
Flex SFR 0,5%	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>
1,0% Flex SFR	0	0
a. La misma muestra mostró adelgazamiento y migración.		

## Conclusiones

10 Durante los estudios iniciales, la muestra de Flex SFR 0,5% tuvo las mejores características de manipulación. Durante la implantación, las muestras de Flex SFR 0,5% fueron fáciles de manipular y se adaptaron muy bien al sitio de implantación. También eran fáciles de rasgar a medida. Sin embargo, estas muestras fueron inadecuadas con respecto al rendimiento en el punto final de tres semanas del estudio de ovejas. Dos de los tres implantes Flex SFR 0,5% migraron o se separaron. La única muestra que no migró exhibió adelgazamiento en la región del procedimiento transversal interno (TP).

15 Las muestras de Flex FR 0,5% (PLLA) se desempeñaron bien tras la implantación. Se observó que estos prototipos eran más gruesos y se sentían más densos que los demás. Inicialmente eran bastante rígidos, pero se desgarraron con facilidad. Después del período de tres semanas, solo hubo adelgazamiento en el espacio entre TP en una muestra y se observó una pequeña migración en otra.

20 Las muestras del 1,0% Flex SFR fueron las más fuertes en general y esto se observó durante la implantación mientras los cirujanos rasgaban las tiras a medida (más difícil pero más que manejable). Las tiras tampoco eran tan conformables inicialmente como las otras; esto se observó como un rebote lejos del hueso y los tejidos después de presionar la muestra hacia abajo en el sitio de implantación. En el punto de tiempo de tres semanas, las muestras del 1,0% Flex SFR mostraron el mejor rendimiento con poco o ningún adelgazamiento y absolutamente sin migración. También tenían buena vascularización y una buena capa de sustancia fundamental (es decir, la matriz de colágeno que es secretada por los osteoblastos y el material mineralizado).

25 El Flex sin fibra funcionó muy bien durante la implantación. Las tiras eran relativamente flexibles y se adaptaban muy bien al hueso y los tejidos nativos. Después de tres semanas in vivo, las tiras se adelgazaron considerablemente y también se habían alargado aproximadamente 10 mm de sus longitudes originales. También se observó vascularización y formación de sustancia fundamental.

30 A partir de estos resultados, concluimos que la formulación 1,0% Flex SFR es superior en función de su rendimiento in vivo. Basándose únicamente en la manipulación, esta formulación no es la más ideal en estado seco. Tiene el alargamiento a la tracción y conformabilidad inicial más bajos. Sin embargo, después de la hidratación, las características de manipulación de las tiras se vuelven bastante ideales y superan a las otras; las tiras se adaptan al sitio y no se desarmen durante la manipulación. Los sitios quirúrgicos humanos típicos son mucho más húmedos que el sitio utilizado para este estudio y esto puede minimizar cualquier problema de manipulación de esta formulación.

## 35 Ejemplo 11. Imágenes SEM

Las mediciones de microscopía electrónica de barrido (SEM) se realizaron con formulaciones Flex reforzadas con fibra de seda con una barra de micrones incorporada en cada imagen (ver Figuras 6A y 6B). Los tamaños de poro se evaluaron usando vistas separadas de diferentes imágenes SEM y un calibrador calibrado. Los tamaños de poro medidos luego se normalizaron contra la barra de tamaño asociada con cada imagen fotográfica. El diámetro medio de los poros se midió en tres campos de visión separados para dos muestras de Flex reforzado con fibra de seda. En la primera muestra, el diámetro medio de los poros fue de  $96 \pm 69$  micrones. En la segunda muestra, el diámetro medio de los poros fue de  $59 \pm 31$  micrones.

45 La porosidad de las formulaciones puede ser importante para promover la infiltración celular y vascular después de la implantación en un sujeto. Los tamaños observados de los poros presentes en estos materiales son suficientes para promover la infiltración y la formación de hueso.

Ejemplo 12. Prueba de compresión

El propósito de este estudio fue hacer una evaluación preliminar de la resistencia a la compresión de las formulaciones de Flex reforzado con fibra de seda 1,0% actuales. Esta prueba se realizó usando un procedimiento similar al procedimiento del Ejemplo 2 para comprender la resistencia a la compresión del Flex reforzado con fibra en sus estados seco y húmedo. La velocidad de avance fue de 0,1 in/min.

Se fabricaron cuatro cilindros de Flex reforzado con fibra con un diámetro de 12 mm y una altura de 12 mm mediante el empaquetado de la pasta reforzada con fibra 20 en un molde y la liofilización de la pasta. Las muestras se analizaron en seco y en húmedo. Los resultados se representan en la Figura 7.

A partir del gráfico de tensión versus deformación (ver Figura 7), es evidente que la matriz de gel tiene su propia reacción inicial a la tensión aplicada (ver la región entre 0 y aproximadamente 0,08 de deformación). Luego, las partículas y fibras comienzan a aplicar carga como evidencia por el brusco aumento de la pendiente y luego se produce una fluencia de alrededor de 1,5 MPa para la formulación seca. Se usó una compensación de deformación del 0,2% para calcular el límite elástico. Se observó que el módulo observado (calculado a partir de la pendiente) era de 14,66 M.

A partir del gráfico de tensión versus deformación (ver Figura 7), es evidente que las dos muestras húmedas mostraron un perfil muy interesante con cuatro regiones distintas. La primera, entre 0 y 0,12 de deformación es más probablemente la reacción en gel. En segundo lugar, entre 0,12 y 0,27 de deformación, el material húmedo externo que falla. Tercero, entre 0,27 y 0,45 deformación, el material seco interno comenzó a tomar carga y falló. Finalmente, el último aumento brusco en la pendiente fueron los gránulos de ABM en contacto directo. Las muestras tenían un límite elástico en húmedo de aproximadamente 0,55 MPa y un módulo de 3,47 MPa.

Ejemplo 13. Muestras preparadas por laminado versus extrusión.

El propósito de este estudio fue comparar los valores de tensión de la prueba de tracción con los valores de carga de las resistencias a la deformación por punzón de bola observadas para Flex reforzado con fibra de seda 1,0% (húmedo y seco) y pasta reforzada con fibra de seda 1,0% en la cual las muestras se prepararon (i) mediante el laminado de la pasta en láminas, o (ii) extrusión de la pasta.

Las tiras laminadas se prepararon mediante la obtención de la pasta reforzada con fibra de seda 1,0% y laminado de la pasta para formar la conformación deseada. Luego, las tiras se liofilizaron para formar tiras Flex reforzado con fibra de seda 1,0% (grosor aproximado de 4 mm).

Las tiras extrudidas se prepararon mediante la obtención de la reforzada con fibra de seda 1,0% y extrudido de la pasta desde un orificio de 12 mm de diámetro en "cuerdas" de 200 mm de largo. Las cuerdas se prensaron en un molde y se liofilizaron para formar tiras de Flex reforzado con fibra de seda 1,0% (grosor aproximado de 4 mm). Alternativamente, las pastas de la invención se pueden extrudir de un orificio de 25 mm x 4 mm para formar láminas listas para liofilización.

Se evaluaron la resistencia a la tracción y el módulo para tiras laminadas y extrudidas de pasta reforzada con fibra de seda 1,0%. Los resultados se proporcionan en la Tabla 8.

Tabla 8

	Grosor (mm)	Módulo (kPa)	Resistencia (kPa)	Grosor	Módulo (kPa)	Resistencia (kPa)
Muestra	Pasta SFR 1% laminada (n=18)			Pasta SFR 1% extrudida		
Prom.	4,08	2011,44	401,44	3,95	4404,29	645,29
95% Conf.	0,03	310,89	56,19	0,01	241,39	46,61
Desv. est.	0,05	672,98	121,63	0,02	325,85	62,92
Máx.	4,20	3468,00	635,00	3,97	4750,00	711,00
Mín.	3,98	773,00	191,00	3,92	3727,00	520,00

Se evaluaron LAF, EAF, y tensión para las tiras laminadas y extrudidas de Flex reforzado con fibra de seda 1,0% en seco. Los resultados se proporcionan en la Tabla 9.

Tabla 9

	Grosor (mm)	LAF(N)	EAF (mm)	Tensión (kPa)	Grosor	LAF (N)	EAF (mm)	Tensión (kPa)
Muestra	Flex SFR 1% laminada en <b>SECO</b> (n=12)				Flex SFR 1% extrudida en <b>SECO</b> (n=11)			
Prom.	3,95	53,29	7,51	164,99	3,95	53,92	6,43	184,73
95% Conf.	0,01	3,57	0,22	14,43	0,01	3,19	0,33	10,35
Desv. est.	0,02	6,30	0,39	25,51	0,02	5,39	0,56	17,52
Máx.	3,97	61,29	8,20	200,98	3,97	62,52	7,80	211,51
Mín.	3,92	42,20	7,00	117,05	3,92	46,41	5,75	155,72

Se evaluaron LAF, EAF, y tensión para las tiras laminadas y extrudidas de Flex reforzado con fibra de seda 1,0 en húmedo. Los resultados se proporcionan en la Tabla 10.

Tabla 10

	Grosor (mm)	LAF (N)	EAF (mm)	Tensión (kPa)	Grosor	LAF (N)	EAF (mm)	Tensión (kPa)
	Flex SFR 1% laminada en <b>HÚMEDO</b> (n=6)				Flex SFR 1% extrudida en <b>HÚMEDO</b> (n=6)			
Prom.	3,95	9,50	7,81	29,91	3,95	21,91	7,12	68,81
95% Conf.	0,01	1,07	0,59	3,68	0,01	2,28	0,84	5,00
Desv. est.	0,02	1,34	0,74	4,60	0,02	2,85	1,05	6,25
Máx.	3,97	11,17	9,15	35,74	3,97	26,02	8,55	75,74
Mín.	3,92	7,67	7,05	24,00	3,92	18,35	6,05	58,69

5

### Conclusiones

Se observó que las tiras laminadas de pasta SFR 1% tenían una resistencia a la tracción de  $401,44 \pm 56,19$  kPa y un módulo de  $2011,44 \pm 310,89$  kPa. Por el contrario, se observó que la resistencia a la tracción y el módulo de las tiras extrudidas de pasta SFR 1% eran  $645,29 \pm 46,61$  kPa y  $4404,29 \pm 241,39$  kPa, respectivamente. Los resultados muestran un aumento estadísticamente significativo en el límite elástico (YS) y el módulo para las pastas reforzadas con fibra preparadas por procesamiento de extrusión. Los datos sugieren que la pasta reforzada con fibra extrudida es 50% más fuerte que la pasta reforzada con fibra laminada.

Se observó (i) que las tiras laminadas y extrudidas en seco de Flex SFR 1% tenían una LAF de  $53,29 \pm 3,57$  N y  $53,92 \pm 3,19$  N, respectivamente; (ii) se observó que tenían una EAF de  $7,51 \pm 0,22$  mm y  $6,43 \pm 0,33$  mm, respectivamente; y se observó que tenían valores de tensión de  $164,99 \pm 14,43$  kPa y  $184,73 \pm 10,35$  kPa, respectivamente. En el Flex SFR 1% seco, el procesamiento de extrusión produjo poco o ningún cambio en la resistencia o las propiedades de manipulación de la muestra.

Se observó que las tiras laminadas y extrudidas en húmedo de Flex SFR 1% (i) tenían una LAF de  $9,50 \pm 1,07$  N y  $21,91 \pm 2,28$  N, respectivamente; (ii) se observó que tenían una EAF de  $7,81 \pm 0,59$  mm y  $7,12 \pm 0,84$  mm, respectivamente; y se observó que tenían valores de tensión de  $29,91 \pm 3,68$  kPa y  $68,81 \pm 5,00$  kPa, respectivamente. Se observó que las muestras laminadas en húmedo eran aproximadamente 18% tan fuertes como las muestras laminadas en seco. Por el contrario, se observó que las muestras extrudidas eran aproximadamente 37% tan fuertes como las muestras extrudidas en seco. Por lo tanto, el procesamiento de extrusión da como resultado un producto Flex reforzado con fibra que permanece más fuerte con la humectación. Se observó que las muestras extrudidas exhibían una LAF y tensión significativamente mayores en comparación con muestras laminadas. El cálculo de la tensión proporciona una manera de estimar las tensiones observadas en la muestra durante la prueba de deformación y proporciona una medida de las tensiones necesarias para "punzar" la muestra. Por lo tanto, el procesamiento de extrusión da como resultado un producto Flex reforzado con fibra que es más resistente a la punción durante la implantación.

A partir de este estudio, es evidente que las muestras extrudidas son generalmente más fuertes y rígidas, en tensión, cuando se tensan paralelas a la dirección de extrusión.

## REIVINDICACIONES

1. Una composición de reparación ósea en la que dicha composición es:
- (A) una pasta de reparación ósea que comprende:
- (i) del 25% al 65% (p/p) de partículas de hidroxiapatita que tienen un tamaño medio de partícula de 100  $\mu\text{m}$  a 1000  $\mu\text{m}$ ;
- 5 (ii) del 30% al 75% (p/p) portador de hidrogel para suspender dichas partículas de hidroxiapatita; y
- (iii) del 0,2% al 2% (p/p) de fibras, dichas fibras tienen una longitud promedio de 0,5 a 15 mm y un diámetro medio de 5  $\mu\text{m}$  a 60  $\mu\text{m}$ , en la que dichas fibras se seleccionan de fibras de seda, fibras de celulosa, fibras de nylon, fibras de colágeno, fibras de elastina, fibras de gelatina, fibras de queratina, fibras de hialuronano, fibras de alginato, fibras de glicoláctido, fibras de quitosano, fibras de polietileno, fibras de poliuretano, fibras de poliglicólido,
- 10 fibras de poli-1-láctido, fibras de ácido poli- $\beta$ -hidroxibutírico, fibras de polidioxanona, fibras de poliéster, fibras de policarbonato, fibras de dacrón, fibras de vidrio bioactivas, fibras de oro, fibras de carbono, fibras de nitinol y fibras de acero inoxidable, y en el que dicha pasta de reparación ósea es no fraguable y maleable y en la que la relación del número de partículas de hidroxiapatita al número de fibras en dicha pasta es de 0,1 a 10, o
- (B) una composición implantable maleable para corregir defectos óseos formados por liofilización de la pasta de
- 15 reparación ósea de (A).
2. La composición de reparación ósea de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicha composición de reparación ósea es una pasta y dicho portador de hidrogel comprende un agente dispersante seleccionado de glicerina, polietilenglicol, N-metilpirrolidona, y triacetina; un polímero seleccionado de carboximetilcelulosa de sodio, alcohol polivinílico, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, y ácido hialurónico; y agua.
- 20 3. La composición de reparación ósea de acuerdo con la reivindicación 2, en la que dicha composición de reparación ósea es una pasta y dicha pasta de reparación ósea comprende:
- (a1) del 3% al 10% (p/p) un agente dispersante seleccionado de glicerina, polietilenglicol, N-metilpirrolidona, y triacetina;
- (a2) del 0,5% al 2,0% (p/p) un polímero seleccionado de carboximetilcelulosa de sodio, alcohol polivinílico,
- 25 hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, y ácido hialurónico;
- (a3) del 40% al 60% (p/p) de partículas de hidroxiapatita;
- (a4) del 25% al 55% (p/p) de agua; y
- (a5) del 0,2% al 2% (p/p) de dichas fibras.
- 30 4. La composición de reparación ósea de acuerdo con la reivindicación 3, en la que dicha composición de reparación ósea es una pasta y dichas partículas de hidroxiapatita son un mineral óseo orgánico revestido con péptido P-15 (SEQ ID NO 1) que tiene diámetros entre 250 micrones a 425 micrones.
5. La composición de reparación ósea de acuerdo con la reivindicación 3, en la que dicha composición de reparación ósea es una pasta y dicho polímero es carboximetilcelulosa de sodio y dicho agente dispersante es glicerina; o en la que dicha pasta de reparación ósea comprende: (b1) del 4,5% al 7,5% (p/p) glicerina; (b2) del 1,0% al 2,0% (p/p) carboximetilcelulosa de sodio; (b3) del 45% al 65% (p/p) un mineral óseo orgánico; (b4) del 0,2% al 2% (p/p) de fibras,
- 35 dichas fibras que tienen una longitud promedio de 5 a 15 mm; y (b5) del 35% al 45% (p/p) de agua.
6. La composición de reparación ósea de acuerdo con la reivindicación 5, en la que dicha composición de reparación ósea es una pasta que comprende de 0,75% al 1,25% (p/p) de fibras de seda, dichas fibras que tienen una longitud promedio de 7 a 12 mm.
- 40 7. La composición de reparación ósea de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicha composición es dicha composición implantable flexible para corregir defectos óseos formados por la liofilización de la pasta de reparación ósea de cualquiera de las reivindicaciones 1-6.
8. La composición de reparación ósea de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicha composición es dicha composición implantable flexible para corregir defectos óseos que comprende:
- 45 (c1) del 5% al 20% (p/p) a agente dispersante seleccionado de glicerina, polietilenglicol, N-metilpirrolidona, y triacetina;
- (c2) del 1,0% al 6,0% (p/p) a polímero seleccionado de carboximetilcelulosa de sodio, alcohol polivinílico, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, y ácido hialurónico;
- (c3) del 65% al 90% (p/p) partículas de hidroxiapatita que tienen un tamaño medio de partícula de 100  $\mu\text{m}$  a 1000  $\mu\text{m}$ ;
- y

- 5 (c4) del 0,2% al 3,5% (p/p) de fibras, dichas fibras que tienen una longitud promedio de 0,5 a 15 mm, y un diámetro medio de 5  $\mu\text{m}$  a 60  $\mu\text{m}$ , en la que dichas fibras se seleccionan de fibras de seda, fibras de celulosa, fibras de nylon, fibras de colágeno, fibras de elastina, fibras de gelatina, fibras de queratina, fibras de hialuronano, fibras de alginato, fibras de glicoláctido, fibras de quitosano, fibras de polietileno, fibras de poliuretano, fibras de poliglicólido, fibras de poli-1-láctido, fibras de ácido poli- $\beta$ -hidroxibutírico, fibras de polidioxanona, fibras de poliéster, fibras de policarbonato, fibras de dacrón, fibras de vidrio bioactivas, fibras de oro, fibras de carbono, fibras de nitinol y fibras de acero inoxidable, y
- 10 (c5) del 1,5% al 20% (p/p) de agua, en la que dicha composición implantable flexible tiene una porosidad del 5 al 35% y en la que la relación del número de partículas de hidroxiapatita al número de fibras en dicha composición implantable flexible es de 0,1 a 10.
9. La composición implantable flexible de acuerdo con la reivindicación 8, en la que dichas partículas de hidroxiapatita son un mineral óseo orgánico revestido con péptido P-15 (SEQ ID NO 1) que tiene diámetros entre 250 micrones a 425 micrones.
10. La composición implantable flexible de acuerdo con la reivindicación 8, en la que dicha composición comprende:
- 15 (d1) del 8% al 15% (p/p) de glicerina;
- (d2) del 1,5% al 3,0% (p/p) de carboximetilcelulosa de sodio;
- (d3) del 75% al 90% (p/p) de un mineral óseo orgánico;
- (d4) del 0,2% al 3,5% (p/p) de fibras, dichas fibras que tienen una longitud promedio de 0,5 a 15 mm; y
- (d5) del 1,5% al 6% (p/p) de agua.
- 20 11. La composición implantable flexible de acuerdo con la reivindicación 10, que comprende del 1,2% al 1,8% (p/p) de fibras de seda, dichas fibras que tienen una longitud promedio de 7 a 12 mm.
12. La composición implantable flexible de cualquiera de las reivindicaciones 8-11, en la que dicha composición se forma de una pasta de reparación ósea procesada por extrusión de cualquiera de las reivindicaciones 1-7 antes de al liofilización.
- 25 13. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en la que dichas fibras comprenden un péptido de adhesión celular.

Figura 1

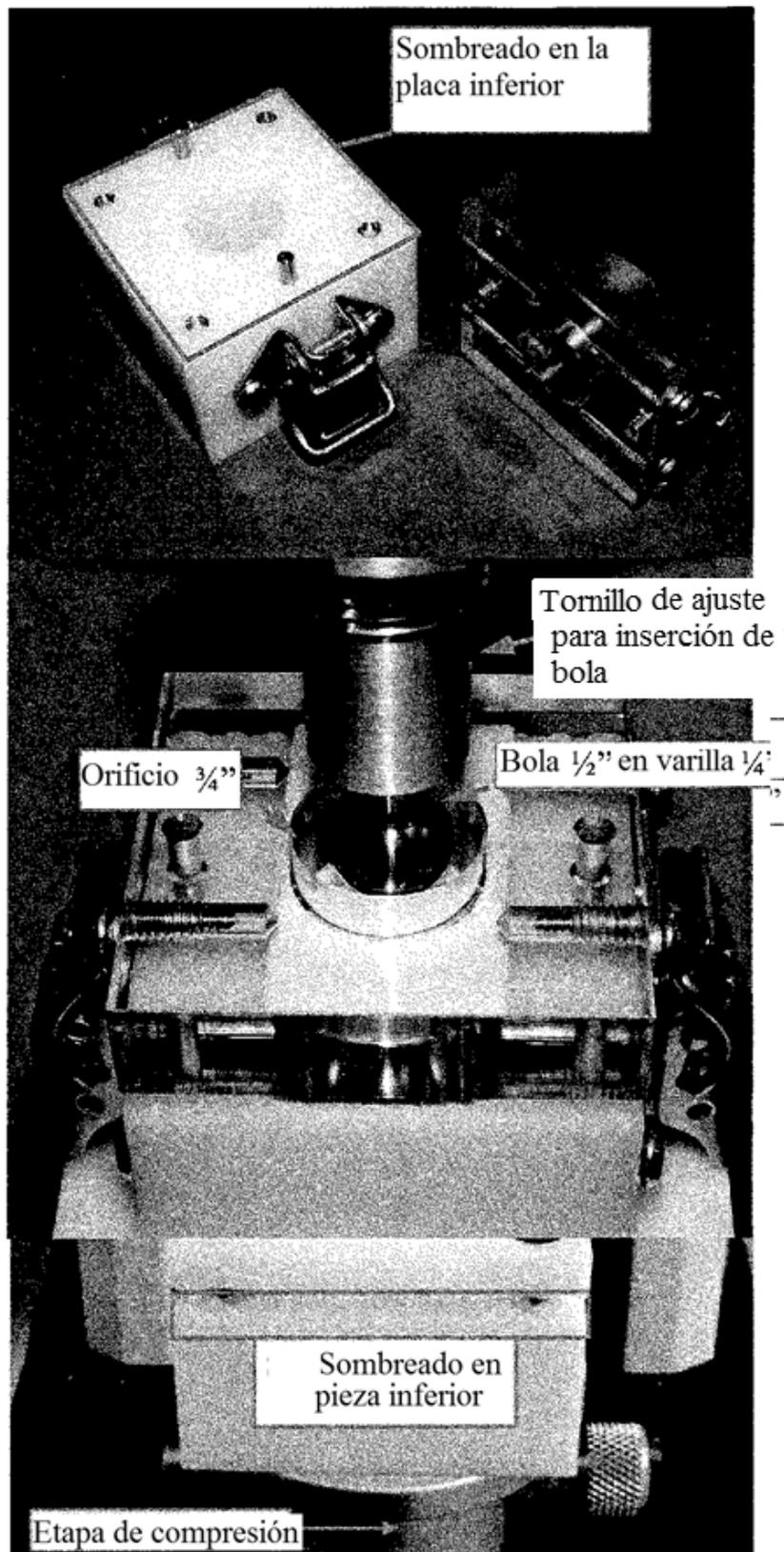


Figura 2

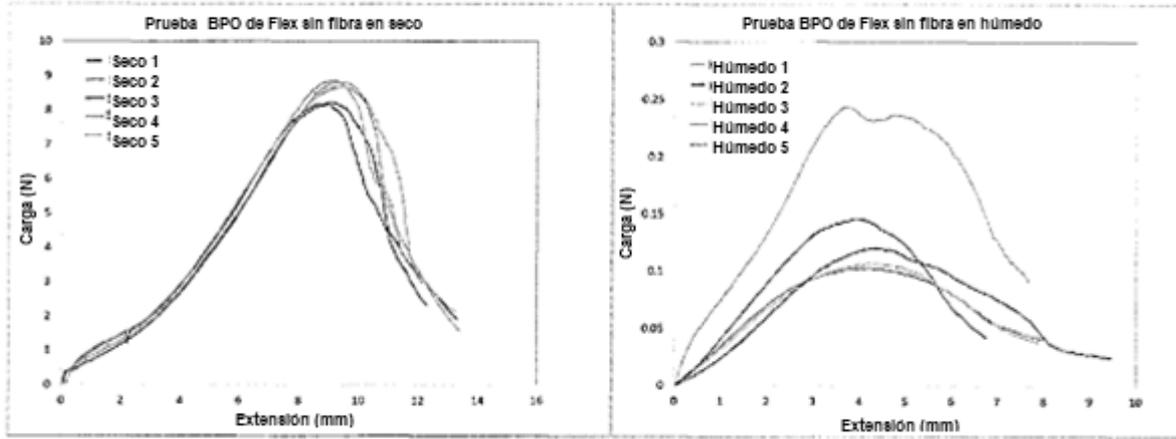


Figura 3

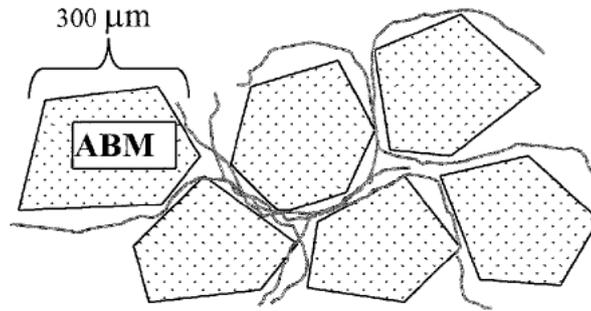


Figura 4

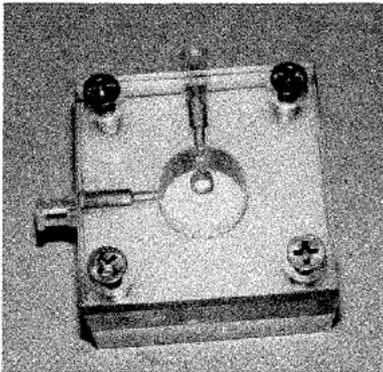


Figura 4A

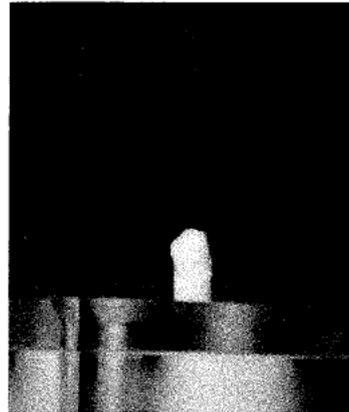


Figura 4B

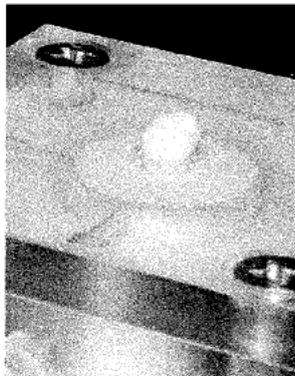


Figura 4C

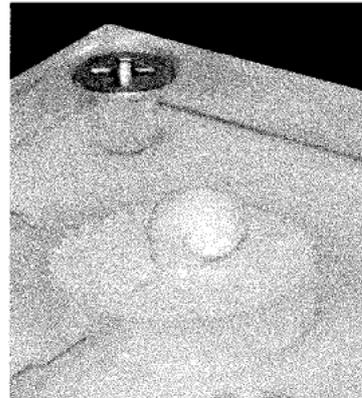


Figura 4D

Figura 5

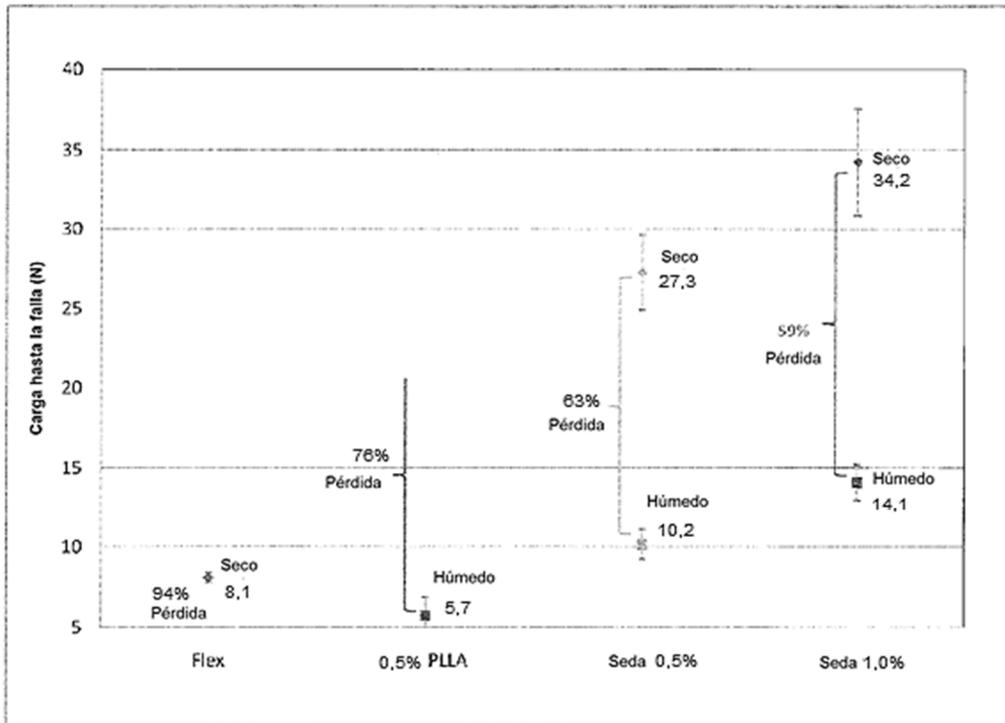


Figura 6

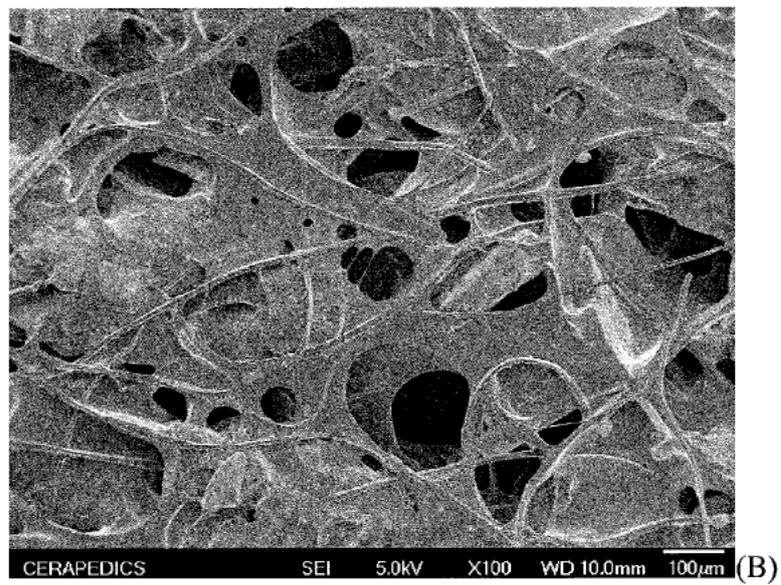
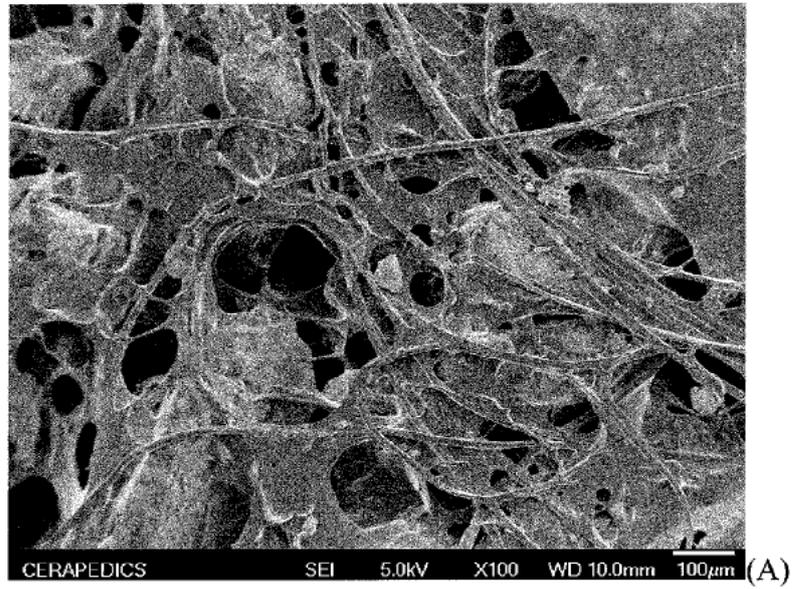


Figura 7

