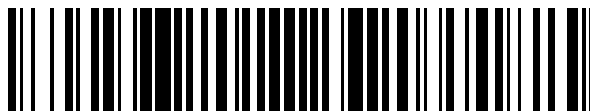


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 553 302**

21 Número de solicitud: 201430644

51 Int. Cl.:

A61L 27/00 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

05.05.2014

43 Fecha de publicación de la solicitud:

07.12.2015

Fecha de la concesión:

07.09.2016

45 Fecha de publicación de la concesión:

14.09.2016

56 Se remite a la solicitud internacional:

PCT/ES2015/070361

73 Titular/es:

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

Jordi Girona 31

08034 Barcelona (Barcelona) ES

72 Inventor/es:

MONTUFAR JIMENEZ, Edgar Benjamin;

MAAZOUZ, Yassine;

PASTORINO, David y

GINEBRA MOLINS, Maria Pau

54 Título: **CEMENTO INORGÁNICO, INYECTABLE Y TERMOSENSIBLE PARA RECONSTRUCCIÓN ÓSEA: PREPARACIÓN Y USO.**

57 Resumen:

Cemento inorgánico, inyectable y termosensible para reconstrucción ósea: preparación y uso.

Cemento inorgánico, inyectable y termosensible para aplicaciones biomédicas: preparación y uso.

Se propone la preparación de un cemento termosensible inyectable con aplicaciones clínicas en cirugía ósea y odontología mínimamente invasiva, basado en mezclas autofraguables de óxido de magnesio, fosfatos de calcio, sodio o amonio, carbonatos de calcio, sulfatos de calcio u otras sales inorgánicas con un hidrogel de poloxámero. Este cemento presenta como propiedad principal un efecto termosensible. Asimismo, presenta una alta cohesión en contacto con fluidos a temperatura fisiológica, acompañada de una disminución de la fuerza necesaria para su inyección con la temperatura.

Se indica la utilización del cemento para aplicaciones óseas y dentales, así como el llenado de defectos óseos. El cemento está especialmente indicado en casos en los que fuera necesario un uso mínimamente invasivo.

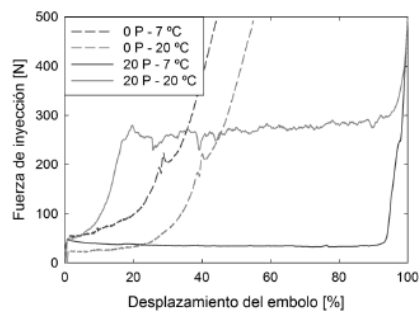


Fig. 1

ES 2 553 302 B1

DESCRIPCIÓN

Cemento inorgánico, inyectable y termosensible para reconstrucción ósea: preparación y uso.

Campo de la Invención

5 La presente invención se refiere a biomateriales para la regeneración de tejidos duros: huesos y dientes. Estos materiales se pueden preparar en forma de gránulos, cementos, recubrimientos, cerámicas densas o porosas, etc. Entre otras aplicaciones se pueden aplicar para rellenar cavidades óseas, defectos craneales o cavidades después de remover un tumor, llenar espacios vacíos después de una fractura múltiple, rellenar huecos después de quitar un diente, aumentar la cantidad de hueso antes de colocar un implante dental, fijar tornillos cuando se colocan placas metálicas, estabilizar fracturas óseas o recubrir prótesis e implantes.

10 Se propone un cemento inorgánico completamente inyectable por lo que es especialmente adecuado para procedimientos médicos y veterinarios de mínima invasión quirúrgica. Sin embargo, también se puede usar en cirugía tradicional. En particular, el cemento presenta propiedades termosensibles, es decir, ciertas propiedades como la cohesión, la fuerza de inyección o el tiempo de fraguado se pueden modular controlando la temperatura de la pasta. Por otro lado, el producto final de la reacción de fraguado, dependiendo de la composición de 15 partida, puede comprender fosfatos de calcio, como hidroxiapatita, hidroxiapatita deficiente en calcio, brushita o monetita, con gran similitud composicional y estructural con la fase mineral de los huesos y dientes, o bien otras sales inorgánicas como fosfatos de magnesio, carbonatos de calcio o sulfatos de calcio con una resistencia mecánica adecuada para aplicaciones óseas y dentales. Asimismo, el cemento puede actuar como soporte para la liberación controlada de fármacos (*Drug Delivery system*) y para el crecimiento celular en ingeniería de tejidos (*Tissue Engineerings scaffolds*). La presente invención se refiere también a procedimientos para la obtención de dichos biomateriales.

25 Esta invención también se refiere a un procedimiento para la preparación del citado cemento y al uso de dicho cemento para aplicaciones óseas y dentales.

Estado de la técnica anterior

30 Desde mediados de los años ochenta, la comunidad científica ha realizado importantes avances en el campo del diseño y la fabricación de nuevos materiales para la sustitución y la regeneración de tejidos biológicos mineralizados. Un tipo de materiales que ha sido ampliamente estudiado son los materiales basados en sales inorgánicas, como fosfatos de calcio o de magnesio, sulfatos de calcio o carbonatos de calcio. De entre las distintas formas en las que se pueden presentar dichos materiales, los cementos merecen especial atención debido a ciertas ventajas intrínsecas como su moldeabilidad y perfecta adaptación a la cavidad 35 ósea, la posibilidad de inyectarlos utilizando técnicas mínimamente invasivas y su capacidad de endurecer una vez implantados dentro del cuerpo. Es de destacar que en el caso de los cementos de fosfato de calcio se puede obtener como producto de la reacción hidroxiapatita, que presenta numerosas similitudes con el componente óseo inorgánico natural, tales como la composición química y el tamaño nanométrico de los cristales.

40 Los recientes desarrollos en cirugía mínimamente invasiva han reducido el riesgo que corre el paciente durante la intervención quirúrgica y el costo hospitalario de la misma. Esta nueva técnica quirúrgica requiere de nuevos materiales de regeneración ósea totalmente inyectables, capaces de endurecer *in situ* y de regenerar el hueso dañado. A pesar de la reconocida capacidad de los cementos inorgánicos para rellenar y/o regenerar satisfactoriamente el hueso dañado, también presentan ciertas limitaciones. En primer lugar, la inyectabilidad de las pastas de cementos inorgánicos es limitada. En segundo lugar, el tiempo de fraguado de los cementos inyectables tiende a ser mayor al de los cementos no inyectables. Finalmente, la tercera limitación es la baja resistencia mecánica de los cementos inyectables.

La inyectabilidad de los cementos inorgánicos se puede mejorar aumentando la relación líquido-polvo de mezclado. Sin embargo, esta alternativa retarda el fraguado del cemento, facilita la desintegración de la pasta al entrar en contacto con un medio líquido y disminuye considerablemente la resistencia mecánica. Otra alternativa es la incorporación de un polímero, por lo general un hidrogel, en la fase líquida del cemento. En este caso la inyectabilidad y la cohesión de las pastas aumentan considerablemente pero también aumenta significativamente la fuerza requerida para inyectar la pasta. Además, la incorporación del hidrogel produce efectos colaterales como el aumento del tiempo de fraguado y la disminución de la resistencia mecánica. Los hidrogeles utilizados para mejorar la inyectabilidad de los cementos inorgánicos de uso biomédico son en su mayoría de origen natural como la celulosa y sus derivados, el quitosano, el colágeno, la gelatina, el alginato de sodio o el ácido hialurónico. Precisamente debido a su origen natural se debe tener especial precaución en evitar posibles rechazos inmunológicos o variaciones en las propiedades entre los diferentes lotes del hidrogel.

Una familia de polímeros de origen sintético, y por tanto sin problemas asociados como el rechazo inmunológico o la variabilidad de sus propiedades, son los poloxámeros. Los poloxámeros son copolímeros de tres bloques compuestos por una parte central hidrofóbica de poli (óxido de propileno) flanqueada por dos partes hidrófilas laterales de poli (óxido de etileno) [1]. En función de la longitud de las tres cadenas existen diferentes tipos de poloxámeros. En general los poloxámeros son considerados surfactantes no iónicos. Al aumentar la concentración en agua, las moléculas de este copolímero se asocian para formar micelas y si la concentración sigue aumentando son capaces de formar hidrogeles. La concentración a la cual se forma el hidrogel depende del tipo de poloxámero y de la temperatura. En general, a bajas temperaturas las soluciones de poloxámeros poseen una baja viscosidad y se comportan como líquidos, mientras que a altas temperaturas su viscosidad aumenta y se comportan como hidrogeles. Los poloxámeros son biocompatibles, no alteran las funciones biológicas de manera significativa y son excretados por vía renal. Por estas razones los poloxámeros se utilizan en gran variedad de aplicaciones biomédicas como sistemas para la liberación controlada de fármacos, excipientes en medicamentos o agentes embolizadores temporales, entre muchas otras [1].

En un ámbito muy distante del desarrollo de cementos inorgánicos de uso biomédico en cirugía mínimamente invasiva, los poloxámeros se han utilizado por sus características reológicas en procesos de impresión tridimensional directa para formar tintas cerámicas para la fabricación por moldeo robotizado aditivo de andamios para ingeniería de tejidos. En particular los poloxámeros se han mezclado con fosfatos de calcio no reactivos como vidrios bioactivos, hidroxiapatita, fosfato tricálcico beta o mezclas de los dos últimos [2]. El hecho de que estas tintas no tienen la capacidad de fraguar como un cemento tiene tres consecuencias importantes. La primera es que el tiempo transcurrido entre el mezclado y la impresión de las tintas no afecta a la fuerza requerida para la extrusión. La segunda es que la consolidación de las estructuras fabricadas se realiza mediante sinterización entre 700 y 1400 °C, lo cual implica que a pesar de que la similitud composicional con la fase mineral de los huesos y dientes se mantiene, la similitud microestructural se pierde, produciendo materiales difíciles de reabsorber *in vivo*. Finalmente, los andamios fabricados son rígidos y poseen formas y tamaños predefinidos, por lo que no pueden ser implantados mediante técnicas quirúrgicas no invasivas.

Debido a su capacidad de gelificar al aumentar la temperatura, su solubilidad en medios acuosos, su biocompatibilidad y la capacidad de ser excretados por vía renal, los hidrogeles de poloxámero se utilizan como agente embolizador temporal en el campo de la medicina cardiovascular [3]. Sin embargo, las propiedades termosensibles de los poloxámeros no se han explotado en cirugía ortopédica u oral, ni mucho menos en formulaciones de cementos inorgánicos de uso biomédico. El uso de poloxámeros en cementos de fosfatos de calcio se limita a su carácter tensoactivo para evitar la agregación del polvo del cemento [4] o para la formación de espumas [5].

Breve explicación de la invención

A diferencia de los trabajos y patentes mencionadas, esta invención presenta un cemento híbrido inorgánico/orgánico de uso biomédico cuyas propiedades como la cohesión, el tiempo de fraguado y la inyectabilidad se pueden modular controlando la temperatura. La pasta se basa en la mezcla de sales inorgánicas autofraguables con agua o soluciones acuosas, con o sin la adición de aditivos que aceleren o retarden el fraguado del cemento, y la incorporación de un poloxámero en la fase líquida o en la fase sólida, para proporcionar el carácter termosensible deseado. Las aplicaciones del cemento son aplicaciones clínicas, óseas o dentales, tanto tradicionales como de cirugía mínimamente invasiva. Dicho cemento presenta varias propiedades intrínsecas que le dotan de especial interés. La primera característica a destacar del material es que, sin importar la temperatura inicial de la pasta, el cemento tiene cohesión cuando es inyectado en un medio cuya temperatura es 37 °C. Esta característica hace posible que el cemento fragüe y endurezca *in situ* sin desintegrarse ni sufrir ninguna erosión. La segunda característica relevante es que las pastas de cemento con poloxámero son totalmente inyectables aplicando fuerzas inferiores a las usadas para inyectar cementos acrílicos, y no presentan separación de fases. El punto más importante a destacar es que la fuerza de inyección disminuye con la disminución de la temperatura de la pasta. La fuerza de inyección alcanza un mínimo y se mantiene constante por debajo de 15 °C. Además, las pastas presentan tiempos de fraguado cortos comparados con otros cementos que incorporan hidrogeles para mejorar la inyectabilidad. El cemento endurece o bien por la formación y entrecruzamiento de cristales de las fases que se producen en la reacción de fraguado, o por la formación de una fase amorfa, que dan lugar a un aumento de la resistencia mecánica.

Todas estas características en su conjunto hacen que el cemento aquí presentado sea idóneo para cirugía mínimamente invasiva donde se requiera regenerar lesiones óseas o dentales, pero también es apto para cirugía tradicional, tanto en medicina como en veterinaria. Modular la fuerza de inyección permite al cirujano inyectar el material con la mayor precisión posible y con el mínimo esfuerzo, mientras que la cohesión de la pasta asegura el éxito del procedimiento quirúrgico logrando que la pasta fragüe en la posición deseada, alcanzando una resistencia mecánica razonable y similar al hueso trabecular. Finalmente, el producto de fraguado del cemento es completamente biocompatible, y en algunos casos específicos puede llegar a ser osteoconductor y reabsorbible, por lo que se garantiza la regeneración del tejido dañado.

La composición del material se ha optimizado con la finalidad de garantizar los aspectos mencionados en el párrafo anterior. La preparación del cemento requiere de un polvo o fase sólida compuesto por una o varias sales inorgánicas y una fase líquida compuesta principalmente por agua o algún solvente biocompatible donde se pueda disolver el poloxámero. La mezcla de ambas fases se puede llevar a cabo manualmente o en un mezclador de alta energía, a una temperatura inferior o igual a la temperatura ambiente. La temperatura de la fase sólida y/o de la fase líquida en el momento de la mezcla puede ser igual o inferior a 25°C, preferiblemente inferior a 12°C. La pasta obtenida se puede implantar directamente en el paciente mediante cirugía tradicional o se puede colocar en una jeringa para ser implantada mediante cirugía mínimamente invasiva. Alternativamente, la pasta se puede colocar en una jeringa o dispositivo similar para su posterior congelación, preferentemente a temperaturas iguales o inferiores a -20°C, para su almacenamiento, y posteriormente se descongela preferentemente a menos de 12°C para su utilización en la aplicación clínica. Una vez implantada la pasta de cemento endurecerá *in situ* debido a su buena cohesión a temperatura fisiológica y producirá un cuerpo rígido con resistencia a la compresión similar a la del hueso trabecular.

Es importante tener en cuenta que para la utilización del cemento *in vivo*, el polvo y el líquido tienen que haber sido esterilizados previamente. Además, se requiere una zona de trabajo

estéril para evitar la contaminación de los reactivos en el momento de preparación e introducción de la pasta.

Explicación detallada de la invención

5 Esta invención presenta un cemento inorgánico termosensible para aplicaciones óseas y/o dentales, tanto en medicina como en veterinaria. El cemento en cuestión posee varias propiedades específicas que le dotan de especial interés. Con la finalidad de potenciar dichas propiedades, se han optimizado las condiciones de preparación del material, tal como se detalla a continuación.

10 En primer lugar el cemento objeto de esta invención posee propiedades termosensibles, que no han sido descritas anteriormente en ninguna otra formulación de cemento de uso biomédico de fosfato de calcio o magnesio, carbonato o sulfato de calcio. En otras palabras, ciertas propiedades de la pasta de cemento como la fuerza de inyección, la cohesión o el tiempo de fraguado, se pueden modular controlando la temperatura de la pasta. Esto se consigue sin comprometer la biocompatibilidad del material mediante el uso de un poloxámero como aditivo en la formulación del cemento.

15 En segundo lugar, incluso con un bajo contenido de líquido en la pasta y a diferencia de otros cementos totalmente inyectables que incorporan hidrogeles en su fase líquida, la fuerza de inyección del cemento presentado en esta invención es relativamente baja (~50 N) y fácil de alcanzar inyectando a mano. Esto se consigue porque la fuerza de inyección disminuye al disminuir la temperatura de la pasta. Esta propiedad permite al cirujano inyectar el material con la mayor precisión posible y con el mínimo esfuerzo. Las temperaturas de trabajo para obtener las fuerzas de inyección más bajas son temperaturas ligeramente inferiores a la temperatura ambiente de un quirófano (preferentemente entre -5 y 18 °C), que se pueden conseguir fácilmente con el uso de sistemas de refrigeración, baños térmicos, neveras u otros dispositivos similares o equivalentes, de fácil acceso en hospitales, clínicas o consultas médicas.

20 En tercer lugar, es importante señalar que la cohesión de las pastas del cemento aquí presentado aumenta con el incremento de la temperatura del medio donde son inyectadas. Es de particular interés que, sin importar la temperatura inicial, las pastas del cemento aquí presentado tienen cohesión justo después de ser mezcladas e inyectadas en un medio a temperatura fisiológica (37 °C). Esto asegura que una vez implantada la pasta de cemento en el cuerpo del paciente, ésta no se desintegrará sino que mantendrá la forma y endurecerá *in vivo*, garantizando el éxito del procedimiento quirúrgico.

25 En cuarto lugar, el tiempo de fraguado del cemento es aceptable para aplicaciones clínicas, dando suficiente margen de tiempo al cirujano para implantar el cemento con una buena inyectabilidad de la pasta, y endurece rápidamente una vez implantado. El endurecimiento del cemento se debe a dos procesos que actúan en paralelo, uno es la reacción de fraguado del cemento y el otro es la gelificación del poloxámero con el aumento de la temperatura debido al calor corporal.

30 En quinto lugar, la incorporación del poloxámero no afecta al producto de la reacción de fraguado del cemento, el cual en el caso de un cemento de fosfato de calcio y dependiendo de la composición específica del cemento puede ser hidroxiapatita deficiente en calcio, hidroxiapatita, brushita, monetita, u otro fosfato de calcio. En particular, estos fosfatos son similares a la fase mineral de los huesos y dientes. Lo que hace a los cementos de fosfatos de calcio biocompatibles, osteoconductivos y reabsorbibles, por tanto poseen un gran potencial para regenerar lesiones en tejidos duros, huesos y dientes, de cualquier vertebrado. Por otro lado, en el caso de otros cementos óseos inorgánicos, el producto de fraguado comprende fosfatos de magnesio, carbonatos de cálcico, sulfatos de calcio o mezclas de ellos. El producto del fraguado puede ser tanto cristalino como amorfo.

En sexto lugar, la resistencia mecánica del cemento fraguado puede llegar a ser superior a la del hueso trabecular. En particular los cementos optimizados tienen resistencias similares a varios cementos óseos inorgánicos disponibles comercialmente (resistencia a la compresión de alrededor de 30 MPa).

- 5 El procedimiento de preparación del cemento objeto de esta patente requiere de un polvo compuesto por una o varias sales inorgánicas capaces de endurecer mediante una reacción de fraguado al entrar en contacto con la fase líquida. La fase líquida se compone preferentemente de agua, poloxámero en solución y puede incorporar o no, según sea necesario, un aditivo para acelerar o retardar la reacción de fraguado. Además de agua también se pueden usar otros líquidos biocompatibles donde el poloxámero sea soluble y el cemento sea capaz de fraguar.
- 10 Dado que la distribución de tamaños de partícula del polvo de cemento es un parámetro que controla la inyectabilidad de las pastas, el control del tamaño de partícula es un factor clave de esta invención. El tamaño de partícula óptimo para mejorar la inyectabilidad sin retardar el fraguado, ni perjudicar la resistencia mecánica del cemento se puede conseguir preferentemente mediante molienda de los componentes del polvo, tanto en seco como en húmedo, usando un líquido libre de agua como por ejemplo, etanol o acetona, entre otros. El carácter termosensible del cemento se consigue incorporando poloxámero en solución en la fase líquida o en forma de polvo en la fase sólida del cemento. Se puede usar cualquier variedad de poloxámero dependiendo de las propiedades particulares que se quieran alcanzar.
- 15 La mezcla del polvo con la fase líquida se puede llevar a cabo a varias relaciones líquido-polvo, aunque se prefieren relaciones bajas para mejorar la resistencia mecánica del cemento fraguado, y a varias temperaturas de mezclado, preferentemente temperaturas por debajo de la temperatura ambiente para poder incorporar mayor cantidad de polvo en la solución de poloxámero. Se recomienda que las temperaturas de la fase sólida y/o de la fase líquida antes del mezclado sean inferiores a 25°C y preferentemente inferiores a 12°C. El mezclado se puede realizar a mano o con un dispositivo mecánico de cualquier tipo. Para obtener pastas más homogéneas en el menor tiempo posible se prefiere un dispositivo mecánico de mezclado de alta energía, del tipo mezclador planetario. La pasta obtenida se puede implantar directamente en la lesión ósea o dental a tratar, o se puede colocar en el interior de una jeringa u dispositivo similar para su posterior implantación mediante inyección. Alternativamente, una vez colocada la pasta en el interior de una jeringa o dispositivo similar se puede congelar, preferentemente a temperaturas iguales o inferiores a -20 °C, para su almacenamiento, y posterior descongelación, preferentemente a menos de 12 °C para su utilización en la aplicación clínica.
- 20
- 25
- 30
- 35 Los cementos inorgánicos termosensibles tienen interés para aplicaciones óseas y dentales, tanto en medicina como en veterinaria, especialmente en situaciones donde se necesita incrementar la masa de hueso o rellenar una cavidad ósea o dental. Dichos cementos pueden ser utilizados para rellenar cavidades óseas, defectos craneales o cavidades después de remover un tumor, llenar espacios vacíos después de una fractura múltiple, rellenar huecos después de quitar un diente, aumentar la cantidad de hueso antes de colocar un implante dental, fijar tornillos cuando se colocan placas metálicas, fijar dispositivos de fijación de fracturas, estabilizar fracturas óseas o recubrir prótesis e implantes, entre otras. Asimismo, el cemento puede actuar como soporte para la liberación controlada de fármacos (*Drug Delivery system*) o de sustrato para el crecimiento celular en ingeniería de tejidos (*Tissue Engineerings scaffolds*).
- 40
- 45

Preparación de un cemento inorgánico termosensible de uso biomédico

- Con la finalidad de ilustrar de forma práctica la invención a continuación se indican los reactivos posibles para la preparación de cementos inorgánicos inyectables y termosensibles de uso biomédico. Sin embargo, las posibilidades no se limitan a estos ejemplos. En el caso de cementos de fosfatos de calcio la fase en polvo del cemento comprende fosfato tricálcico alfa,
- 50 mezclas de fosfato tetracálcico con fosfato dicálcico anhídrido o dihidratado, o bien mezclas de

fosfato tricálcico beta con fosfato monocálcico anhídrido o hidratado. Para cementos de fosfatos de magnesio la fase en polvo del cemento comprende mezclas de óxido de magnesio con una sal de fosfato, como fosfatos de sodio, potasio, amonio o sus mezclas. Para cementos de carbonato cálcico la fase en polvo del cemento comprende vaterita y/o carbonato de calcio amorfo. Para cementos de sulfato de calcio la fase en polvo del cemento comprende sulfato de calcio hemihidrato. En todos los casos mencionados la fase en polvo se encuentra preferentemente a una temperatura inferior a 25 °C, y más preferentemente inferior a 12 °C.

Como principal componente de la fase líquida se puede usar preferentemente agua destilada o agua bidestilada. Alternativamente se puede usar agua, soluciones acuosas salinas, fluidos fisiológicos simulados u otros líquidos donde el poloxámero sea soluble y el cemento sea capaz de fraguar. El poloxámero a utilizar puede ser cualquiera de los poloxámeros existentes aunque se prefieren, sin implicar ninguna limitación, los de alto peso molecular. El poloxámero se puede incorporar en forma de polvo fino molido en el polvo de cemento, aunque se prefiere su incorporación en solución en la fase líquida del cemento. Para favorecer el efecto termosensible del cemento se prefiere el uso de poloxámeros a una concentración tal que la temperatura de gelificación de la disolución sea cercana a la temperatura ambiente, como por ejemplo poloxámero 407 entre 10 y 30 % en peso. La temperatura de la fase líquida en el momento del mezclado debe ser inferior a 25°C y preferentemente inferior a 12°C.

A fin de conseguir una pasta totalmente inyectable, así como el máximo de resistencia mecánica del cemento, es necesario controlar el tamaño de partícula de los reactivos que conforman el polvo y el protocolo de mezclado con la fase líquida. En el caso del tamaño de partícula, el tamaño óptimo se puede alcanzar mediante molienda del polvo, tanto en seco como en húmedo, en este último caso usando un líquido libre de agua como por ejemplo, etanol o acetona, entre otros. La distribución de tamaños de partícula del polvo puede variar entre 0.1 y 80 µm, pero de preferencia tiene que ser menor a 20 µm. Alternativamente se puede realizar una separación de tamaños de partícula después de la molienda para conseguir la distribución de tamaños deseada. La mezcla del polvo con la fase líquida se puede llevar a cabo a diferentes relaciones líquido-polvo, entre 0,15 y 1,0 mL/g. Preferentemente se recomienda usar relaciones líquido-polvo entre 0,2 y 0,4 mL/g para mejorar la resistencia mecánica del cemento. El mezclado se puede realizar a mano o mediante un dispositivo mecánico de cualquier tipo. Para obtener pastas más homogéneas en el menor tiempo posible se prefiere un dispositivo mecánico de mezclado de alta energía, del tipo mezclador planetario. Se recomienda que las temperaturas la fase sólida y/o de la fase líquida antes del mezclado sean inferiores a 25°C y más preferentemente inferiores a 12°C. Se recomienda que la temperatura de mezclado sea preferentemente entre -5 y 20 °C. Bajo estas condiciones se obtiene una pasta con consistencia trabajable que se puede implantar directamente en la lesión ósea o dental, o se puede colocar en el interior de una jeringa u dispositivo similar para su posterior implantación mediante inyección. El tiempo transcurrido entre la preparación y la implantación de la pasta depende de la formulación específica del cemento y puede variar entre 5 a 60 minutos.

En referencia al carácter termosensible del material y para minimizar la fuerza necesaria para inyectar el cemento, la temperatura de la pasta en el momento de la inyección debe ser inferior a 25 °C. Preferentemente se recomienda que la pasta se encuentre entre -5 y 20 °C. Cualquier método disponible para enfriar la pasta puede ser utilizado. Como ejemplo, sin limitar las alternativas, se pueden usar sistemas de refrigeración, baños térmicos, neveras u otros dispositivos similares o equivalentes.

La pasta, una vez colocada en el interior de una jeringa o dispositivo similar también se puede congelar, preferentemente a temperaturas iguales o inferiores a -20 °C, para su almacenamiento, y posteriormente se descongela preferentemente a menos de 12°C para su utilización en la aplicación clínica.

Es importante tener en cuenta que para la utilización del cemento *in vivo*, el polvo y el líquido tienen que haber sido esterilizados previamente. Además, se requiere una zona de trabajo estéril para evitar la contaminación de los reactivos en el momento de preparación e introducción de la pasta.

5 **Realizaciones preferidas**

Los ejemplos que se incluyen a continuación son descritos con la finalidad de ilustrar de forma práctica la invención, sin la intención de limitar ni restringir las composiciones específicas que se recogen en los mismos y el procedimiento de preparación de la mezcla de ingredientes.

Ejemplo 1: Cemento de fosfato de calcio termosensible: control de la fuerza de inyección

10 150 g de fosfato tricálcico alfa se molieron en un tarro de ágata utilizando un molino planetario y las siguientes tres etapas de molienda: 1) 450 rpm durante 60 minutos con 10 bolas de ágata de 30 mm de diámetro; 2) 500 rpm durante 40 minutos con 10 bolas de ágata de 30 mm de diámetro; 3) 500 rpm durante 60 minutos con 100 bolas de ágata de 10 mm de diámetro. 2,5 g de Na_2HPO_4 y 20 g de poloxámero 407 se disolvieron en un volumen total de 100 mL de agua
15 destilada. La disolución de los componentes se llevó a cabo en un mezclador planetario de alta energía durante 30 minutos a 3000 rpm usando agua a 4 °C. La preparación de la pasta consistió en mezclar 5,714 g del polvo de fosfato tricálcico alfa con 2 ml de la disolución de Na_2HPO_4 y poloxámero 407 previamente enfriada a 0 °C. La mezcla se llevó a cabo en un mezclador planetario de alta energía durante 20 segundos a 1650 rpm.

20 La pasta obtenida se incorporó en una jeringa de 5 mL de capacidad y con una apertura de 2 mm de diámetro. Antes de inyectar la pasta de cemento las jeringas se colocaron durante 15 minutos en un baño de agua a diferentes temperaturas, de tal forma que la temperatura de la pasta en el momento de la inyección fue de 0, 7, 12, 15, 18 o 20 °C. Las jeringas a la temperatura indicada se colocaron en un soporte para realizar el ensayo de inyección. Este
25 ensayo consiste en medir la fuerza necesaria para inyectar la pasta a una velocidad de avance del émbolo de la jeringa de 15 mm/min. El ensayo se realizó en una máquina universal de ensayos mecánicos (MTS Bionix 858). El resultado del ensayo es la curva de inyectabilidad, la cual relaciona la fuerza necesaria para inyectar la pasta a una velocidad constante en función del desplazamiento del émbolo, este último expresado en porcentaje respecto al máximo recorrido posible.
30

La Figura 1 muestra las curvas de inyección para la pasta de cemento que contiene poloxámero 407 a 7 y 20 °C. La Figura 1 también muestra las curvas de inyección para la pasta de cemento sin poloxámero 407 a las mismas temperaturas. Sin poloxámero 407 la fuerza de inyección no se modificó considerablemente entre 7 y 20 °C (valor aproximado de 20 a 50
35 MPa). Sin poloxámero 407 la pasta se inyectó parcialmente, puesto que el émbolo únicamente alcanzó entre un 45 % y un 55 % del recorrido posible. La razón es el fenómeno conocido como separación de fases o filtrado por presión, el cual consiste en que el líquido es inyectado a través del polvo, por lo que la fracción de sólido en el interior de la jeringa aumenta durante el ensayo. El incremento de la fracción de sólido en la jeringa hace cada vez más difícil inyectar la
40 pasta, requiriendo más fuerza para la inyección. En cambio, independientemente de la temperatura, con poloxámero 407 la pasta de cemento se inyectó completamente puesto que el émbolo alcanzó el máximo recorrido posible y visualmente no se observó pasta remanente dentro de las jeringas. Es interesante notar que, a pesar de que en todos los casos las pastas se inyectaron completamente, la fuerza requerida para inyectarlas fue significativamente
45 diferente entre 7 y 20 °C.

La Figura 2 resume los resultados de la fuerza requerida para inyectar las pastas de cemento termosensible a diferentes temperaturas (0, 7, 12, 15, 18 y 20 °C). Los valores se presentan como promedio y desviación estándar de al menos tres ensayos. La Figura 2 muestra que la fuerza requerida para inyectar la pasta disminuye al disminuir la temperatura. Se observa

también que para temperaturas de la pasta iguales o inferiores a 12 °C la fuerza para la inyección es mínima, tomando valores entre 30 y 60 MPa. A todas las temperaturas las pastas de cemento son completamente inyectables y no presentan en ningún caso señales de separación de fases.

5 **Ejemplo 2: Cemento de fosfato de calcio termosensible: cohesión de las pastas**

150 g de fosfato tricálcico alfa se molieron en un tarro de ágata utilizando un molino planetario y las siguientes tres etapas de molienda: 1) 450 rpm durante 60 minutos con 10 bolas de ágata de 30 mm de diámetro; 2) 500 rpm durante 40 minutos con 10 bolas de ágata de 30 mm de diámetro; 3) 500 rpm durante 60 minutos con 100 bolas de ágata de 10 mm de diámetro. 2,5 g de Na_2HPO_4 y 20 g de poloxámero 407 se disolvieron en un volumen total de 100 mL de agua destilada. La disolución de los componentes se llevó a cabo en un mezclador planetario de alta energía durante 30 minutos a 3000 rpm usando agua a 4 °C. La preparación de la pasta consistió en mezclar 5,714 ó 3,636 g del polvo de fosfato tricálcico alfa con 2 mL de la disolución de Na_2HPO_4 y poloxámero 407 previamente enfriada a 0 °C. La mezcla se llevó a cabo en un mezclador planetario de alta energía durante 20 segundos a 1650 rpm.

Inmediatamente la pasta obtenida se incorporó en una jeringa de 5 mL de capacidad y con una apertura de 2 mm de diámetro. Las jeringas se colocaron durante 15 minutos en un baño de agua a diferentes temperaturas, de tal forma que la temperatura de la pasta fue de 0, 7 o 18 °C. Una vez la pasta alcanzó la temperatura deseada esta se inyectó a mano en una solución de Ringer (0,9 % en peso de NaCl en agua) a diferentes temperaturas entre 0 y 37 °C. La cohesión de las pastas se determinó visualmente durante un máximo de 24 h, tiempo suficiente para el endurecimiento del cemento.

La Figura 3 muestra imágenes de la pasta inicialmente a 18 °C e inyectada en solución de Ringer a temperaturas entre 0 y 37 °C. Se puede observar que al aumentar la temperatura de la solución de Ringer la pasta inyectada retiene en mejor medida su forma de extrusión, lo que indica que la cohesión de la pasta aumenta con la temperatura del medio donde es inyectada. En particular, a 37 °C (temperatura fisiológica), la retención de la forma del cemento es completa, por lo que se puede inyectar con la seguridad de que el cemento conservará su integridad *in situ*. La Figura 4 muestra que la temperatura inicial de la pasta (0, 7 o 18 °C) no afecta la cohesión del cemento cuando es inyectado en solución de Ringer a 37 °C. La Figura 5 muestra que cementos sin poloxámero 407 no tienen cohesión en solución de Ringer a 37 °C. Por un lado, cuando poca cantidad de polvo (3,636 g) es mezclada con 2 mL de solución de Na_2HPO_4 al 2 % en peso, la pasta es tan líquida que se desintegra inmediatamente al entrar en contacto con la solución de Ringer. Por otro lado, cuando la cantidad de polvo es mayor (5,714 g), la pasta parece tener cohesión después de las primeras horas en contacto con la solución de Ringer, pero con el paso del tiempo la forma de extrusión pierde continuidad, dando lugar a varios fragmentos macroscópicos que aunque terminan endureciendo no mantienen su forma original. En cambio con poloxámero 407 las pastas de cemento endurecen manteniendo completamente su forma para las dos cantidades de polvo usadas.

40 **Ejemplo 3: Fraguado y endurecimiento del cemento de fosfato de calcio termosensible**

150 g de fosfato tricálcico alfa se molieron en un tarro de ágata utilizando un molino planetario y las siguientes tres etapas de molienda: 1) 450 rpm durante 60 minutos con 10 bolas de ágata de 30 mm de diámetro; 2) 500 rpm durante 40 minutos con 10 bolas de ágata de 30 mm de diámetro; 3) 500 rpm durante 60 minutos con 100 bolas de ágata de 10 mm de diámetro. 2,5 g de Na_2HPO_4 y 20 g de poloxámero 407 se disolvieron en un volumen total de 100 mL de agua destilada. La disolución de los componentes se llevó a cabo en un mezclador planetario de alta energía durante 30 minutos a 3000 rpm usando agua a 4 °C. La preparación de la pasta consistió en mezclar 5,714 g del polvo de fosfato tricálcico alfa con 2 mL de la disolución de Na_2HPO_4 y poloxámero 407 previamente enfriada a 0 °C. La mezcla se llevó a cabo en un mezclador planetario de alta energía durante 20 segundos a 1650 rpm.

Los tiempos de fraguado inicial y final se midieron mediante el ensayo de las agujas de Gilmore, según el cual el tiempo de fraguado inicial se define como el tiempo transcurrido desde el momento en que el polvo contacta con el líquido, hasta que una presión de 0,3 MPa no deja ninguna marca en la superficie del cemento, mientras que el tiempo de fraguado final se define como el tiempo transcurrido desde el momento en que el polvo contacta con el líquido, hasta que una presión de 5 MPa no deja ninguna marca en la superficie del cemento. El ensayo se realizó introduciendo la pasta del cemento en moldes de plástico cilíndricos de 10 mm de altura. El tiempo de fraguado inicial del cemento fue de 11,6 minutos y el tiempo final fue de 33,7 minutos.

Para determinar el producto final de la reacción de fraguado y la resistencia a la compresión del cemento se prepararon probetas del cemento de 12 mm de altura y 6 mm de diámetro en moldes de teflón. Dichos moldes se introdujeron en solución de Ringer (0,9 % en peso de NaCl en agua) y se mantuvieron a 37 °C durante 7 días. En la Figura 6 se presenta el diagrama de difracción de rayos X del cemento fraguado durante 7 días. Los máximos de difracción que se observan concuerdan con la ficha cristalográfica de la hidroxiapatita (JCPDS 09-0342). Esto indica que durante el fraguado el fosfato tricálcico alfa se hidroliza para formar hidroxiapatita. En particular, y de acuerdo a la relación Ca/P del fosfato tricálcico alfa usado como reactivo (Ca/P = 1,5), la hidroxiapatita formada corresponde a una hidroxiapatita deficiente en calcio. La resistencia a la compresión se midió utilizando una máquina universal de ensayos mecánicos, con una célula de carga de 10 kN, usando una velocidad de desplazamiento de mordazas de 1mm/min. La resistencia a la compresión del cemento termosensible fraguado fue de $28,4 \pm 5,1$ MPa. La densidad esquelética del cemento termosensible fraguado medida mediante picnometría de helio fue de $2,68 \text{ g/cm}^3$.

Ejemplo 4: Almacenamiento de la pasta de cemento a baja temperatura: Congelación y descongelación

150 g de fosfato tricálcico alfa se molieron en un tarro de ágata utilizando un molino planetario y las siguientes tres etapas de molienda: 1) 450 rpm durante 60 minutos con 10 bolas de ágata de 30 mm de diámetro; 2) 500 rpm durante 40 minutos con 10 bolas de ágata de 30 mm de diámetro; 3) 500 rpm durante 60 minutos con 100 bolas de ágata de 10 mm de diámetro. 2,5 g de Na_2HPO_4 y 20 g de poloxámero 407 se disolvieron en un volumen total de 100 mL de agua destilada. La disolución de los componentes se llevó a cabo en un mezclador planetario de alta energía durante 30 minutos a 3000 rpm usando agua a 4 °C. La preparación de la pasta consistió en mezclar 5,714 g del polvo de fosfato tricálcico alfa con 2 mL de la disolución de Na_2HPO_4 y poloxámero 407 previamente enfriada a 0 °C. La mezcla se llevó a cabo en un mezclador planetario de alta energía durante 20 segundos a 1650 rpm.

Inmediatamente la pasta obtenida se incorporó en una jeringa de 5 mL de capacidad y con una apertura de 2 mm de diámetro. Las jeringas se colocaron durante 15 minutos en nitrógeno líquido e inmediatamente se colocaron a -80 °C en un congelador durante 3, 7, 14, 21 y 49 días. Después de estos tiempos las jeringas con la pasta de cemento se descongelaron durante 13 minutos en un baño de agua a 7 °C. La fuerza requerida para inyectar la pasta de cemento descongelada se determinó mediante el ensayo de inyección. El ensayo se realizó en una máquina universal de ensayos mecánicos (MTS Bionix 858) a una velocidad de avance del émbolo de la jeringa de 15 mm/min. La Figura 7 muestra que la fuerza necesaria para inyectar las pastas de cemento descongeladas no aumentó significativamente ($p > 0.05$) respecto a la fuerza necesaria para inyectar la pasta recién preparada a la misma temperatura. En todos los casos la pasta se inyectó en su totalidad puesto que el émbolo alcanzó el final del recorrido y no se observó pasta remanente en las jeringas. Las pastas descongeladas presentaron cohesión total al ser inyectadas en solución de Ringer (0,9 % en peso de NaCl en agua) a 37 °C. Los tiempos de fraguado inicial y final, medidos mediante el ensayo de las agujas de Gilmore después de los diferentes tiempos de congelación no cambiaron significativamente ($p > 0.05$) respecto a los tiempos de fraguado inicial y final (respectivamente) de pastas no

congeladas. Tampoco se encontraron cambios estadísticamente significativos ($p > 0.05$) en la resistencia a la compresión del cemento fraguado durante 7 días por el hecho de congelar y descongelar la pasta de cemento.

Breve descripción de las figuras

5 En las Figuras se ha representado lo siguiente:

Figura 1. Curvas de inyección (fuerza - desplazamiento del émbolo) correspondientes a cementos con poloxámero 407 (líneas continuas) a 7 y 20 °C, y sin poloxámero 407 (líneas discontinuas) a 7 y 20 °C.

10 **Figura 2.** Fuerzas requeridas para inyectar las pastas de cemento termosensible a diferentes temperaturas (0, 7, 12, 15, 18 y 20 °C).

Figura 3. Imágenes de la cohesión de las pastas de cemento termosensible en solución de Ringer a temperaturas entre 0 y 37 °C. En todos los casos la temperatura inicial de la pasta fue de 18 °C.

15 **Figura 4.** Imágenes de la cohesión de las pastas de cemento termosensible mantenidas inicialmente a 0, 7 o 18 °C, al ser inyectadas en una solución de Ringer a 37 °C.

Figura 5. Imágenes de la cohesión de las pastas de cemento con diferentes cantidades de polvo y 2 mL de fase líquida, con y sin la incorporación de poloxámero 407.

Figura 6. Difracción de rayos X del producto de reacción de un cemento termosensible fraguado en solución de Ringer durante 7 días a 37 °C.

20 **Figura 7.** Fuerzas necesarias para inyectar las pastas de cemento termosensible después de 0, 3, 7, 14, 21 y 49 días de estar congeladas a -80 °C. En todos los casos las pastas se descongelaron e inyectaron a 7 °C.

Invención escalable a aplicación industrial

25 Los cementos inorgánicos termosensibles que se han descrito presentan varias aplicaciones en el campo clínico y veterinario, especialmente en los campos de la cirugía ortopédica, para rellenar cavidades óseas, defectos craneales o cavidades después de remover un tumor, llenar espacios vacíos después de una fractura, fijar tornillos cuando se colocan placas metálicas, estabilizar fracturas óseas o recubrir prótesis e implantes, o en odontología para rellenar huecos después de quitar un diente o para aumentar la cantidad de hueso antes de la colocación de un implante dental. Esta invención es fácilmente aplicable a escala industrial. La preparación del polvo y la fase líquida de los cementos es muy sencilla ya que todos los reactivos son comerciales y sólo se requiere la optimización del tamaño de partícula del polvo y la temperatura de la pasta para poder conseguir las ventajas enumeradas a continuación, las cuales incrementan el valor de dicho cemento en el ámbito de los biomateriales.

35 (a) Minimización de la fuerza necesaria para inyectar la pasta, facilitando el proceso de implantación mediante inyección;

(b) Obtención de cohesión total de la pasta cuando es inyectada a temperatura fisiológica;

(c) Fraguado rápido acompañado de resistencias a la compresión elevadas;

(d) Ausencia de subproductos tóxicos;

40 (e) Adherencia a tejidos vivos como el hueso;

f) Reabsorción *in vivo*.

Asimismo, la preparación del cemento es sencilla. El uso del cemento en aplicaciones biomédicas requiere la esterilización de los reactivos así como un empleo adecuado de éstos. Además, hay que introducir el cemento en el defecto óseo o dental en un tiempo corto, limitado por el endurecimiento de éste.

5 REFERENCIAS

- [1] G. Dumortier, J. L. Grossiord, F. Agnely, and J. C. Chaumeil, "A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics.," *Pharm. Res.*, vol. 23, no. 12, pp. 2709–28, Dec. 2006.
- 10 [2] J. Franco, P. Hunger, M. E. Launey, a P. Tomsia, and E. Saiz, "Direct write assembly of calcium phosphate scaffolds using a water-based hydrogel.," *Acta Biomater.*, vol. 6, no. 1, pp. 218–28, Jan. 2010.
- [3] J. Raymond and A. Schwarz, "Temporary embolization using inverse thermosensitive polymers," *US Pat. App. 10/794,804*, 2004.
- 15 [4] D. O'mahony and V. Garigapati, "Post irradiation shelf-stable dual paste direct injectable bone cement precursor systems and methods of making same," *US Pat. App. 13/ ...*, 2013.
- [5] M. P. Ginebra, J. A. Planell, and F. X. Gil, "Injectable, Self Setting Calcium Phosphate Foam," EP20050782615 200508112007.

REIVINDICACIONES

- 5 **1.-** Un cemento inorgánico termosensible de uso biomédico caracterizado porque comprende un cemento hidráulico inorgánico y un poloxámero, que se puede añadir bien en la fase sólida o bien en la fase líquida, dicha fase sólida del cemento hidráulico inorgánico comprende fosfatos de calcio, sodio y/o amonio, carbonatos de calcio, sulfatos de calcio, óxido de magnesio o cualquier mezcla de ellos, y la fase líquida es agua o una solución acuosa.
- 2.-** Un cemento según la reivindicación 1 en el que el poloxámero se incorpora preferentemente en la fase líquida del cemento, que comprende agua destilada o una solución acuosa.
- 10 **3.-** Un cemento según la reivindicación 1, en que el componente autofraguable es fosfato tricálcico alfa.
- 4.-** Un cemento según la reivindicación 1 en el que el poloxámero utilizado como aditivo es poloxámero 407, caracterizado porque el poloxámero 407 se puede incorporar como polvo en la fase sólida del cemento o preferentemente disuelto en la fase líquida del cemento.
- 15 **5.-** Un cemento según la reivindicación 4 en el que el poloxámero 407 se incorpora en la fase líquida del cemento en una concentración entre 10 y 30 % en peso, preferentemente 20 % en peso.
- 6.** Un cemento según las reivindicaciones 3 a 5 en el que la fase líquida del cemento es preferentemente una solución acuosa de Na_2HPO_4 , con una concentración inferior al 10% en peso, preferentemente del 2.5% en peso.
- 20 **7.-** Un cemento según las reivindicaciones 3 a 5 en el que la mezcla de la fase líquida con la sólida se lleva a cabo a una proporción líquido-polvo entre 0,15 y 1,0 mL/g, preferentemente entre 0,2 y 0,4 mL/g.
- 25 **8.-** Un procedimiento para la preparación del cemento inorgánico termosensible para aplicaciones biomédicas donde la fase líquida formada por un hidrogel de poloxámero, a una temperatura inferior a 25 °C y preferentemente inferior a 12 °C, se mezcla con la fase en polvo del cemento, que comprende fosfatos de calcio, sodio y/o amonio, carbonatos de calcio, sulfatos de calcio, óxido de magnesio o cualquier mezcla de ellos.
- 30 **9.-** Un procedimiento para la preparación de un cemento inorgánico termosensible para aplicaciones biomédicas según la reivindicación 8 en el que la fase en polvo se encuentra preferentemente a una temperatura inferior a 25 °C, y más preferentemente inferior a 12 °C.
- 10.-** Un procedimiento para la preparación de un cemento inorgánico termosensible para aplicaciones biomédicas según las reivindicaciones 8 y 9 en el que la fase en polvo comprende preferentemente fosfato tricálcico alfa.
- 35 **11.-** Un procedimiento para la preparación de un cemento inorgánico termosensible para aplicaciones biomédicas según la reivindicación 10 en el que la mezcla de la fase líquida con la sólida se lleva a cabo a una proporción líquido-polvo entre 0,15 y 1,0 mL/g, preferentemente entre 0,2 y 0,4 mL/g.
- 40 **12.-** Un procedimiento para la preparación del cemento inorgánico termosensible para aplicaciones biomédicas, según la reivindicación 8, donde la mezcla del polvo con la fase líquida se realiza preferentemente en un mezclador de alta energía.
- 45 **13.-** Un procedimiento para la preparación del cemento inorgánico termosensible para aplicaciones biomédicas, según la reivindicación 8, en el que la pasta una vez colocada en el interior de una jeringa o dispositivo similar se congela, preferentemente a temperaturas iguales o inferiores a -20 °C, para su almacenamiento, y posteriormente se descongela preferentemente a menos de 12 °C para su utilización en la aplicación clínica.

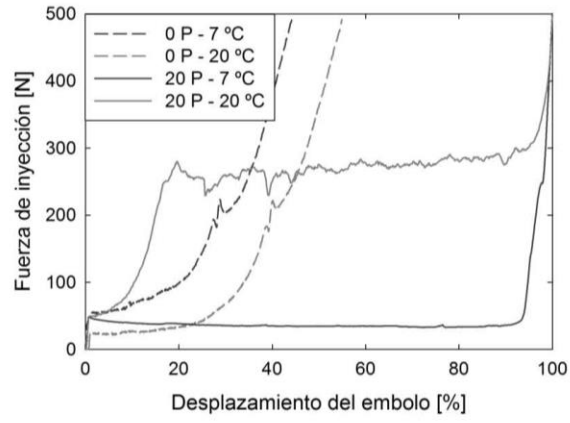


Fig. 1

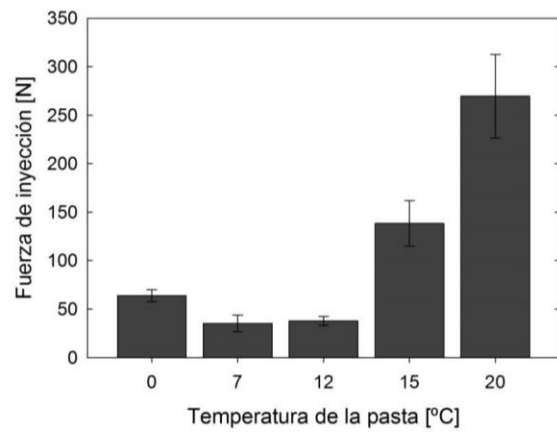


Fig. 2

Pasta inicialmente a 18 °C

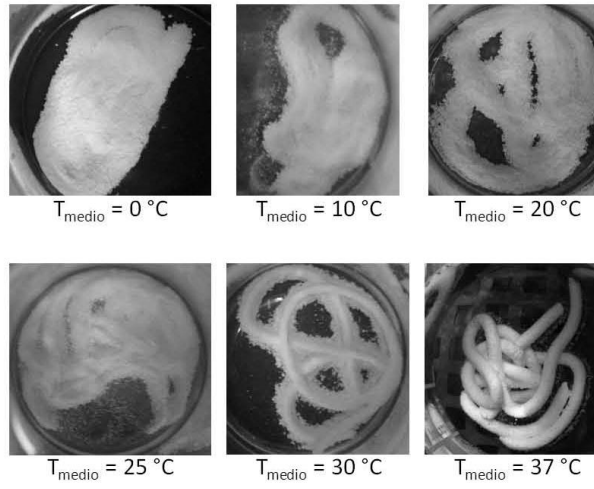


Fig. 3

Líquido de inmersión a 37 °C

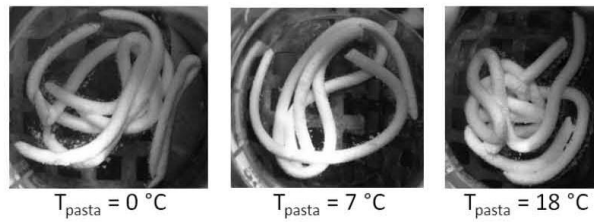


Fig. 4



Fig. 5

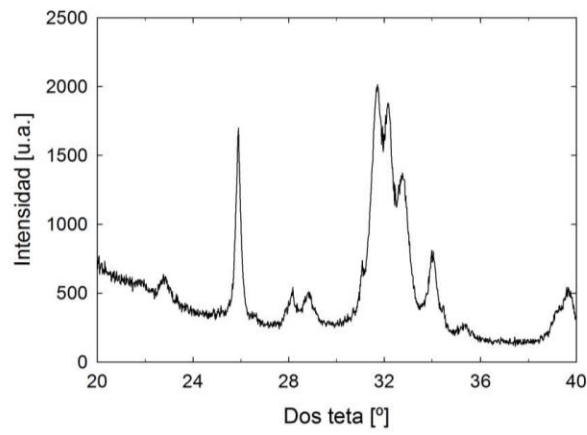


Fig. 6

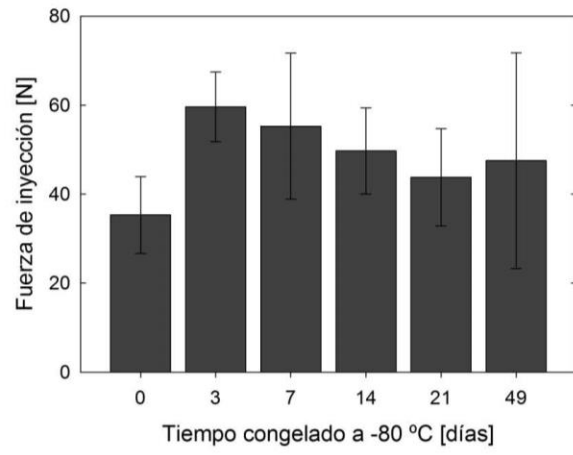


Fig. 7