

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 783 276**

51 Int. Cl.:

**A61L 27/46** (2006.01)

**A61L 27/52** (2006.01)

**A61L 27/54** (2006.01)

**A61L 27/58** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.09.2015 PCT/CH2015/000133**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.03.2017 WO17045084**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.09.2015 E 15771498 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.03.2020 EP 3349815**

54 Título: **Composición para la regeneración ósea**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**17.09.2020**

73 Titular/es:

**ECOLE POLYTECHNIQUE FEDERALE DE  
LAUSANNE (EPFL) (100.0%)  
EPFL-TTO EPFL Innovation Park J  
1015 Lausanne, CH**

72 Inventor/es:

**KETTENBERGER, ULRIKE y  
PIOLETTI, DOMINIQUE**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 783 276 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**

Composición para la regeneración ósea

## 5 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 La invención se refiere a una composición para la regeneración ósea, en concordancia con el preámbulo de la reivindicación 1, a un procedimiento en concordancia con el preámbulo de la reivindicación 11, para producir porciones o fragmentos de hidrogel reticulados y a un procedimiento en concordancia con la reivindicación 13, para producir una composición para la regeneración ósea. Los defectos óseos pueden acontecer, en el cuerpo humano, debido a muchas razones, tales como los traumatismos, los tumores o las infecciones. Dependiendo de la ubicación y del tamaño del defecto óseo, puede exceder las capacidades de auto reparación del cuerpo, de tal forma que tengan que intervenir los cirujanos o los dentistas.

15 Los tratamiento estándar, para los defectos óseos, consisten en es un relleno con bien ya sea un hueso autólogo, el cual se toma de otro sitio del paciente o bien ya sea de sustitutos óseos los cuales se encuentran disponibles comercialmente. Esos sustitutos óseos, generalmente, están hechos de aloinjertos o xenoinjertos óseos procesados o (generalmente bovinos) o materiales sintéticos como fosfatos de calcio. Los cirujanos pueden elegir entre bloques de matriz ósea sólida, de gránulos, de materias en polvo o de pastas, para los cuales, los componentes minerales, se mezclan con pequeñas cantidades de agua o de gel para convertirlos en maleables o inyectables. De una forma adicional, hay cementos óseos a base de fosfato de calcio que inicialmente son bien inyectables en el momento de la aplicación, pero que se endurecen in situ bajo la formación de un gran bloque compacto de fosfato de calcio. El alto contenido de componente mineral, apenas reabsorbible, es una de las principales desventajas de los materiales comercialmente disponibles. Incluso las pastas sustitutivas óseas, para las cuales el mineral se combina con un componente líquido o gel y que se supone que son fáciles de aplicar, no son inyectables a través de una cánula de tamaño razonable y, así, por lo tanto, requieren un enfoque quirúrgico para su aplicación.

30 A raíz del documento de patente estadounidense US 2103 / 224 277, de AMEED, se da a conocer un procedimiento para preparar una matriz de polisacárido, porosa, pero, no obstante, ésta carece de una etapa de fragmentación.

35 En el documento de patente internacional WO 2014 / 169 266, de UNIV COLUMBIA, se da a conocer un composición que forma una matriz, de utilidad para fomentar cartilago calcificado y la formación ósea, la cual, no obstante, carece de una segunda etapa.

40 En un artículo científico de GRY HULSART – BILLSTROM: "Morphological difference in BMP-2-induced ectopic bone between solid and crushed hyaluronan templates"-, "Diferencia morfológica en huesos ectópicos inducidos por BMP-2, entre moldes de hialurano sólidos y aplastados", el cual se publicó en J. Mate Med (2013) 24: 1201 - 1029, se estudió la posibilidad de afectar la formación ósea mediante la utilización de hidrogeles aplastados versus sólidos, como portadores o soportes para la proteína morfogenética ósea 2.

45 En el documento de patente estadounidense US 2006 / 257492, de WEN, se da a conocer una suspensión de partículas de fosfato cálcico, para el suministro local de agentes terapéuticos, no encontrándose embebidas, las partículas de fosfato cálcico, en un material de hidrogel.

Así, por lo tanto, existe una necesidad en cuanto al hecho de poder disponer de una composición mejorada para la regeneración ósea.

50 Es un objeto de la invención, el proporcionar una composición para la regeneración ósea que a cual sea inyectable con aguja, in situ, formando así, e este modo, una matriz osteoconductora para su uso en aplicaciones no traumáticas mínimamente invasivas.

55 La invención, resuelve el problema planteado, mediante una composición para la regeneración ósea, las cual comprende las características de la reivindicación 1, y con un procedimiento para producir porciones o fragmentos de hidrogel reticulados, el cual comprende las características de la reivindicación 11.

60 La composición en concordancia con la invención comprende una matriz de hidrogel y partículas minerales y ésta puede contener, de una forma adicional, uno o más agentes activos tales como los consistentes en fármacos o iones metálicos. La característica especial del material, es su estructura bifásica: la primera fase, contiene fragmentos o porciones de hidrogel reticulados, estables en volumen, con partículas minerales incorporadas (de una forma preferible hidroxiapatita u otro fosfato de calcio). El contenido de minerales, en esta fase reticulada, es inferior a un porcentaje del 20 %, para garantizar una excelente inyectabilidad del material. Se ha demostrado, en estudios llevados a cabo en ratas, el hecho de que, esta baja cantidad de mineral, es suficiente como para desencadenar una aposición de los minerales propios del cuerpo y, así, por lo tanto, ello conduce a una formación in situ de gránulos osteoconductores mineralizados, los cuales sirven de matriz para la formación de hueso nuevo.

Unas cantidades mayores (> 20 %) de partículas de fosfato cálcico, han tenido como resultado una reducida inyectabilidad de la composición y un deficiente proceso de reticulación.

El componente de gel, tiene la función de retener las partículas y mantener el volumen del material hasta que se haya producido la mineralización del gel y que el biomaterial se haya reemplazado por hueso nuevo. Esta primera fase puede contener agentes activos que pueden unirse a las partículas o simplemente integrarse en el hidrogel. La segunda fase, comprende o consiste en una fase líquida o del tipo hidrogel que se integra en la primera fase. Éste comprende, de una forma preferible, fármacos o moléculas bioactivas, preferentemente, para propósitos antibacterianos, anabólicos o anticatabólicos óseos, osteogénicos y / o osteoconductores, bien ya sea libres o bien ya sea combinados con partículas de fosfato de calcio. Su función, es la de asegurar una liberación rápida de las sustancias incorporadas, hacer que la composición sea inyectable, y asegurar una arquitectura tridimensional útil para promover la formación de hueso nuevo a través de los espacios vacíos entre los fragmentos o porciones de hidrogel reticulados mineralizantes.

La principal ventaja de esta composición, en comparación con los materiales de última generación, es su excelente capacidad de inyección, la cual viene causada, principalmente, por el bajo contenido de minerales. Esta propiedad es también la razón de la idoneidad especial de la composición para una aplicación mínimamente invasiva, a defectos óseos de difícil acceso y a regiones óseas para las cuales la aplicación de materiales de última generación requiere un enfoque quirúrgico.

Los sustitutos óseos actualmente conocidos con componentes de hidrogel comprenden, típicamente, únicamente cadenas de polímeros no reticulados que mejoran la inyectabilidad de los materiales. No obstante, los hidrogeles naturales no reticulados se degradan en el cuerpo humano en cuestión de días y no son estables en volumen. Así, por lo tanto, sólo se pueden agregar concentraciones muy bajas de hidrogel no reticulado, al componente mineral lentamente degradable ya que de lo contrario no se puede alcanzar un relleno de defecto duradero. También se han hecho intentos para combinar un componente mineral con hidrogeles ya reticulados previamente (por ejemplo, rellenos dérmicos comercialmente disponibles). Sin embargo, la presencia de porciones o fragmentos de hidrogel exentos de minerales, en el peor de los casos, en combinación con inhibidores de la hialuronidasa que ralentizan la degradación, conduce a la creación de huecos muertos en el hueso ya que el tejido óseo no puede ingresar al denso hidrogel reticulado. La composición en concordancia con la invención supera esta limitación, al usar sólo partículas que contienen hidrogel reticulado que se mineraliza mediante la aposición de minerales propios del cuerpo en una tasa que es similar a la velocidad de degradación del hidrogel. De una forma adicional, el componente de hidrogel fácilmente inyectable, se transforma así, de este modo, en una matriz ósea osteroconducciona excelente, vía un proceso in vivo excelente, sin pérdida de volumen.

De una forma adicional, la naturaleza bifásica de la composición, permite la integración de agentes activos con perfiles de liberación personalizados. Dependiendo de la ubicación de la sustancia activa (primera fase reticulada versus segunda fase no reticulada, moléculas libres versus a moléculas cargadas en partículas transportadoras), puede pretenderse un objetivo de liberación inmediata o de liberación prolongada.

Otras formas preferidas de presentación, pueden comentarse como sigue:

En una forma especial de presentación, las partículas minerales tienen un diámetro medio de menos de 5 µm, de una forma preferible de menos de 1 µm.

En una forma adicional de presentación, las partículas minerales, pueden cargarse, en su superficie, con una o más de las siguientes sustancias: fármacos o moléculas bioactivas, de una forma preferible, elegidas de entre

- a) el grupo de sustancias activas óseas anabólicas o anticatabólicas, de una forma particular: ranelato de estroncio, factores de crecimiento, anticuerpos anti-esclerostina, bifosfonatos, receptores de estrógenos selectivos o inhibidores del ligando RANK; o
- b) el grupo de sustancias antibacterianas, de una forma particular, antibióticos, compuestos liberadores de halógeno, peróxidos, biguanidas, clorhexidina ó
- c) metales, de una forma particular, compuestos de plata, de zinc o de cobre.

La ventaja de esta forma de presentación radica en el hecho de que los fármacos, especialmente cuando están unidos a las partículas minerales relativamente grandes, se liberan lentamente durante mucho tiempo debido al hecho de que éstas están encerrados en los fragmentos o porciones de hidrogel mineralizado reticulados.

Las partículas de minerales, pueden ser cualquier fosfato de calcio, de una forma preferible elegido de entre el grupo de:

pirofosfato de calcio  $[Ca_2 P_2 O_7]$ , carbonato de calcio  $[CaCO_3]$ , fosfato monocálcico monohidratado  $[Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O]$ , fosfato monocálcico  $[Ca(H_2PO_4)_2]$ , fosfato dicálcico anhidro  $[CaHPO_4]$ , fosfato dicálcico dihidratado  $[CaHPO_4 \cdot 2H_2O]$ , fosfato octocálcico  $[Ca_8H_2(PO_4)_5 \cdot 5H_2O]$ , alfa-fosfato tricálcico  $[\alpha-Ca_3(PO_4)_2]$ , beta-fosfato tricálcico  $[\beta-Ca_3(PO_4)_2]$ , hidroxiapatita  $[Ca_5(PO_4)_3OH]$ , fosfato tetracálcico  $[Ca_4(PO_4)_2O]$ , hidroxiapatita

deficiente en calcio  $[Ca_{10-x}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}(OH)_{2-x}]$ , fluoroapatita  $[Ca_5(PO_4)_3F]$ , fosfato de calcio amorfo oxiapatita  $[Ca_{10}(PO_4)O]$  o vidrios de sílice bioactivos que contienen Ca y P.

De una forma preferible, las partículas minerales, se encuentran esencialmente exentas de poros.

Las porciones o fragmentos de hidrogel reticulados, tienen un diámetro medios de menos de 1000  $\mu m$ . En una forma adicional de presentación, los fragmentos o porciones de hidrogel reticulados tienen un diámetro medio comprendido dentro de un rango de 100 - 250  $\mu m$ . El volumen máximo de los fragmentos o porciones de hidrogel reticulados, se encuentra comprendido, de una forma preferible, dentro de un rango que va de  $4 \cdot 10^{-9}$  a 4  $mm^3$ .

El hidrogel utilizado para obtener los fragmentos o porciones reticulados, comprende, de una forma específica, un material polimérico, de una forma preferible, elegido de entre el ácido hialurónico y derivados de los mismos, heparina, sulfato de heparán, sulfato de condroitina, sulfato de dermatán, sulfato de queratina, quitina, quitosano, agarosa o agar, colágeno, gelatina, elastina o fibrina.

El contenido de las partículas minerales, se encuentra comprendido, de una forma específica, dentro de un rango del 1 - 10 %, en peso, de una forma preferible del 2 - 5 %, en peso, de la primera fase.

Las partículas minerales, pueden tener un volumen mayor de  $1,0 \cdot 10^7 \mu m^3$ , de una forma preferible, mayor de  $2,0 \cdot 10^6 \mu m^3$ . Las partículas minerales (2) pueden tener un volumen menor de  $50 \cdot 10^3 \mu m^3$ , de una forma preferible menor de  $5 \cdot 10^3 \mu m^3$ .

En una forma especial de presentación, las partículas minerales tienen forma de agujas. Las agujas pueden tener una longitud comprendida dentro de un rango de 10 - 200 nm, de una forma preferible, dentro de un rango de 40 - 60 nm.

En otra forma adicional de presentación, el volumen de las partículas minerales, se encuentra dentro de un rango de  $2,0 \cdot 10^{-7}$  -  $5,0 \cdot 10^3 \mu m^3$ .

En una forma adicional de presentación, la primera fase, tiene un contenido de agua de 75 a 99 % en peso. Todavía en una forma de presentación adicional, la segunda fase, comprende adicionalmente partículas de fosfato de calcio de un tamaño correspondiente al rango comprendido dentro de unos márgenes que van de los nanómetros a los micrómeros. Las partículas de fosfato de calcio de tamaño nano a micro se pueden elegir de entre el grupo de:

pirofosfato de calcio  $[Ca_2P_2O_7]$ , carbonato de calcio  $[CaCO_3]$ , fosfato monocálcico monohidratado  $[Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O]$ , fosfato monocálcico  $[Ca(H_2PO_4)_2]$ , fosfato dicálcico anhidro  $[CaHPO_4]$ , fosfato dicálcico dihidratado  $[CaHPO_4 \cdot 2H_2O]$ , fosfato octocálcico  $[Ca_8H_2(PO_4)_6 \cdot 5H_2O]$ , alfa-fosfato tricálcico  $[\alpha-Ca_3(PO_4)_2]$ , beta-fosfato tricálcico  $[\beta-Ca_3(PO_4)_2]$ , hidroxiapatita  $[Ca_5(PO_4)_3OH]$ , fosfato tetracálcico  $[Ca_4(PO_4)_2O]$ , hidroxiapatita deficiente en calcio  $[Ca_{10-x}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}(OH)_{2-x}]$ , fluoroapatita  $[Ca_5(PO_4)_3F]$ , fosfato de calcio amorfo u oxiapatita  $[Ca_{10}(PO_4)O]$ .

La cantidad de partículas de fosfato de calcio de un tamaño correspondiente a la escala de nanómetros a micrómetros, en la segunda fase, puede encontrarse dentro de un rango del 1 - 40 %, en peso, de una forma preferible dentro de un rango del 10 - 20 %, en peso.

Las partículas de fosfato de calcio de tamaño correspondiente a la escala de nanómetros a micrómetros, pueden cargarse, en su superficie, con una o más de las siguientes sustancias:

a) fármacos o moléculas bioactivas, de una forma preferible, elegidas de entre el grupo de: principios activos óseos anabólicos o anticatabólicos, de una forma particular ranelato de estroncio, factores de crecimiento, anticuerpos antiesclerostina, bifosfonatos, receptores de estrógenos selectivos o inhibidores del ligando RANK; o

b) sustancias antibacterianas, de una forma particular antibióticos, compuestos liberadores de halógeno, peróxidos, biguanidas, clorhexidina; o

c) metales, de una forma particular, los compuestos de plata, zinc o cobre.

La ventaja de esta forma de presentación, radica en el hecho de que, los fármacos, se liberan de una forma relativamente rápida, en poco tiempo, debido al hecho de que éstos se encuentran en el líquido acuoso fisiológicamente compatible y bien accesible, el cual actúa como vehículo para los fragmentos o porciones. Dichas sustancias también pueden integrarse independientemente de las partículas de fosfato de calcio, ya que, no todas las sustancias, pueden cargarse en las partículas.

El factor de relación de la primera fase con respecto a la segunda fase, en términos de volumen, puede encontrarse comprendido dentro de un rango que va de 3 : 1 a 19 : 1, de una forma preferible, dentro de un rango que va de 4 : 1 a 10 : 1.

En una forma especial de presentación, la composición en concordancia con la invención, se encuentra esencialmente exenta de un inhibidor de hialuronidasa y, de una forma particular, esencialmente exenta de 6-

hexadecanoato del ácido ascórbico. En una forma adicional de presentación, la composición, se encuentra exenta de una tercera fase con hidrogel reticulado que no tenga partículas minerales. En una forma adicional de presentación, la composición, se encuentra esencialmente exenta de anestésicos.

5 Un procedimiento para producir los fragmentos o porciones de hidrogel reticulados, utilizados en la composición en concordancia con la invención, comprende las siguientes etapas:

10 a) Seleccionar un hidrogel que comprenda un material polimérico, de una forma preferible elegido de entre el grupo de ácido hialurónico y derivados del mismo, heparina, sulfato heparán, sulfato de condroitina, sulfato de dermatán, sulfato de queratina, quitina, quitosano, agarosa o agar, colágeno, gelatina, elastina o fibrina.

b) Mezclar las partículas minerales al hidrogel seleccionado para distribuir las de una forma uniforme, en el interior del hidrogel;

c) Reticular la mezcla obtenida en la etapa b) mediante la acción de un agente de reticulación, y

15 d) Fragmentación de la mezcla reticulada del paso c), para obtener porciones o fragmentos con un volumen máximo de 4 mm<sup>3</sup>.

Los derivados del ácido hialurónico, pueden elegirse de entre el grupo de HA-amina, HA-hidrazida, HA-disulfuro, HA-tiramina, ácido hialurónico metacrilado o esterificado.

20 La composición en concordancia con la invención, tiene la capacidad de poder usarse para reparar defectos óseos y aumentar estructuras óseas frágiles, de una forma particular en el sector ortopédico o traumatológico. La composición, se puede usar, de una forma adicional, en odontología, para el tratamiento de la periodontitis y defectos óseos relacionados con periimplantitis o para el aumento óseo, de una forma particular la elevación de seno. La composición también, es apta para el tratamiento de defectos óseos periodontales o periimplantarios.

25 Un procedimiento para la aplicación mínimamente invasiva de la composición en concordancia con la invención a defectos óseos periodontales o periimplantarios superficiales puede comprender las siguientes etapas:

30 a) Raspado y alisado radicular de la raíz del diente / implante afectado, para eliminar todos los tejidos infectados y la placa / biopelícula en la superficie del diente / implante

b) Aplicación de la composición utilizada en una de las reivindicaciones 1 a 23, mediante inyección subgingival de la jeringa directamente en el defecto óseo.

35 La limpieza realizada durante la etapa a) puede realizarse mecánicamente, de una forma particular por cureta, o por medio de luz, de una forma preferible con láser, ultrasonido o con chorro de agua o aire.

Otro procedimiento para la aplicación mínimamente invasiva de la composición en concordancia con la invención, para la elevación del seno, mínimamente invasiva puede comprender las siguientes etapas:

40 a) Obtener acceso al sitio a tratar mediante la creación de un colgajo gingival;

b) Creación de una pequeña abertura a la cavidad sinusal mediante taladrado o perforación

c) Elevación de la membrana Schneideriana, de una forma preferible con un globo; y

45 d) Relleno del vacío creado mediante una inyección de la composición en concordancia con la invención, a través de la abertura creada en la etapa b).

Un procedimiento adicional para la aplicación mínimamente invasiva de la composición en concordancia con la invención, para el aumento o incremento óseo en ortopedia, de una forma particular para el tratamiento del cuello femoral o las vértebras, puede comprender las siguientes etapas:

50 a) Obtener acceso al hueso objetivado como diana, a través de una incisión muy pequeña de tejido blando o una cánula o trócar de tamaño específico apropiado.

b) Creación de una abertura de menos de 1 mm en la corteza del hueso mediante taladrado o perforación;

c) Aplicación de la composición en concordancia con la invención mediante una inyección de una jeringa en el hueso trabecular; y

55 d) Cierre de los tejidos blandos.

#### **Descripción detallada de la primera fase.**

60 El hidrogel de la primera fase puede elaborarse a base de cualquier material polimérico biocompatible y degradable adecuado que pueda reticularse para lograr una estructura de gel densa. El hidrogel, comprende o consiste, de una forma preferible, en material polimérico natural (es decir, polímeros no sintéticos, polímeros los cuales se pueden encontrar en la naturaleza) y / o polímeros derivados de ECM tales como gelatina, elastina, colágeno, agar / agarosa, quitosano o fibrina. También pueden comprender por lo menos un glicosaminoglicano o por lo menos un proteoglicano, o una mezcla de los mismos. El glicosaminoglicano puede ser, por ejemplo, un ácido hialurónico, sulfato de condroitina, sulfato de dermatán, sulfato, queratán o combinaciones de los mismos. Los polímeros naturales y derivados de ECM, son biomateriales de primera elección, debido a sus similitudes biológicas y químicas

con los tejidos naturales.

La forma preferida de presentación en concordancia con la invención, para el hidrogel de primera fase, reticulado, es el ácido hialurónico o derivados del mismo. En entornos experimentales, se ha utilizado una solución acuosa de ácido hialurónico con un peso molecular de 2 millones de Dalton, con una concentración que abarca del 1 al 2 % p / v, pero se pueden prever concentraciones que abarcan del 0,1 al 5 % p / v. No se prefiere ningún procedimiento en particular para obtener el ácido hialurónico reticulado; se puede usar cualquier tipo de composición de ácido hialurónico no reticulado conocida, siempre que permita la incorporación de micro / nanopartículas en el gel reticulado, antes de la polimerización.

En entornos experimentales, se usó BDDE (diglicidil éter de 1,4-butanodiol) como agente de reticulación, con una concentración de 0,00273 v / v (27,3 µl en 10 ml de gel final).

Después de la reticulación, se procedió a extruir la primera fase reticulada, a través de un filtro de un tamaño de malla de 160 µm, para obtener porciones o fragmentos de este tamaño, con un tamaño uniforme. El tamaño de la porción o fragmento, se elige en función del tamaño de la aguja / cánula utilizada para la inyección del material final y la estructura de la región ósea que se pretende como objetivo; este tamaño, puede variar, de una forma preferible, de 50 a 500 µm.

El hidrogel de la primera fase, actúa básicamente como un elemento de volumen, con objeto de rellenar el volumen de un defecto óseo, tales como los defectos periodontales / periimplantarios. De una forma adicional, éste retiene las partículas minerales que actúan como "puntos de nucleación" que inducen una mineralización de la fase en sí misma. Los gránulos mineralizados en formación, actúan como estructuras osteoconductoras de formación in situ, que guían y apoyan y soportan la formación de hueso nuevo.

La primera fase, puede contener, de una forma adicional, sustancias bioactivas las cuales se liberarían mientras continúe la mineralización de la primera fase, lo cual será, en cualquier caso, un proceso lento, en comparación con lo que se describirá más adelante, para la liberación del fármaco de la segunda fase, no reticulado.

El hidrogel de la primera fase, comprende partículas de fosfato de calcio que tienen la función principal de inducir la mineralización de la primera fase. En la forma preferida de presentación, se eligen partículas de hidroxiapatita, ya que se ha demostrado que éstas inducen eficientemente la mineralización. El tamaño de las partículas puede variar dentro de un rango de aprox. 50 nm a aprox. 5 µm. Los resultados experimentales, han mostrado que se pueden obtener mejores resultados con partículas de tamaño nanométrico ya que éstas tienen una mayor actividad de mineralización y, así, por lo tanto, parecen vincular un tamaño de partícula pequeño con un mejor rendimiento productivo de mineralización. Las partículas, pueden tener una forma substancialmente redonda, pero también se han utilizado partículas con forma de aguja de 50 nm, que muestran excelentes resultados. En una forma de presentación, también se han usado partículas redondas de 200 nm o partículas redondas de 5 µm. En dos formas particulares de presentación, las partículas de hidroxiapatita, se han usado partículas de hidroxiapatita < 50 nm, con un área de superficie BET ≥ 80 m<sup>2</sup> / g, ó partículas de hidroxiapatita de 5 ± 1 µm, con un área de superficie BET > 100 m<sup>2</sup> / g. Cuando se usa un microscopio de barrido electrónico (SEM) para la visualización, las partículas, se ven substancialmente lisas en su superficie y éstas no presentan una porosidad significativa en su núcleo.

La concentración de las partículas de fosfato de calcio, se encuentra comprendida, de una forma preferible, entre un 1 y un 20 % p / v del gel de la primera fase, de una forma preferible entre un 1 y un 5 %. No se contemplan concentraciones más altas debido a las dificultades resultantes en la inyectabilidad del gel final y la reticulación. Tal como se muestra en una configuración experimental, una concentración del 1 al 2 %, es suficiente como para desencadenar eficientemente un buen proceso de mineralización.

Las partículas, se añaden al hidrogel de la primera fase, antes del proceso de reticulación, y se distribuyen uniformemente en ellas, para inducir un proceso de mineralización homogéneo.

Se procedido al estudio, con histomorfometría dinámica basada en micro CT, en un entorno in vivo, de la tasa de mineralización de la primera fase, que comprende un hidrogel de ácido hialurónico reticulado, tal como se describe, que incorpora una baja concentración de micro / nanopartículas de hidroxiapatita (10 % p / v del hidrogel de primera fase final), cargado o no con los bisfosfonatos (en una forma de presentación, zoledronato). Los resultados del material combinado, mostraron una tasa de mineralización duplicada o triplicada de 3 a 10 días, después de la aplicación en los cóndilos femorales de las ratas, cuando se compara con un hidrogel de ácido hialurónico reticulado sin hidroxiapatita. Este parámetro se basa en la comparación de dos exploraciones de micro CT consecutivas obtenidas 3 ó 10 días después de la implantación del hidrogel. La tasa de mineralización, se proporciona en % / día, y ésta se calcula con el factor de relación de nueva matriz mineralizada creada y matriz mineralizada previamente presente.

**Descripción detallada de la segunda fase:**

La segunda fase, comprende un líquido fisiológicamente compatible como el agua, soluciones tampón tales como

PBS o incluso un material de hidrogel no reticulado tal como el ácido hialurónico no reticulado. La segunda fase, incorpora la primera fase y, en ciertos aspectos, funciona como un soporte para ella. Cuando se usa un hidrogel de ácido hialurónico, la concentración del mismo, se encontraría, de una forma preferible en el mismo rango que para la primera fase del hidrogel de ácido hialurónico (que abarca de un 0,1 a un 5 %, p / v), y de una forma preferible, se utilizaría un ácido hialurónico de bajo peso molecular (de menos de 1 millones de Dalton), debido a su mejor efecto antiinflamatorio in vivo.

De una forma adicional, la segunda fase, puede comprender sustancias bioactivas dentro de ella, tales como agentes antibacterianos / antibióticos, analgésicos, citocinas, factores de crecimiento, proteínas, péptidos, fármacos de molécula pequeña, como por ejemplo un agente osteoinductivo, un agente osteoconductor, un agente antirresortivo o cualquier combinación de los mismos. Dependiendo del tamaño de las sustancias bioactivas, éstas pueden difundirse libremente de la segunda a la primera fase y viceversa, o pueden encontrarse confinadas en la segunda fase: así, por lo tanto, el tamaño del compuesto bioactivo y / u otros parámetros fisicoquímicos de las fases (tal como, por ejemplo, la concentración) influyen en la liberación de las sustancias activas una vez que el material se implanta / inyecta en el cuerpo de un sujeto. Así, por ejemplo, los iones de plata libres utilizados como agente antibacteriano, se liberarán de una forma más rápida que las partículas de plata más grandes. La plata, es una de las sustancias bioactivas y antibacterianas más preferidas para incorporarse en la segunda fase, particularmente para aplicaciones dentales, en donde, un proceso infeccioso es a menudo una causa de pérdida ósea. La plata se aplica en forma de partículas, de iones libres o de iones cargados, sobre la superficie de las partículas de fosfato de calcio, como se ha descrito anteriormente, arriba.

En una forma preferida de presentación, la segunda fase, comprende partículas de fosfato de calcio, tal como se ha descrito anteriormente, arriba, cargadas, de una forma posible, con cualesquiera de las sustancias bioactivas mencionadas anteriormente. En una forma preferida de presentación, dichas partículas, se cargan con bifosfonatos y / o iones de plata. Este tipo de combinaciones mejoraría el proceso de formación de hueso mientras evita posibles procesos infecciosos; Esta combinación, es particularmente interesante para defectos óseos dentales. El proceso de carga, puede consistir en disolver la sustancia activa en un disolvente adecuado, tal como el agua y, subsiguientemente, añadir las micropartículas o mezclar la solución de sustancia activa obtenida, con una dispersión de nanopartículas. El producto final, será una micro / nanopartícula recubierta en su superficie con la sustancia bioactiva.

Al ser una fase fluida y fluida, la segunda fase, facilita la inyección del hidrogel final y deja al mismo tiempo espacio entre los fragmentos reticulados para la neovascularización y la formación de hueso nuevo.

El factor de relación de la primera fase, con respecto a la segunda fase, en términos de volumen es, de una forma preferible de 4 : 1, pero éste puede subir hasta 19 : 1 para permanecer inyectable.

### Aplicaciones

La composición descrita, en concordancia con la invención, se almacena, de una forma preferible, en una jeringa, y ésta se aplica mediante ésta. La consistencia suave y la capacidad de inyección única del material, lo convierten en especialmente adecuado para defectos óseos de forma irregular, que no soportan cargas, confinados y de difícil acceso. Ese tipo de defectos, se pueden encontrar en la medicina ortopédica, traumatológica, estética y dental.

En odontología, debido a su inyectabilidad mucho más favorable (pasa fácilmente las agujas 25G) en comparación con los sustitutos óseos utilizados actualmente, el material, se puede aplicar a defectos periodontales y periimplantarios con una técnica invasiva mínima sin colgajo. Los defectos óseos que rodean los dientes naturales o los implantes dentales, en pacientes afectados por periodontitis o periimplantitis, pueden llenarse con una simple inyección subgingival del material, después de una limpieza y desinfección adecuadas del sitio, tal como se muestra en la figura 5.

Otra posible aplicación para el nuevo biomaterial, es una elevación de seno, mínimamente invasiva, para la cual se inyecta un sustituto óseo en un vacío, en el seno creado por una elevación de la membrana de Schneider, por ejemplo, con un globo como se muestra en la figura 6. De nuevo, debido a la excelente inyectabilidad del nuevo material bifásico, sólo es necesario un acceso atraumático muy pequeño para la aplicación del material. Un beneficio adicional del nuevo material, reside en el hecho de que éste se puede completar con un agente antibacteriano, tal como los iones de plata. Esto lo convierte en perfectamente adecuado para defectos óseos creados por procesos infecciosos, tal como la periimplantitis.

Aparte del tratamiento mínimamente invasivo de defectos óseos más pequeños, la composición en concordancia con la invención, también se puede usar, así mismo, para el tratamiento quirúrgico de defectos más grandes, en combinación con una membrana que se usa para retener el material en su lugar. Este es un procedimiento estándar el cual también se utiliza para la mayoría de los demás sustitutos óseos comercialmente disponibles en el mercado.

La composición en concordancia con la invención, también tiene grandes ventajas en traumatología y ortopedia. Ésta se usa, de una forma preferible, para defectos óseos confinados y de difícil acceso, causados por

traumatismos, quistes, tumores u otros. Al igual que sucede para las aplicaciones dentales, sólo se necesita un acceso mínimamente invasivo, al sitio, para aplicar el material. Otra posible aplicación, es la aplicación profiláctica del material en estructuras óseas frágiles, deterioradas, tal como el cuello femoral o en las vértebras de pacientes osteoporóticos, mediante una simple inyección intraósea. El material también se puede aplicar a orificios óseos pretaladrados, provistos de roscado para tornillos, o a los lechos preparados de otros implantes (por ejemplo, cadera, rodilla, hombro) para un aumento local de la estructura ósea. Esta aplicación, se ha sometido a tests de ensayo, en combinación con un bisfosfonato, en un modelo de rata osteoporótica, con resultados favorables. Un agente aintegrado antimicrobiano, reduce, de una forma adicional, el riesgo de infecciones de los implantes peligrosas.

Aparte de la forma inyectable de la composición en concordancia con la invención, también es posible una segunda forma liofilizada y esponjosa del material. El ácido hialurónico liofilizado, absorbe fácilmente los fluidos corporales que conducen a una formación in situ del hidrogel. La forma esponjosa, puede ser favorable para una aplicación a defectos óseos abiertos más grandes, en el ámbito de una intervención quirúrgica abierta.

### DESCRIPCIÓN RESUMIDA DE LOS DIBUJOS

A continuación, se describirá una forma especial de presentación de la invención, a modo de ejemplo y con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

La figura 1, ilustra, de una forma esquemática, una forma especial de presentación de la composición en concordancia con la invención, inmediatamente después de la inyección en un área ósea defectuosa;

La figura 2, ilustra, de una forma esquemática, la composición de la figura 1, después de que haya transcurrido un primer período de tiempo tras la inyección en un área ósea defectuosa.

La figura 3, ilustra, de una forma esquemática, la composición de la figura 2 después de algún transcurso de tiempo adicional.

La figura 4 ilustra de una forma esquemática la composición de la figura 3, después de un transcurso de tiempo adicional.

La Fig. 5, ilustra una aplicación de la composición en concordancia con la invención, para el tratamiento mínimamente invasivo de la periimplantitis; y

La figura 6, ilustra una aplicación de la composición en concordancia con la invención, para el tratamiento mínimamente invasivo de la elevación del seno.

### Descripción detallada de la invención

La composición en concordancia con la invención, mostrada en la figura 1 consiste en una primera fase 3, la cual comprende una pluralidad de porciones o fragmentos de hidrogel reticulados 1 con partículas minerales 2 incorporadas en la misma. Estas porciones o fragmentos de hidrogel reticulados 1, se incorporan en una segunda fase 4, la cual comprende un líquido acuoso fisiológicamente compatible que actúa como portador o soporte para los fragmentos o porciones 1. De una forma preferible, la segunda fase, es un hidrogel fisiológico líquido o no reticulado con partículas minerales 5, las cuales pueden cargarse en su superficie, con un fármaco 6. La segunda fase 4, también puede comprender fármacos libres 8. Las moléculas de fármacos libres 8, se liberarán de una forma bastante rápida, las sustancias de fármacos unidas a partículas, en las partículas minerales 5, en la segunda fase, se liberarán de una forma algo más lenta, y las sustancias unidas a las partículas de minerales, 2, en la primera fase, tendrán la más lenta liberación.

En la Fig. 2, se muestra lo que ha acontecido después de que haya transcurrido un tiempo, desde la inyección de la composición, en un defecto óseo. Las partículas minerales 5 y los fármacos libres 8, si éstos están en la segunda fase 4, se liberan de dicha segunda fase 4. Dado que la segunda fase 4, no está reticulada, la liberación de sus partículas minerales 5 y especialmente de los fármacos libres 8, acontece de una forma bastante rápida y, así, por consiguiente, el fármaco 6, cargado en la superficie de las partículas minerales 5, también se libera de una forma bastante rápida.

De una forma simultánea, hay una deposición continua de minerales, desde el cuerpo hacia las porciones o fragmentos reticulados 1, mientras que, el hidrogel de los fragmentos o porciones, se degrada.

En la figura 3, se muestra de qué forma, después de un transcurso de tiempo adicional, se forman gránulos de minerales 2 a partir de los fragmentos o porciones 1 y el crecimiento óseo, se conduce mediante estos gránulos de minerales osteoconductores 2.

En la Fig. 4, se muestra de qué forma, después de un transcurso de tiempo adicional, los gránulos de minerales 2,

formados a partir de los fragmentos o porciones 1 se incorporan al hueso 7 recién formado.

En la Fig. 5, se ilustra una aplicación de la composición en concordancia con la invención, para el tratamiento mínimamente invasivo de la periimplantitis, mediante la inyección subgingival, desde una jeringa, directamente en el defecto óseo.

En la figura 6, se ilustra una aplicación de la composición en concordancia con la invención, para un tratamiento mínimamente invasivo de elevación del seno, mediante la creación de un colgajo gingival y una pequeña abertura a la cavidad sinusal, mediante taladrado o perforación, la subsiguiente elevación de la membrana de Schneider, y el llenado del vacío creado vía una inyección subgingival de la composición en concordancia con la invención, a través de la abertura que se ha creado mediante una jeringa, directamente en el defecto óseo.

Los ejemplos que se facilitan a continuación, aclaran adicionalmente la invención, en mayor detalle.

### Ejemplo 1

Preparación de la primera fase: Se procedió a mezclar 400 mg de partículas de hidroxiapatita (de forma redondeada, con un diámetro medio de 5  $\mu\text{m}$ ) con 0,1 ml de NaOH 5 M y 1,873 ml de H<sub>2</sub>O. A continuación, se añadieron 0,200 mg de sal sódica del ácido hialurónico (peso molecular 2MDa) a la suspensión de partículas. La mezcla resultante, se homogeneizó, mediante un agitador. Se añadieron 27,3  $\mu\text{l}$  del reticulante BDDE (diglicidil éter de 1,4-butanodiol) y se homogeneizaron durante 1 hora. La mezcla, se mantuvo, a continuación, a una temperatura de 60 °C durante 3 horas para la reticulación. Posteriormente, la reacción se detuvo colocando el material en el refrigerador a una temperatura 4 °C y, la mezcla se neutralizó mediante la adición de 0,5 ml de HCl 1 M y 7,5 ml de H<sub>2</sub>O. Después de un hinchamiento completo del hidrogel, éste se dializó durante 48 horas, en PBS, para eliminar el reticulante no reaccionado y se trituró hasta un tamaño medio de partícula de 100  $\mu\text{m}$  por extrusión a través de un filtro. El contenido final de agua de la primera fase, era de aprox. un 97 %.

Preparación de la segunda fase: las partículas de hidroxiapatita se cargaron con el bisfosfonato zoledronato. Así, por lo tanto, se preparó una solución madre de Zoledronato acuoso con una concentración de 3 mg / ml. Se mezclaron 200 mg de partículas de hidroxiapatita (de forma redondeada, diámetro medio de 5  $\mu\text{m}$ ) con 0,8 ml de H<sub>2</sub>O y una solución madre de 14  $\mu\text{l}$  de zoledronato.

En una tercera etapa, se procedió a mezclar la primera y segunda fase de la composición, en factor de relación de 10: 1, se introdujeron en una jeringa, y se esterilizaron mediante calor.

La composición resultante podía inyectarse fácilmente, mediante una aguja 25G y conseguir unos resultados favorables in vivo en un modelo de defecto de rata.

### Ejemplo 2

Preparación de la primera fase: se procedió a mezclar 1 g de partículas de fosfato tricálcico (de forma redondeada, de un diámetro medio de 3  $\mu\text{m}$ ) con 0,1 ml de NaOH 5M y 1,873 ml de H<sub>2</sub>O. Se añadieron 200 mg de sal sódica del ácido hialurónico (peso molecular 2MDa) a la suspensión de partículas. La mezcla resultante, se homogeneizó con un agitador. Se añadieron 27,3  $\mu\text{l}$  del reticulante BDDE (diglicidil éter de 1,4-butanodiol) y se homogeneizaron durante 1 hora. La mezcla se mantuvo, a continuación, a una temperatura de 60 °C, durante 3 horas, para la reticulación. Subsiguientemente, la reacción, se detuvo, procediendo a emplazar el material en el refrigerador, a una temperatura de 4 °C y, la mezcla, se neutralizó mediante la adición de 0,5 ml de HCl 1 M y 7,5 ml de H<sub>2</sub>O. Después del completo hinchamiento del hidrogel, éste se dializó durante 48 horas, en PBS, con objeto de eliminar el reticulante no reaccionado y se trituró hasta un tamaño medio de partícula 150  $\mu\text{m}$ , por extrusión, a través de un filtro. El contenido final de agua de la primera fase, era de aprox. un 94 %.

Preparación de la segunda fase: se procedió a cargar las partículas de fosfato tricálcico, con el bisfosfonato zoledronato. A dicho efecto, se preparó una solución madre de Zoledronato acuoso con una concentración de 3 mg / ml. 200 mg de partículas de fosfato tricálcico (de forma redondeada, de un diámetro medio de 3  $\mu\text{m}$ ) se mezclaron con 0,8 ml H<sub>2</sub>O y una solución madre de 4  $\mu\text{l}$  de zoledronato. Se añadieron, a la dispersión, 8 mg de sal sódica del ácido hialurónico no reticulado (peso molecular 50 kDa).

En una tercera etapa, se procedió a mezclar la primera y segunda fase de la composición, en un factor de relación de 4 : 1, éstas se introdujeron en una jeringa y se esterilizaron mediante calor.

La composición resultante, se podía inyectar fácilmente, mediante una aguja 25G.

### Ejemplo 3

Preparación de la primera fase: en concordancia con el ejemplo 1

Preparación de la segunda fase: Se procedió a impregnar partículas de hidroxiapatita (de forma redondeada, diámetro medio de 200 nm) con iones de plata, mediante una inmersión de las partículas en una solución de nitrato de plata de una concentración de  $8 \cdot 10^{-5}$  mol / l. 200 mg de las partículas cargadas, se mezclaron, a continuación, con 0,8 ml de H<sub>2</sub>O. Se añadieron, a la dispersión, 8 mg de la sal no reticulada de ácido hialurónico de sodio (peso molecular 50 kDa).

En una tercera etapa, la primera y segunda fase de la composición, se mezclaron, en una proporción de 6 : 1, éstas se introdujeron en una jeringa y se esterilizaron mediante calor.

La composición resultante, podía inyectarse fácilmente, mediante una aguja 25G.

#### Ejemplo 4

Preparación de la primera fase: Se procedió a mezclar 2 g de partículas de fosfato octocálcico (de forma irregular, diámetro medio de 1  $\mu$ m) con 0,1 ml de NaOH 5 M y 1,873 ml de H<sub>2</sub>O. Se añadieron, a la suspensión de las partículas, 200 mg de sal de sodio del ácido hialurónico (peso molecular 2MDa). La mezcla resultante, se homogeneizó con un agitador. Se añadieron 27,3  $\mu$ l del reticulante BDDE (diglicidil éter de 1,4-butanodiol) y se homogeneizaron durante 1 hora. La mezcla, se mantuvo, a continuación, a una temperatura de 60 °C, durante 3 horas, para la reticulación. Subsiguientemente, la reacción, se detuvo, colocando el material en el refrigerador, a una temperatura de 4 °C y, la mezcla, se neutralizó mediante la adición de 0,5 ml de HCl 1 M y 7,5 ml de H<sub>2</sub>O. Después del hinchamiento completo del hidrogel, éste se dializó durante 48 horas en PBS, para eliminar el reticulante no reaccionado y se trituró hasta un tamaño medio de partícula de 160  $\mu$ m, por extrusión, a través de un filtro. El contenido final de agua de la primera fase, era de aprox. un 89 %.

Preparación de la segunda fase: Se cargaron partículas de fosfato octocálcico con el bisfosfonato ibandronato. A dicho efecto, se preparó una solución madre acuosa de ibandronato con una concentración de 30 mg / ml. 300 mg de partículas de fosfato octocálcico (forma irregular, diámetro medio de 1  $\mu$ m) se mezclaron con 0,8 ml de H<sub>2</sub>O y una solución madre de 4  $\mu$ l de ibandronato. Se añadieron, a la dispersión 50 mg de nanopartículas de plata (forma irregular, diámetro medio de 5 nm).

En una tercera etapa, la primera y segunda fase de la composición se mezclaron con una proporción de 5 : 1, se introdujeron en una jeringa y se esterilizaron mediante calor.

La composición resultante podía inyectarse fácilmente, mediante una aguja 25G.

La composición en concordancia con la invención, es de utilidad para la reparación de defectos óseos o el aumento óseo, de una forma particular, en odontología, ortopedia y traumatología. Gracias a la excelente capacidad de inyección de la composición, es posible una inyección intraósea simple del material en regiones óseas frágiles. El material, también se puede inyectar subgingivalmente para tratar defectos óseos relacionados con periodontitis o periimplantitis (véase la figura 5), o en el seno para un aumento mínimamente invasivo del seno (véase la figura 6).

Si bien la invención se ha descrito conjuntamente junto con formas específicas de presentación de la misma, es evidente que muchas alternativas, modificaciones y variaciones resultarán evidentes, para aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica. Correspondientemente en concordancia, se pretende abarcar todas las alternativas, modificaciones y variaciones las cuales caen dentro del alcance de las reivindicaciones anexas.

Se apreciará el hecho de que ciertas características de la invención, las cuales, a efectos de claridad, se describen en el contexto de formas separadas de presentación, también se pueden proporcionar, en combinación, en una sola forma de presentación. Y a la inversa, diversas características de la invención, las cuales, a efectos de brevedad, se describen en el contexto de una sola forma de presentación, también se pueden proporcionar por separado o en cualquier subcombinación adecuada o de la forma que sea adecuada, en cualquier otra forma de presentación descrita de la invención. Ciertas características descritas en el contexto de diversas formas de presentación, no deben considerarse como siendo características esenciales de dichas formas de presentación, a menos que, la de presentación, sea inoperante sin dichos elementos.

## REIVINDICACIONES

1.- Composición para la regeneración ósea, la cual comprende

- 5 a) una primera fase (3) que comprende una pluralidad de fragmentos de hidrogel reticulados (1) que tienen un diámetro medio de menos de 1000  $\mu\text{m}$  e incorporan una cantidad de partículas de fosfato cálcico (2); y  
 b) una segunda fase (4) que comprende un líquido acuoso fisiológicamente compatible, el cual actúa como portador para los fragmentos; incorporándose, los fragmentos, en la segunda fase (4);

**caracterizada por el hecho de que**

- 10 c) las partículas de fosfato cálcico (2), tienen un diámetro medio de menos de 10  $\mu\text{m}$ ; y  
 d) la cantidad de partículas de fosfato cálcico (2) es inferior a un 20 %, en peso, de la primera fase.  
 e) las porciones de hidrogel reticuladas (1), están compuestas por material polimérico biodegradable, el cual es reticulable a una estructura de gel densa.

15 2.- Composición, según la reivindicación 1, **caracterizada por el hecho de que**, las partículas minerales tienen un diámetro medio inferior a 5  $\mu\text{m}$ .

3.- Composición, según la reivindicación 1 ó 2, **caracterizada por el hecho de que**, las partículas minerales (2) se cargan en su superficie con una o más de las siguientes sustancias:

20 fármacos o moléculas bioactivas, de una forma preferible elegidas de entre

a) el grupo de sustancias activas óseas anabólicas o anticatabólicas, concretamente: ranelato de estroncio, factores de crecimiento, anticuerpos anti-esclerostina, bifosfonatos, receptores de estrógenos selectivos o inhibidores del ligando RANK; o

25 b) el grupo de sustancias antibacterianas, concretamente, antibióticos, compuestos liberadores de halógeno, peróxidos, biguanidas, clorhexidina o

d) metales, concretamente, compuestos de plata, de zinc o de cobre.

4.- Composición según una de las reivindicaciones 1 - 3, caracterizada por el hecho de que, las partículas minerales (2) son fosfatos de calcio, preferentemente elegidos de entre grupo de:

30 pirofosfato de calcio  $[\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7]$ , carbonato de calcio  $[\text{CaCO}_3]$ , fosfato monocálcico monohidratado  $[\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]$ , fosfato monocálcico  $[\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2]$ , fosfato dicálcico anhidro  $[\text{CaHPO}_4]$ , fosfato dicálcico dihidratado  $[\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ , fosfato octocálcico  $[\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_5 \cdot 5\text{H}_2\text{O}]$ , alfa-fosfato tricálcico  $[\text{alpha-Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$ , beta-fosfato tricálcico  $[\text{beta-Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$ , hidroxiapatita  $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}]$ , fosfato tetracálcico  $[\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}]$ , hidroxiapatita deficiente en calcio  $[\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}]$ , fluoroapatita  $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}]$ , fosfato de calcio amorfo oxiapatita  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}]$  o vidrios de sílice bioactivos que contienen Ca y P.

5.- Composición, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 4, caracterizado por el hecho o de que, el hidrogel utilizado para la obtención de fragmentos reticulados (1), comprende un material polimérico, elegido de entre el grupo de heparina, sulfato de heparán, sulfato de condroitina, sulfato de dermatán, sulfato de queratina, quitina, quitosano, agarosa o agar, colágeno, gelatina, elastina, fibrina, o ácido hialurónico y derivados de éste, elegidos de entre el grupo de HA-hidrazida, HA-disulfuro, HA-tiramina, ácido hialurónico metacrilado o esterificado.

6.- Composición según una de las reivindicaciones 1 - 5, **caracterizada por el hecho de que**, la segunda fase (4), comprende, de una forma adicional, partículas de fosfato de calcio (5), de un tamaño nanométrico a micrométrico.

7.- Composición según la reivindicación 6, **caracterizada por el hecho de que**, las partículas de fosfato de calcio de tamaño nanométrico a micrométrico (5), se eligen de entre el grupo de

50 pirofosfato de calcio  $[\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7]$ , carbonato de calcio  $[\text{CaCO}_3]$ , fosfato monocálcico monohidratado  $[\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]$ , fosfato monocálcico  $[\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2]$ , fosfato dicálcico anhidro  $[\text{CaHPO}_4]$ , fosfato dicálcico dihidratado  $[\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ , fosfato octocálcico  $[\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_5 \cdot 5\text{H}_2\text{O}]$ , alfa-fosfato tricálcico  $[\text{alpha-Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$ , beta-fosfato tricálcico  $[\text{beta-Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$ , hidroxiapatita  $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}]$ , fosfato tetracálcico  $[\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}]$ , hidroxiapatita deficiente en calcio  $[\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}]$ , fluoroapatita  $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}]$ , fosfato de calcio amorfo u oxiapatita  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}]$ .

8.- Composición según una de las reivindicaciones 1 - 7, **caracterizada por el hecho de que**, que la cantidad de partículas de fosfato de calcio de tamaño nanométrico a micrométrico (5), en la segunda fase, se encuentra comprendida dentro de un rango del 1 - 40 %, en peso.

9.- Composición según una de las reivindicaciones 6 a 8, **caracterizada por el hecho de que**, las partículas de fosfato de calcio de tamaño nanométrico a micrométrico (5) se cargan, en su superficie, con una o más de las siguientes sustancias (6):

65 a) fármacos o moléculas bioactivas, elegidas de entre el grupo de; sustancias activas óseas anabólicas o anticatabólicas, ranelato de estroncio, factores de crecimiento, anticuerpos anti-esclerostina, bifosfonatos, receptores de estrógenos selectivos o inhibidores del ligando RANK; o

- b) sustancias antibacterianas, antibióticos, compuestos liberadores de halógeno, peróxidos, biguanidas, clorhexidina; o
- c) metales, concretamente, compuestos de plata, de zinc o de cobre.

- 5 10.- Composición según una de las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizada por el hecho de que**, el factor de relación de la primera fase versus la segunda fase, en términos de volumen, se encuentra comprendido dentro de un rango que va de 3 : 1 a 19 : 1.
- 10 11.- Procedimiento para producir los fragmentos de hidrogel reticulados, utilizados en una de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado por las siguientes etapas:
- a) Seleccionar un hidrogel que comprenda un material polimérico biocompatible y degradable, el cual sea reticulable a una estructura de gel densa.
  - 15 b) Mezclar partículas de fosfato de calcio (2), las cuales tengan un diámetro medio de menos de 10 µm, al hidrogel seleccionado, con objeto de distribuir las de una forma uniforme, en el interior del hidrogel;
  - c) Reticular la mezcla obtenida en la etapa b) mediante la acción de un agente de reticulación, y
  - d) Fragmentación de la mezcla reticulada de la etapa c), para obtener fragmentos que tengan un diámetro medio de menos de 1000 µm.
- 20 12.- Procedimiento según la reivindicación 11, caracterizado por el hecho de que, el hidrogel, se elige de entre el grupo de heparina, sulfato de heparán, sulfato de condroitina, sulfato de dermatán, sulfato de queratina, quitina, quitosano, agarosa o agar, colágeno, gelatina, elastina, fibrina, o ácido hialurónico y derivados de éste, elegidos de entre el grupo de HA-hidrazida, HA-disulfuro, HA-tiramina, ácido hialurónico metacrilado o esterificado.
- 25 13.- Procedimiento para producir la composición según una de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado por las siguientes etapas:
- a) seleccionar un hidrogel que comprenda un material polimérico biocompatible y degradable, el cual sea reticulable a una estructura de gel densa, de una forma preferible, seleccionado de entre el grupo de la heparina, sulfato de heparán, sulfato de condroitina, sulfato de dermatán, sulfato de queratina, quitina, quitosano, agarosa o agar, colágeno, gelatina, elastina, fibrina, o ácido hialurónico y derivados de éste, elegidos de entre el grupo de HA-hidrazida, HA-disulfuro, HA-tiramina, ácido hialurónico metacrilado o esterificado.
  - 30 b) Mezclar partículas de fosfato de calcio (2), las cuales tengan un diámetro medio de menos de 10 µm, al hidrogel seleccionado, con objeto de distribuir las de una forma uniforme, en el interior del hidrogel;
  - 35 c) Reticular la mezcla obtenida en la etapa b) mediante la acción de un agente de reticulación, y
  - d) Fragmentación de la mezcla reticulada de la etapa c), para obtener fragmentos que tengan un diámetro medio de menos de 1000 µm;
  - e) Incorporar la pluralidad de fragmentos obtenidos en la etapa d), en un líquido acuoso que actúe como portador para los fragmentos.
- 40 14.- Composición según una de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en la reparación de defectos óseos y aumentar estructuras óseas frágiles.
- 45 15.- Composición según una de las reivindicaciones 1 a 10, para el tratamiento de defectos óseos periodontales o periimplantarios

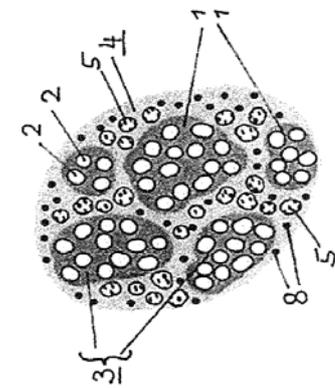


Fig. 1

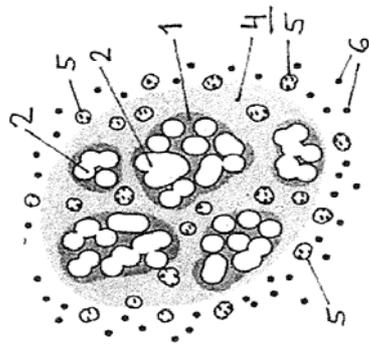


Fig. 2

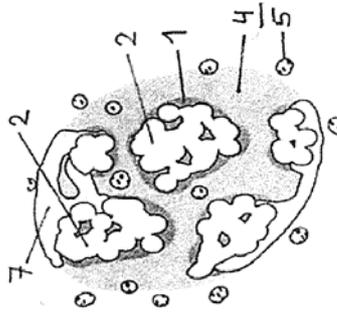


Fig. 3

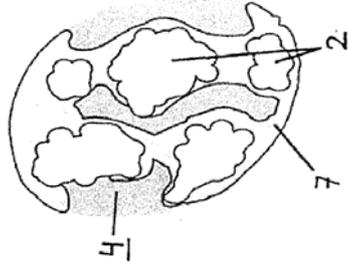


Fig. 4

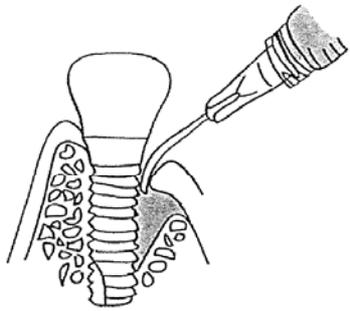


Fig. 5

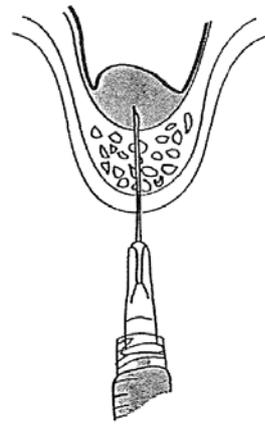


Fig. 6