



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 325 313**

51 Int. Cl.:

C08L 5/00 (2006.01)

C08L 5/04 (2006.01)

C08L 5/08 (2006.01)

C08L 5/12 (2006.01)

A61L 27/26 (2006.01)

A61L 27/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02700371 .4**

96 Fecha de presentación : **22.01.2002**

97 Número de publicación de la solicitud: **1355981**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **29.10.2003**

54 Título: **Composición gelificable, biocompatible e implantable.**

30 Prioridad: **22.01.2001 FR 01 00832**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.09.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.09.2009

73 Titular/es: **Laboratoire TBF**
7, rue du Vinatier
69500 Bron, FR

72 Inventor/es: **Bardonnet, Raphaël y**
Laganier, Laurent

74 Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

ES 2 325 313 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 gelificable, biocompatible e implantable.

5 La presente invención se refiere a la formulación y al conformado de composiciones gelificables biocompatibles que permiten realizar unos implantes.

En el campo de la cicatrización de los tejidos tales como los cartílagos o los tejidos óseos, a menudo resulta necesario recurrir a unos injertos de condrocitos.

10 Estos injertos de condrocitos utilizan actualmente unas suspensiones celulares a veces difíciles de utilizar, y resulta de ello la necesidad de un producto o de un medio que permita realizar estos injertos de condrocitos mediante la utilización de materiales sólidos, que presenten unas características mecánicas que permitan una implantación fácil.

15 Se conocen los materiales biodegradables que son por ejemplo los polímeros naturales tales como las celulosas, las metilcelulosas, las gelatinas, las caseínas, los quitosanos, las polilisinas y los otros polisacáridos.

20 Se conocen también las propiedades por ejemplo de gelificación de algunos de estos biomateriales tales como los polisacáridos que permiten la realización de productos sólidos, y su biocompatibilidad suficiente para mantener la viabilidad de células. Así es conocido mantener en vida unas células en unos medios que contiene unos polisacáridos naturales y es por tanto posible la inclusión de material vivo o de principios activos farmacéuticos en unos geles constituidos por polisacáridos.

25 Los polisacáridos naturales macromoleculares están compuestos por moléculas de sacáridos no hidrolizadas ligadas entre sí para formar unas cadenas largas.

Las macromoléculas pueden estar compuestas por aproximadamente 3.000 moléculas de sacáridos y preferentemente por 300 a 1.200 moléculas.

30 Se han utilizado diferentes métodos y procedimientos para obtener unos geles de alginatos que se pueden utilizar como materia implantable susceptible de contener unos extractos tisulares vivos y/o unos principios activos farmacéuticos.

35 Se conoce por ejemplo a partir del documento WO 98/25053, un gel de alginato compuesto por una suspensión de partículas de hidrogel que tienen un diámetro comprendido entre 30 y 500 μm .

40 Se conoce a partir del documento GB 2 201 966 un material compuesto constituido por dos compuestos gelificables de los que una parte de uno de los dos compuestos gelificables es eliminada permitiendo así formar un gel compuesto poroso que presenta unas cavidades que contienen por ejemplo unas células.

Se conoce a partir de la publicación Hokusishi Geppo (1967), 24, 350-6 la influencia de soluciones de sales de cationes metálicos sobre la dureza de geles constituidos por agar y alginato de sodio.

45 Más recientemente, para unas aplicaciones en el campo alimenticio, la utilización de compuestos cuyo proceso de gelificación es termoreversible en mezcla con alginato de sodio ha sido revelada en el documento JP 622 96 853 para preparar unos geles susceptibles de resistir unas temperaturas elevadas, siendo al mismo tiempo poco deformables.

50 Los polisacáridos naturales macromoleculares están compuestos por moléculas de sacáridos no hidrolizadas ligadas entre sí para formar unas cadenas largas.

Las macromoléculas pueden estar compuestas por aproximadamente 3.000 moléculas de sacáridos y preferentemente por 300 a 1.200 moléculas.

55 Entre las soluciones utilizadas anteriormente, ninguna ha permitido hasta el presente preparar unos implantes que presenten unas propiedades mecánicas compatibles con su utilización cuando tienen lugar gestos quirúrgicos y de manipulación fácil.

60 Es por ejemplo conocido utilizar unos geles de alginatos. Los alginatos son unos derivados de la algina, que es un polisacárido complejo presente en las paredes celulares de un alga marrón que pertenece al grupo de las feofíceas. El alginato es extraído de las algas en forma de una solución sal de sodio.

Los alginatos presentan en particular la propiedad de formar unos geles por reacción con unos cationes divalentes. Estos geles están constituidos en general por aproximadamente 97,5 a 99% de agua y por 0,3 a 2,5% de polímeros.

65 La inclusión de material vivo o de principios activos farmacéuticos es posible, en particular, es conocido utilizar los geles de alginato para mantener en suspensión unas células. Estas últimas pueden por ejemplo estar dispersadas en una solución de alginato que será polimerizada en contacto con una solución de sal de calcio o de bario.

Sin embargo, este modo de polimerización no permite formar un bloque de gel que pueda ser conformado, ni moldeado. Se obtienen unas bolas independientes de un gel que presenta sin embargo unas características mecánicas interesantes, puesto que no es friable, y es manipulable e incluso recortable.

5 Entre los otros polisacáridos que se pueden utilizar se conoce la agarosa, que se deriva del agar y que es extraída de diferentes clases de algas rojas que pertenecen al grupo de las rodofíceas, es un galactano hidrocólide lineal.

10 El agar y las agarosas tienen la propiedad de formar unos geles por enfriado; estos geles presentan unas propiedades físicas variables en función del origen de los agares o de las agarosas. Estos polisacáridos son por tanto fácilmente conformados gracias a sus propiedades de gelificación en función de la temperatura, por ejemplo por moldeado en caliente. Pueden también, trabajando a partir de una solución, ser moldeados a una temperatura superior a la temperatura de gelificación y después ser desmoldeables por enfriado.

15 Estos agares o agarosas tienen también la particularidad de presentar unas temperaturas de gelificación inferiores a 40°C, compatibles con la vida celular e inferiores a las temperaturas de degradación de numerosos principios activos farmacéuticos. Sin embargo las características mecánicas de estos geles son insuficientes puesto que son friables y frágiles y no resisten las tensiones impuestas cuando tiene lugar la realización de gestos quirúrgicos.

20 La presente invención permite la realización de implantes que presentan unas propiedades mecánicas compatibles con su utilización, en particular cuando tienen lugar gestos quirúrgicos y permiten el injerto de condrocitos.

La presente invención se refiere a una composición acuosa de polisacáridos, gelificable y biocompatible, caracterizada porque comprende una mezcla de por lo menos dos polisacáridos de los que uno es gelificable por vía química y el otro por vía térmica.

25 Un polisacárido gelificable es así un polisacárido que presenta la propiedad de formar un gel por reticulación, tales como los alginatos, las agarosas y los quitosanos.

30 La reticulación se efectúa, en función de la naturaleza de los polisacáridos utilizados, por descenso de la temperatura o por adición de una solución salina, por ejemplo que contiene unos iones calcio o bario o modificación del pH.

Se entiende en este caso por gelificable por vía térmica la aptitud para una composición de formar un gel por descenso de la temperatura.

35 Se entiende en este caso por gelificable por vía química, la aptitud para una composición de formar un gel por reacción por ejemplo con unos cationes metálicos que provocan una reticulación y por tanto una formación de gel o por modificación del pH de la solución de polisacárido.

40 Los polisacáridos gelificables por vía química según la invención se seleccionan de entre los alginatos y los quitosanos.

45 Los quitosanos están constituidos por residuos N-acetilglucosamina unidos por unos enlaces beta-1,4, derivados por desacetilación de la quitina que forma cadenas largas. La quitina es el constituyente principal del exoesqueleto de los crustáceos.

El colágeno es una escleroproteína compleja, insoluble en el agua y las soluciones salinas, transformándose en gelatina bajo la acción del agua hirviendo, formada por macromoléculas de tropocolágeno. El colágeno es el componente esencial de las fibrillas y fibras del tejido conjuntivo.

50 Los polisacáridos gelificables por vía térmica según la invención son el agar o la agarosa.

Los dos polisacáridos preferidos según la invención son la agarosa y el alginato.

55 Las composiciones acuosas de polisacáridos según la invención contienen entre 0,5 y 10% de polisacárido gelificable químicamente y entre 0,5 y 10% de polisacárido gelificable térmicamente.

60 La presente invención se refiere a una composición acuosa de polisacáridos, gelificable y biocompatible de los que uno es gelificable químicamente y el otro térmicamente; permitiendo esta mezcla por formación del gel por reticulación por descenso de la temperatura crear una estructura moldeable y sólida que permite a continuación por reticulación química del segundo polisacárido mejorar las propiedades mecánicas.

La presente invención se refiere a una composición acuosa de polisacáridos, gelificable y biocompatible de los que uno es gelificable químicamente y el otro térmicamente, caracterizada porque comprende unos extractos tisulares biológicos vivos o unas células autólogas, alogénicas o xenogénicas.

65 Las células susceptibles de ser utilizadas en una composición según la invención pertenecen al grupo de los condrocitos y otras células constitutivas del cartílago, al grupo de los osteoblastos u otras células constitutivas de los huesos, al grupo de las células musculares o fibroblastos.

ES 2 325 313 T3

Estas células se seleccionan preferentemente de entre las células capaces de estimular la regeneración de los tejidos óseos o cartilaginosos.

Las células capaces de estimular la regeneración de los tejidos cartilaginosos son por ejemplo unos condrocitos aislados y multiplicados por cultivo celular a partir de biopsias de cartílago.

Las composiciones gelificables biocompatibles preparadas según la invención pueden contener también hueso esponjoso desmineralizado.

Las composiciones gelificables biocompatibles preparadas según la invención pueden contener también unos agentes susceptibles de tratar o de prevenir unas patologías o unas complicaciones.

Estos agentes son por ejemplo unos principios activos farmacéuticos como por ejemplo unos agentes antivirales o unos agentes antibacterianos.

Estos agentes pueden estar presentes en las composiciones gelificables biocompatibles según la invención solos o en mezclas.

Las composiciones según la invención se preparan mediante el procedimiento que comprende las etapas siguientes:

- solubilizar en agua el polímero gelificable por vía química,
- añadir el polisacárido gelificable por vía térmica y poner en solución por calentamiento,
- esterilizar y enfriar.

Se obtiene un gel intermedio, parcialmente reticulado que, eventualmente, es puesto de nuevo en solución por calentamiento antes de la adición de los extractos tisulares biológicos, de hueso esponjoso desmineralizado o de los principios activos farmacéuticos,

- enfriar la mezcla obtenida por gelificación por vía térmica y moldeo, se obtiene por tanto una forma intermedia que no presenta las propiedades mecánicas requeridas para la utilización,
- desmoldear y después gelificar por reticulación química por puesta en contacto con una solución salina.

Este procedimiento permite además obtener si es necesario unos geles intermedios esterilizables, preparados para el empleo para la incorporación de los principios activos y/o de suspensiones celulares.

En una variante de preparación, la gelificación por vía química puede ser realizada *in situ* en el momento de la implantación o después de la implantación por adición de una solución salina.

Las soluciones salinas según la invención son preferentemente unas soluciones de sales de calcio o de bario.

La presente invención se refiere asimismo al procedimiento de fabricación de un obturador femoral, caracterizado porque comprende por lo menos las etapas siguientes:

- solubilizar en agua el polímero gelificable por vía química,
- añadir el polisacárido gelificable por vía térmica y poner en solución mediante calentamiento,
- enfriar la mezcla obtenida por gelificación por vía térmica y moldear,
- desmoldear y después gelificar por reticulación química mediante la puesta en contacto con una solución salina.

Ejemplos de aplicación

Implante que contiene unos condrocitos destinado a la reparación del cartílago articular

Fabricación de un implante que contiene unos condrocitos

El implante está formado por condrocitos cultivados, por un gel compuesto y eventualmente, por hueso esponjoso desmineralizado humano.

Preparación de los condrocitos

Los condrocitos proceden de una biopsia de cartílago realizada a un paciente afectado de lesiones condrales u osteocondrales. Después del aislamiento gracias a un tratamiento enzimático apropiado, los condrocitos son multipli-

ES 2 325 313 T3

cados en cultivo celular hasta la obtención de una cantidad suficiente. El conjunto de las etapas de obtención de los condrocitos se realiza en medio aséptico.

5 Estas células son entonces recuperadas y puestas en suspensión en medio de cultivo antes de la fabricación del implante.

Preparación del hueso esponjoso desmineralizado

10 El tejido óseo humano procede de un banco de tejidos. Sufre una etapa de desvitalización y de viroinactivación por acción química y física. El tejido óseo es ajustado a la forma deseada y después desmineralizado en medio ácido a 4°C. El estado estéril es obtenido por radiación gamma.

Preparación del gel compuesto

1. Disolver alginato en una solución de Hank's a temperatura ambiente a una concentración generalmente comprendida entre 1 y 10%.

20 2. Suspender la agarosa de tipo "low gelling" en la mezcla anterior a una concentración comprendida generalmente entre 1 y 10%.

3. Después de la homogenización, calentar inmediatamente el conjunto a 90°C con el fin de disolver la agarosa en suspensión.

25 4. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 20 minutos la solución de alginato y de agarosa.

5. El gel compuesto se forma después de enfriado a temperatura de gelificación de la agarosa.

Preparación del implante

El conjunto de las operaciones se desarrolla en unas condiciones asépticas.

35 1. Licuar el gel compuesto por calentamiento a 90°C y después mantenerlo a 37°C para su utilización

2. Añadir la suspensión celular.

40 3. Después de la homogenización, colar la mezcla en un molde.

4. Para los implantes con fase ósea, el hueso esponjoso desmineralizado es entonces añadido según las necesidades.

5. Llevar a continuación el molde a 4°C durante 10 minutos para permitir que se gelifique el implante.

45 6. Desmoldear el implante y después sumergirlo 10 minutos en una solución CaCl₂ 25 mM para transformar el alginato de sodio en alginato de calcio.

7. Incubar el implante a 37°C, 5% de CO₂ en medio DMEM ajustado con CaCl₂ a 3 mM hasta utilización.

Variante de preparación

50 Cuando el implante no contiene hueso desmineralizado, es posible transformar el alginato de sodio en alginato de calcio solamente *in situ* en el momento de la implantación. El implante es entonces utilizado como una pasta que es conformada en la lesión a tratar. Por aspersión de una solución que contiene 25 mM de cloruro de calcio, el implante se solidifica *in situ* adoptando la forma de la lesión.

II. Obturador femoral destinado a facilitar la puesta a presión del cemento quirúrgico y a limitar su progresión en el canal diafisario del cuerpo femoral cuando tiene lugar la colocación de prótesis de cadera

60 Los obturadores utilizados habitualmente son o bien de materiales sintéticos biodegradables (polímero de ácido láctico o glicólico), o bien a base de gelatina de origen animal (porcina en general). En el primer caso, la lisis del polímero provoca unos fenómenos inflamatorios que no son deseables. En el segundo caso, la utilización de producto de origen animal representa un riesgo potencial de transmisión de enfermedades infecciosas (priones).

ES 2 325 313 T3

Fabricación de un obturador femoral

1. Disolver alginato a una concentración comprendida generalmente entre 1 y 10% en agua para preparación inyectable.

2. Poner en suspensión la agarosa "Hight gelling" a una concentración comprendida generalmente entre 1 y 10%.

3. En un mezclador, llevar inmediatamente la mezcla a una temperatura superior a la temperatura de fusión de la agarosa homogeneizándola al mismo tiempo.

4. Colar el gel en los moldes para obturador precalentados a 50°C.

5. Dejar enfriar los moldes 30 minutos a 4°C y después desmoldear.

6. Sumergir los obturadores 12 horas en la solución CaCl₂ 100 mM.

7. Aclarar dos veces una hora los obturadores en un soluto fisiológico de calidad inyectable.

REIVINDICACIONES

1. Composición acuosa de polisacáridos gelificable y biocompatible constituida por una mezcla de por lo menos dos polisacáridos de los que uno es gelificable por vía química y el otro por vía térmica, **caracterizada** porque contiene unos extractos tisulares biológicos.

2. Composición según la reivindicación 1, **caracterizada** porque los extractos tisulares biológicos son unas células autólogas, alogénicas o xenogénicas.

3. Composición según la reivindicación 2, **caracterizada** porque las células autólogas, alogénicas o xenogénicas pertenecen al grupo de los condrocitos y otras células constitutivas del cartílago, al grupo de los osteoblastos u otras células constitutivas de los huesos, al grupo de las células musculares o de los fibroblastos.

4. Composición según la reivindicación 1, **caracterizada** porque contiene un principio activo farmacéutico solo o en mezcla.

5. Composición según la reivindicación 1, **caracterizada** porque contiene hueso esponjoso desmineralizado.

6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada** porque el polisacárido gelificable por vía química se selecciona de entre los alginatos o los quitosanos.

7. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada** porque el polisacárido gelificable por vía térmica se selecciona de entre la agarosa y el agar.

8. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada** porque los polisacáridos están presentes respectivamente en el gel a una concentración comprendida entre 0,5 y 10%.

9. Implante **caracterizado** porque es susceptible de ser obtenido por gelificación de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

10. Utilización de una composición acuosa de polisacáridos gelificable y biocompatible constituida por una mezcla de por lo menos dos polisacáridos de los que uno es gelificable por vía química y el otro por vía térmica para la preparación de implantes.

11. Utilización de una composición acuosa de polisacáridos gelificable y biocompatible constituida por una mezcla de por lo menos dos polisacáridos de los que uno es gelificable por vía química y el otro por vía térmica para la realización de un obturador femoral.

12. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 10 u 11, **caracterizada** porque el polisacárido gelificable por vía química se selecciona de entre los alginatos o los quitosanos.

13. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 10 u 11, **caracterizada** porque el polisacárido gelificable por vía térmica se selecciona de entre la agarosa y el agar.

14. Procedimiento de preparación de una composición acuosa de polisacáridos, gelificable y biocompatible, **caracterizado** porque comprende las etapas siguientes:

- solubilizar en agua el polisacárido gelificable por vía química,

- añadir el polisacárido gelificable por vía térmica y poner en solución por calentamiento,

- esterilizar y enfriar,

- obtener un gel intermedio parcialmente reticulado,

- solubilizar el gel intermedio por calentamiento,

- añadir los principios activos farmacéuticos y/o los extractos tisulares biológicos y/o hueso esponjoso desmineralizado,

- enfriar la mezcla obtenida para gelificación por vía térmica y moldeado,

- desmoldear y después gelificar por reticulación química mediante la puesta en contacto con una solución salina.

ES 2 325 313 T3

15. Procedimiento de preparación de un obturador femoral, **caracterizado** porque comprende por lo menos las etapas siguientes:

- solubilizar en agua el polisacárido gelificable por vía química,
- añadir el polisacárido gelificable por vía térmica y poner en solución por calentamiento,
- enfriar la mezcla obtenida para gelificación por vía térmica y moldeado,
- desmoldear y después gelificar por reticulación química mediante la puesta en contacto con una solución salina.