

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 975 487**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 31/675</b>	(2006.01) <b>C08L 5/12</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/704</b>	(2006.01) <b>A61K 9/14</b>	(2006.01)
<b>A61K 33/42</b>	(2006.01) <b>A61L 27/58</b>	(2006.01)
<b>A61K 33/06</b>	(2006.01) <b>A61L 27/24</b>	(2006.01)
<b>A61P 35/00</b>	(2006.01) <b>A61L 27/36</b>	(2006.01)
<b>A61L 27/20</b>	(2006.01) <b>A61L 27/54</b>	(2006.01)
<b>A61L 27/46</b>	(2006.01) <b>A61K 9/00</b>	(2006.01)
<b>C08L 1/26</b>	(2006.01)	
<b>C08L 5/02</b>	(2006.01)	
<b>C08L 5/08</b>	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.04.2019** **E 21198730 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2024** **EP 3964216**

54 Título: **Novedoso enfoque terapéutico mediante administración dirigida de cerámicas moduladas por moléculas bioactivas**

30 Prioridad:

**23.04.2018 EP 18168712**

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

**08.07.2024**

73 Titular/es:

**MOROXITE T AB (100.0%)  
Kung Oscars väg 11c  
222 35 Lund, SE**

72 Inventor/es:

**TÄGIL, MAGNUS;  
RAINA, DEEPAK BUSHAN y  
LIDGREN, LARS ÅKE ALVAR**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

ES 2 975 487 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

Novedoso enfoque terapéutico mediante administración dirigida de cerámicas moduladas por moléculas bioactivas

5 **Campo de la invención**

La presente divulgación se refiere a un método innovador para administrar uno o más compuestos farmacéuticos a un sujeto que lo necesite. Así, la invención se refiere a una hidroxiapatita en combinación con uno o más compuestos farmacéuticos para su uso en el tratamiento del cáncer como se define en las reivindicaciones.

10

**Antecedentes de la invención**

El uso de material cerámico en el contexto de la curación de fracturas y la remodelación ósea es conocido en la técnica. El tratamiento de defectos óseos de mayor tamaño resultantes de la erradicación de tumores, una infección o un traumatismo grave es una de las tareas más desafiantes en la cirugía ortopédica. A menudo incluye no sólo el rellenado físico del defecto sino que también tiene como objetivo inducir la regeneración de un injerto óseo o sustituto óseo en hueso vivo nuevo mediante la adición local de sustancias biológicamente activas en el hueso. Los biomateriales para la ingeniería de tejido óseo suelen tener una estructura porosa (micro o macroporosa), son bioabsorbibles y al mismo tiempo proporcionan suficiente estructura para permitir la formación de tejido y el crecimiento óseo hacia el interior (osteoconducción). Sin embargo, los biomateriales por sí solos todavía no han logrado inducir grandes cantidades de hueso en los defectos. Así, a menudo se combinan con factores de crecimiento como las proteínas morfogénicas óseas (PMO) que activan la vía de señalización inductora de hueso. Por el contrario, las PMO también pueden provocar una mayor formación de osteoclastos y una resorción ósea prematura, especialmente cuando se utiliza en dosis suprafisiológicas. Los bisfosfonatos reducen la resorción ósea mediada por PMO al unirse químicamente a la hidroxiapatita (HA), que induce la apoptosis en los osteoclastos a medida que estos reabsorben e internalizan el mineral óseo. El ácido zoledrónico (ZA) es un bisfosfonato de tercera generación y se ha utilizado clínicamente no solo para el tratamiento sistémico sino también local. Se ha informado que el tratamiento a largo plazo produce efectos adversos llamados huesos frágiles.

15

20

25

30

El uso de materiales cerámicos en donde se han absorbido o incrustado uno o más compuestos farmacéuticos también se ha empleado en diversas composiciones, por ejemplo como composiciones inyectables o preestablecidas para formulaciones de liberación controlada o prolongada. Ejemplos de los mismos son cerámicas que contienen antibióticos y citostáticos.

35

Sin embargo, cada nueva formulación debe someterse a pruebas clínicas y preclínicas exhaustivas, evaluación y documentación con respecto a, por ejemplo, la eficacia y la seguridad. Estos procedimientos consumen mucho tiempo y son costosos, y la presente invención resuelve, entre otros, estos problemas empleando formulaciones conocidas en un método innovador.

40

Es más, los tumores ampliamente diseminados con metástasis óseas principalmente de próstata, mama, riñón y el mieloma diseminado se tratan hoy principalmente con quimioterapia. En casos seleccionados se añaden inhibidores sistémicos de osteoclastos para limitar la destrucción ósea local.

45

Además de la radioterapia focalizada de alta intensidad procedente de haces externos, recientemente se ha introducido la radioterapia invasiva selectiva (SIRT). Los radioemisores de búsqueda de hueso también se encuentran en uso clínico temprano (administrados por vía intravenosa). Los efectos secundarios sistémicos limitan hasta cierto punto las posibilidades de administrar una dosis curativa alta para erradicar las metástasis óseas localizadas (que tienen una preferencia anatómica por la columna y la pelvis). Los emisores beta han podido reducir el dolor pero no mejorar la supervivencia. Los emisores alfa reducen el dolor y prolongan la supervivencia hasta aproximadamente un máximo de 6 meses, dependiendo de la etapa en la que se inicie el tratamiento.

50

Especialmente para el cáncer de próstata se ha introducido también la inyección local directa o la instalación en un tumor con radioemisores, la llamada braquiterapia. La ablación por calor por radiofrecuencia (RFA) (onda térmica) tiene ahora un uso clínico limitado como una alternativa mini invasiva a la erradicación quirúrgica de tumores en el esqueleto. El PMMA (acrilato/cemento óseo) se ha utilizado durante los últimos 20 años principalmente para metástasis vertebrales en combinación con estabilización instrumental. También se han tratado con PMMA otras localizaciones metafisarias y pélvicas. La combinación de RFA previa al aumento con cemento tiene la ventaja teórica de reducir la diseminación de células tumorales causada por extravasaciones cuando se utiliza el cemento. Las partículas de hidroxiapatita han mostrado un efecto citotóxico menor sobre las células tumorales óseas y con una respuesta positiva (conductora) sobre las células óseas normales. La adición de dosis más altas de ácido zoledrónico puede producir un efecto citostático claro pero limitado basado en la unión fuerte y duradera a la apatita. Una dosis más baja de ZA podría tener un efecto inverso y anabólico. Hay bisfosfonatos aprobados acoplados a radioemisores. Actualmente se estudian nanopartículas ferromagnéticas para quimioterapia localizada. (Magnetoterapia Tumoral). Se están desarrollando nuevos MAb (anticuerpos monoclonales), recientemente en melanoma metastásico y cáncer de pulmón. En la actualidad, existen empresas que inyectan sulfato de calcio simple con citostático en el cáncer de próstata en pacientes con una clase ASA, lo que hace que la cirugía mayor adicional tenga más riesgo. Sin embargo,

55

60

65

este efecto es a corto plazo ya que el sulfato se degrada en unos meses. Aún más convincente es, por supuesto, utilizar un sustituto óseo de apatita como vehículo del fármaco citostático y combinarlo con un radioemisor. A dosis altas, el tratamiento del tumor sistémico tiene efectos secundarios importantes y administrar tratamiento local es una posibilidad si el objetivo de una cirugía es una metástasis. Entonces se podrían alcanzar concentraciones muy altas sin efectos secundarios sistémicos. Hay varios candidatos a fármacos que podrían utilizarse para este fin.

Las infecciones musculoesqueléticas suponen una carga adicional para los gastos totales de atención sanitaria, que están aumentando más rápido que el producto interno bruto en Estados Unidos. El 0,5 -1 por ciento (hasta el 4 por ciento), de todos los implantes articulares primarios se infectan y está ligeramente en aumento y es 3 veces mayor para la cirugía de revisión. Kurtz *et al.* utilizaron la Muestra Nacional de Pacientes hospitalizados de EE. UU. (1990-2003) para demostrar que se prevé que el número de infecciones después de una artroplastia total de cadera de revisión aumente de 3.400 en 2005 a 46.000 en 2030, mientras que se prevé que las infecciones después de una artroplastia total de rodilla de revisión aumenten de 6.400 en 2005 a 175.500 en 2030 (Kurtz et al 2006). Los costes médicos directos totales asociados con la artroplastia total de cadera de revisión debido a una infección son 2,8 veces mayores que los asociados con la revisión debido al aflojamiento aséptico y 4,8 veces mayores que los costes médicos directos asociados con una artroplastia total de cadera primaria. Las infecciones periprotésicas también pueden volverse letales, con una tasa de mortalidad general que oscila entre el 1 % y el 2,7 % para pacientes de alrededor de sesenta y cinco años de edad y aumenta al 7 % para pacientes que tienen más de ochenta y cinco años.

En la técnica anterior, en la primera fase se retira el implante y se colocan espaciadores de PMMA o lechos con antibióticos durante 6-12 semanas. En una segunda fase se suele utilizar un implante cementado con un PMMA especial con antibióticos. Si se pudiera esperar tanto el aumento óseo como la erradicación de infecciones en un procedimiento no cementado de una sola etapa, esto sería rentable. Si se utiliza una prótesis no cementada en la segunda etapa, hoy en día no se utiliza ningún tratamiento local y aquí un material óseo antibiótico llena un hueco. Si se pudiera usar un antibiótico sistémicamente y por acumulación en la apatita actuara sinérgicamente con un vehículo cerámico precargado localmente que contenga antibióticos diferentes, esto podría reducir significativamente el riesgo de recurrencia. La presente invención aborda numerosos de los problemas mencionados anteriormente.

La técnica anterior relacionada se ilustra en el documento US 2017/056559, que se refiere a una composición bioactiva que comprende partículas sólidas, tales como, por ejemplo, partículas de fosfato de calcio, cargadas con un agente activo, preferentemente un agente osteoconductor/osteoinductor o un agente antirresortivo como un bisfosfonato. Las partículas cargadas con fármaco se incluyen en un vehículo que está compuesto, preferentemente, por una matriz polimérica, tal como, por ejemplo, un hidrogel a base de ácido hialurónico. La composición es particularmente útil para el tratamiento de defectos óseos, incluyendo afecciones patológicas relacionadas con los dientes, y particularmente para la regeneración/curación ósea. La composición puede aplicarse y/o inyectarse directamente *in situ* para realizar su acción sobre el defecto óseo. En el mismo también se divulga una composición farmacéutica que comprende la composición bioactiva.

El documento US 2018/055969 se refiere a un sustituto óseo cerámico bifásico que comprende una fase de sulfato de calcio reabsorbible y una fase de fosfato de calcio estable que actúa como un injerto óseo y un excelente vehículo para una combinación de proteínas activas en los huesos (por ejemplo, PMO) y agentes anticatabólicos (por ejemplo, bisfosfonatos), que dan una mejor regeneración ósea.

Raina, D. B., *et al.* Scientific Reports, publ. 18 May 2016, "A Biphasic Calcium Sulphate/Hydroxyapatite Carrier Containing Bone Morphogenic Protein-2 and Zoledronic Acid Generates Bone", se refiere a las propiedades del vehículo de un material cerámico bifásico de hidroxiapatita y sulfato de calcio, que contiene una combinación de proteína morfogénica ósea humana recombinante 2 (rhPMO-2) para inducir hueso, y ácido zoledrónico (ZA) para retrasar la resorción temprana.

Pignatello, R., *et al.*, "Synthesis and Biological Evaluation of a New Polymeric Conjugate and Nanocarrier with Osteotropic Properties", J. Funct. Biomater. 2012, vol. 3, pág. 79-99, se refiere a sistemas de administración de fármacos (ODDS) de búsqueda ósea (osteotrópicos) y agentes anticancerosos y antibacterianos que podrían aprovechar dicha estrategia terapéutica y en relación con un biomaterial osteotrópico, basado en la conjugación de un poli(lactida-co-glicólido) (PLGA) con el fármaco bisfosfonato alendronato (PLGA-ALE).

El documento US 6.767.550 se refiere a un material biorreabsorbible a base de hidroxiapatita que se incorpora con agentes anticancerosos para formar un implante utilizado para el tratamiento contra el cáncer. Se puede lograr la liberación sostenida de los agentes anticancerosos después de la implantación en los sitios objetivo. La dosis del agente anticanceroso, la microestructura, la morfología y la composición del material bioabsorbible permiten el control del perfil de liberación. El implante puede usarse para la administración de fármacos, quimioterapia o terapia génica.

El documento US 2014/302145 se refiere a una composición farmacéutica que puede producir un alto efecto antitumoral al administrar eficientemente un fármaco con actividad antitumoral a tejidos tumorales con la ayuda de nanopartículas de carbonato apatita. El documento proporciona una composición farmacéutica que incluye nanopartículas de carbonato apatita con un tamaño de partícula promedio de como máximo 50 nm que contiene un fármaco con actividad antitumoral y un disolvente farmacológicamente aceptable en el que se dispersan las

nanopartículas de carbonato apatita que contienen el fármaco.

El documento US 9.889.155 se refiere a un agente que potencia el efecto antitumoral de un agente anticanceroso al permitir la acumulación eficaz del agente anticanceroso en el tejido tumoral. La administración de carbonato apatita con el agente anticanceroso permite la acumulación eficaz del agente anticanceroso en el tejido tumoral para potenciar espectacularmente el efecto antitumoral del agente anticanceroso.

Kundu, B., *et al.*, *Ceramics International*, 2013, 39 (8), págs. 9557-9566, "Doxorubicin-intercalated nano-hydroxyapatite drug-delivery system for liver cancer: An animal model", se refiere a una investigación en donde se desarrolló un sistema de administración de fármacos a base de hidroxiapatita (HAp) de tamaño nanométrico con hidroxiapatita (HAp) de tamaño nanométrico (tamaños 5-30 nm) y se sintetizó con una relación molar Ca/P de 1,67. Después de una minuciosa caracterización *in vitro*, estas nanopartículas de HAP se cargaron/intercalaron con DOX (50-60 % de eficiencia de encapsulación) y se realizó una caracterización exhaustiva del tamaño, la forma y la morfología de las partículas.

El documento CN 104 958 766 se refiere a una nanopartícula de hibridación de alginato de sodio-hidroxiapatita. La nanopartícula de hibridación de alginato de sodio-hidroxiapatita comprende, en masa, 65 %-99,5 % de hidroxiapatita y 0,5 %-35 % de alginato de sodio, la nanopartícula de hibridación de alginato-hidroxiapatita de sodio tiene forma de aguja, la longitud de la aguja varía de 10 nm a 70 nm y el ancho de la aguja varía de 3 nm a 20 nm.

Sarkar, C., *et al.*, *Carbohydrate Polymers*, 2017, 181, pág. 710-718, "One pot synthesis of carbon dots decorated carboxymethyl cellulose-hydroxyapatite nanocomposite for drug delivery, tissue engineering and Fe<sup>3+</sup> ion sensing", se refiere a nanocompuestos de carboximetilcelulosa-hidroxiapatita conjugados con puntos de carbono sintetizados mediante el método de síntesis en un solo recipiente y utilizados para múltiples aplicaciones como detección de iones metálicos, actividad osteogénica, formación de imágenes biológicas y vehículo de fármacos. La estructura y la morfología del nanocompuesto se caracterizaron sistemáticamente mediante FTIR, XRD, TGA, FESEM, TEM y DLS.

### Sumario de la invención

La presente divulgación se refiere al uso de un material, que es hidroxiapatita que además puede consistir en uno o más materiales, tal como, por ejemplo, un material bifásico o trifásico. El material puede ser adecuado preestablecido o inyectable, es decir, que permite la administración a un sujeto a través de un tubo o cánula de cualquier tipo.

El material es un material o combinación de varios materiales que forman diferentes fases y se seleccionan entre hidroxiapatita (HA). Dicho material puede usarse solo o en combinación con componentes adicionales, tales como, por ejemplo, sulfato de calcio (ya sea como hemihidrato y/o dihidrato), colágeno, alginato, celulosa, ácido poliláctico, es decir, polímeros de origen natural o sintético. La característica importante del material es que debe estar finamente dividido en micro o nanopartículas para proporcionar una superficie efectiva muy grande. Esto puede lograrse mediante cualquier técnica adecuada conocida en la técnica para crear partículas pequeñas tales como, por ejemplo, mediante molienda. Como se menciona en el presente documento, dichas partículas finamente divididas pueden usarse sin adición de materiales adicionales o pueden dispersarse en un segundo o tercer material. Las partículas dispersas o mezcladas con un segundo o más material, en donde el segundo o más materiales son parcial o totalmente bioabsorbibles. Por consiguiente, el material según la invención comprende al menos un primer componente que no es biorreabsorbible o muy lentamente biorreabsorbible que en el contexto de la presente invención es hidroxiapatita. Este material puede comprender opcionalmente al menos un segundo material que sea biorreabsorbible a un ritmo mayor que el primer material.

La invención también se refiere al uso de uno o más compuestos farmacéuticamente activos, que son fármacos contra el cáncer.

En un aspecto, la invención se refiere a una composición para su uso en el tratamiento del cáncer, comprendiendo dicho uso las etapas de:

- i) administrar a un sujeto que lo necesite un primer material que es hidroxiapatita en una mezcla de micropartículas en un tamaño de 1  $\mu\text{m}$  a 10  $\mu\text{m}$ , y nanopartículas en un intervalo de 40 nm a 100 nm, que opcionalmente puede comprender al menos un segundo material, en donde el segundo material o materiales son biorreabsorbibles a una velocidad mayor que la hidroxiapatita,
- ii) dejar pasar un cierto período de tiempo para permitir que el primer material particulado quede expuesto al cuerpo cuando el segundo material o materiales estén presentes, permitiendo así que el segundo material sea total o parcialmente absorbido por el cuerpo del sujeto,
- iii) administrar al sujeto uno o más fármacos anticancerosos, en donde, el primer material está opcionalmente precargado o empapado con uno o más compuestos farmacéuticamente activos y el segundo material está opcionalmente precargado o empapado con uno o más compuestos farmacéuticamente activos.

Entre los muchos problemas resueltos por la presente invención, se ha observado que una de las ventajas de la presente invención es, entre otras cosas, que también el uso de un antibiótico que contiene HA/CaS como vehículo de fármacos tumorales en el hueso en combinación con la erradicación del tumor y la liberación local de antibióticos

previene así la infección que es más común en las enfermedades malignas.

Por tanto, la posibilidad de administrar en una o más ocasiones un antibiótico adicional aprobado o un agente tumoral sistémico si se puede demostrar que se une a un fármaco de hidroxiapatita insertado en el tumor que ya puede contener un citostático es convincente y novedosa.

Los inventores han demostrado que la HA retiene y libera un agente farmacéutico durante un período prolongado (3 meses de rifampicina) y retiene la sustancia incluso a los 6 meses (con ácido zoledrónico). Esto es muy diferente en comparación con los métodos de la técnica anterior con sulfatos, que libera un agente farmacéutico durante unos meses.

## Figuras

La figura 1 ilustra las regiones de interés (Rdl) utilizadas para la cuantificación de la formación ósea alrededor del implante.

La figura 2 ilustra los resultados de la micro-CT del estudio del implante 6 semanas después de la implantación. El gráfico de la izquierda muestra los resultados de la primera región de interés (Rdl), que se eligió para que estuviera inmediatamente alrededor de los orificios del implante. La imagen de la derecha presenta datos de la Rdl 2, que cuantificó el crecimiento óseo en toda la profundidad de la cámara. La cantidad de formación ósea fue significativamente mayor en los grupos G2 (ZA sistémico) y G3 (ZA local) en comparación con G1 (solo implante) valor  $p < 0,01$  (Figura 2). No se observaron diferencias en G2 y G3 en la Rdl 1, pero la formación ósea fue mayor en G3 en comparación con G2 en la Rdl 2.

La figura 3 ilustra los resultados de la prueba de extracción del implante de tibia. Se observó una fuerza máxima estadísticamente significativa para extraer el implante de la tibia en los grupos G2 (ZA sistémico) y G3 (ZA local) en comparación con el grupo de implante único G1 ( $p < 0,01$ ) (Figura 3). No se observaron diferencias en la rigidez. La energía absorbida fue significativamente mayor en el grupo de ZA local (G3) en comparación con el grupo de implante único (G1) ( $p < 0,05$ ).

La figura 4 ilustra imágenes histológicas del modelo de implante de tibia. \* verifica el tejido óseo. Las imágenes se toman con un aumento de 40X y se toman imágenes del hueso formado cerca del implante.

La figura 5 ilustra la captación de  $^{14}\text{C}$ -ZA en el biomaterial de CaS/HA colocado en el modelo de bolsa de músculo ectópico y la comparación de los recuentos radiactivos con el músculo circundante, lo que verifica que el ZA radiactivo busca el biomaterial a base de apatita fuera del hueso y verifica los hallazgos del modelo de implante óseo en el Ejemplo 1.

La figura 6 ilustra la captación de  $^{14}\text{C}$ -ZA en el biomaterial de CaS/HA colocado en el canal del cuello femoral de ratas osteoporóticas, 6 meses después de la implantación, confirmando que  $^{14}\text{C}$ -ZA busca y permanece en el material de apatita durante al menos 6 meses después de la inyección.

La figura 7 ilustra la captación de tetraciclina en el biomaterial de CaS/HA colocado en el modelo de bolsa de músculo abdominal. Se nota la ausencia de señal del músculo adyacente.

La figura 8 ilustra la evaluación basada en micro-CT y PET de la Captación del trazador de fluoruro  $^{18}\text{F}$  en el biomaterial de CaS/HA colocado en el modelo de bolsa de músculo abdominal, 2 semanas después de la implantación. Los 3 paneles superiores muestran una imagen de TC simple utilizada para identificar el gránulo en la bolsa muscular, la imagen PET del mismo corte indica la captación del trazador y una superposición de la imagen DE CT y PET que confirma la fuente del material de la señal (CaS/HA), respectivamente.

La figura 9 ilustra datos que indican la dependencia del tamaño de la apatita en la captación de fármacos.

La figura 10 ilustra la posibilidad de recargar partículas de apatita con el fármaco modelo, ácido zoledrónico, mediante la administración repetida del fármaco.

La figura 11 ilustra los resultados del experimento de citotoxicidad *in vivo* utilizando nanopartículas de apatita y nanopartículas de apatita acopladas con ZA (ácido zoledrónico).

La figura 12 ilustra la liberación *in vivo* de los antibióticos sin unión gentamicina (arriba) y vancomicina (abajo) a partir de un biomaterial de CaS/HA de pacientes humanos.

La figura 13 ilustra la elución a largo plazo de gentamicina durante un período de 2 meses. Comparación con PMMA que contiene gentamicina. La línea de tendencia muestra que el material de apatita/sulfato libera gentamicina a las 4 semanas.

La figura 14 ilustra la liberación *in vitro* de isoniazida a partir del biomaterial de CaS/HA

La figura 15 ilustra la liberación *in vitro* del antibiótico rifampicina desde el biomaterial de CaS/HA durante un período de 12 semanas.

5 La figura 16 ilustra la unión de doxorubicina a partículas de apatita dependiente de la concentración de partículas de hidroxiapatita.

10 La figura 17 ilustra imágenes de microscopia de fluorescencia que confirman la unión de doxorubicina a partículas de apatita.

La figura 18 ilustra la liberación *in vitro* de doxorubicina a partir de biomaterial de CaS/HA durante un período de 4 semanas.

15 La figura 19 ilustra los resultados de la unión de doxorubicina *in vivo* a partículas de apatita implantadas en la bolsa del músculo abdominal 2 semanas después de la implantación y analizados usando microscopía fluorescente.

20 La figura 20 ilustra la estructura de los agentes estudiados de ácido zoledrónico, rifampicina y doxorubicina y los grupos hidroxilo libres en su estructura química.

La figura 21 ilustra la estructura cristalina de hidroxiapatita con posibles sitios de unión en la red.

25 La figura 22 ilustra las simulaciones de modelado de elementos finitos que indican el efecto del lugar de inyección del biomaterial de CaS/HA sobre el aumento de la resistencia (indicado entre paréntesis).

La figura 23 ilustra un método para inyectar el biomaterial de CaS/HA en la cabeza femoral de especímenes humanos.

30 La figura 24 ilustra la configuración utilizada para la prueba de extracción del tornillo canulado de cabezas femorales humanas.

La figura 25 ilustra una barra fija prefabricada de CaS/HA que se puede insertar en un tornillo canulado o canulado/fenestrado para proporcionar un resto de apatita de reclutamiento para diferentes fármacos que buscan apatita.

35 La figura 26 ilustra un esquema de cómo administrar de forma no invasiva material a base de hidroxiapatita en el hueso para aplicaciones espinales.

La figura 27 ilustra un caso clínico que indica las ventajas de tener una matriz a base de apatita que actúa como resto buscador de antibióticos y agentes activos óseos.

40 **Descripción detallada de la invención**

Como se ha mencionado anteriormente, la presente divulgación se refiere al uso de uno o más materiales, en donde un material es HA. En el contexto de la invención, el material debe tener al menos un componente que no sea bioabsorbible o que sea bioabsorbible muy lentamente.

50 Por el término "biorreabsorbible" o "biorreabsorbible" se entiende un material que puede ser descompuesto y absorbido por el cuerpo y, por lo tanto, no necesita ser eliminado manualmente. Dicho material puede, por ejemplo, estar integrado por el cuerpo, es decir, integrarse en el tejido óseo o ser metabolizado de otro modo por el organismo.

55 Un ejemplo es la apatita o hidroxiapatita (HA). Este material es lentamente bioabsorbible y eventualmente puede integrarse en el tejido óseo del sujeto. Este material puede tener una microestructura total o parcialmente cristalina. Otra característica es que este material según la invención está finamente dividido en pequeñas partículas que pueden ser micropartículas o incluso nanopartículas. Como consecuencia de las mismas, la superficie efectiva de una cierta cantidad de dicho material es muy grande. Cabe señalar que, según la invención, el material descrito anteriormente puede denominarse primer material. El primer material es HA (hidroxiapatita) que se puede mezclar, por ejemplo, con hueso esponjoso o cualquier otro material sustituto óseo adecuado.

60 Como se ha mencionado anteriormente, este material es absorbido muy lentamente por el organismo.

Típicamente, el periodo de absorción puede estar en el intervalo de meses y a partir de 2 meses, tal como 3 meses, tal como 4 meses, tal como 6 meses, tal como 8 meses, tal como 10 meses, tal como 12 meses, tal como 18 meses o 2 años, o tal como, por ejemplo, varios años después de la administración al sujeto.

65 En un aspecto, el primer material es absorbido muy lentamente por el organismo, tal como 6 meses, tal como 8 meses, tal como 10 meses, tal como 12 meses, tal como 18 meses, tal como 2 años o entre aproximadamente 6 meses y

aproximadamente 2 años después de la administración al sujeto. En un aspecto adicional, el primer material es absorbido muy lentamente por el organismo, tal como de 6 meses a aproximadamente 2 años.

5 Opcionalmente, el primer material puede mezclarse con un segundo material. El segundo material puede comprender un componente o pueden ser mezclas de varios componentes. La relación entre el primer material y el segundo material es tal que el segundo material es absorbido por el cuerpo del sujeto a una velocidad mayor que el primer material. Ejemplos de un segundo material es uno o más de fibrogeno, dextrano, ácido hialurónico, sulfato de calcio (hemihidrato y/o dihidrato), colágeno, diversas formas de celulosa tales como carboximetilcelulosa (CMC) o CMC de sodio u otros polisacáridos tales como, por ejemplo, agarosa. Estos materiales suelen ser absorbidos por el cuerpo en  
10 unos pocos días, semanas o meses, tal como 1 día, tal como 2 días, tal como 3 días, tal como 4 días, tal como 5 días, tal como 6 días, tal como 7 días, tal como 8 días, tal como 9 días, tal como 10 días, tal como 11 días, tal como 12 días, tal como 13 días, tal como 2 semanas, tal como 3 semanas, tal como 4 semanas, tal como 5 semanas, tal como 6 semanas, tal como 7 semanas, tal como 2 meses, tal como 3 meses o tal como 4 meses.

15 En un aspecto, el segundo material suele ser absorbido por el cuerpo del sujeto en 1 día, tal como 2 días, tal como 3 días, tal como 4 días, tal como 5 días, tal como 6 días, tal como 7 días, tal como 8 días, tal como 9 días, tal como 10 días, tal como 11 días, tal como 12 días, tal como 13 días, tal como 2 semanas, tal como 3 semanas, tal como 4 semanas, tal como 5 semanas, tal como 6 semanas después de la administración al sujeto.

20 En un aspecto más, el segundo material normalmente es absorbido por el cuerpo del sujeto en un plazo de 1 día a aproximadamente 6 semanas después de la administración al sujeto. En un aspecto, el segundo material normalmente es absorbido por el cuerpo del sujeto en un plazo de aproximadamente 6 semanas después de la administración al sujeto.

25 En otro aspecto más, cuando la composición comprende un primer y un segundo material, el primer material es absorbido muy lentamente por el organismo, tal como, por ejemplo, en el intervalo de semanas, meses e incluso años, tal como 2 semanas, tal como 3 semanas, tal como 4 semanas, tal como 5 semanas, tal como 6 semanas, tal como 7 semanas, tal como 2 meses, tal como 3 meses, tal como 4 meses, tal como 6 meses, tal como 8 meses, tal como 10 meses, tal como 12 meses, tal como 18 meses, tal como 2 años o tal como, por ejemplo, varios años, y en donde el  
30 cuerpo suele absorber el segundo material en unos pocos días, semanas o meses, tal como 1 día, tal como 2 días, tal como 3 días, tal como 4 días, tal como 5 días, tal como 6 días, tal como 7 días, tal como 8 días, tal como 9 días, tal como 10 días, tal como 11 días, tal como 12 días, tal como 13 días, tal como 2 semanas, tal como 3 semanas, tal como 4 semanas, tal como 5 semanas, tal como 6 semanas, tal como 7 semanas, tal como 2 meses, tal como 3 meses o tal como 4 meses.

35 En un aspecto más, cuando la composición comprende un primer y un segundo material, el primer material es absorbido muy lentamente por el organismo, tal como 6 meses, tal como 8 meses, tal como 10 meses, tal como 12 meses, tal como 18 meses, tal como 2 años o entre aproximadamente 6 meses y aproximadamente 2 años después de la administración al sujeto, y en donde el segundo material normalmente es absorbido por el cuerpo del sujeto en  
40 el plazo de 1 día, tal como 2 días, tal como 3 días, tal como 4 días, tal como 5 días, tal como 6 días, tal como 7 días, tal como 8 días, tal como 9 días, tal como 10 días, tal como 11 días, tal como 12 días, tal como 13 días, tal como 2 semanas, tal como 3 semanas, tal como 4 semanas, tal como 5 semanas, tal como 6 semanas, o en el plazo de 1 día a aproximadamente 6 semanas después de la administración al sujeto.

45 El material, siendo un material monofásico o mezclas de varias fases, puede formularse en cualquier forma, tal como, por ejemplo, un líquido tal como, por ejemplo, una suspensión o solución, forma de pasta, formulación semisólida o sólida. El primer material puede estar disperso en el segundo material, de tal manera que la HA (hidroxiapatita) se dispersa o se mezcla en una pasta de sulfato de calcio (CaS). Las formulaciones sólidas pueden estar en cualquiera de tales como, por ejemplo, comprimidos, gránulos, perlas, barras, etc. de cualquier tamaño adecuado, de tal manera  
50 que permitan la implantación en el cuerpo del sujeto o la inyección en el cuerpo del sujeto. Con respecto a composiciones líquidas o semisólidas, estas pueden administrarse al sujeto mediante inyección o cualquier otro medio adecuado. La composición que comprende el primer y opcionalmente un segundo material puede ser tal que una vez administrada al sujeto, la composición cura hasta formar un sólido en el lugar de administración. La administración de la composición puede realizarse adecuadamente en el lugar del cuerpo que necesita tratamiento, tal como en o cerca  
55 de un hueso fracturado o enfermo o cerca de un tumor.

La composición para su uso según la invención comprende además un compuesto farmacéutico, de modo que el material o composición según la invención que se administra al sujeto comprende hidroxiapatita y, opcionalmente, un  
60 segundo material, y un compuesto farmacéuticamente activo que es uno o más fármacos anticancerosos.

65 En un aspecto, la composición farmacéutica que se administra al sujeto puede ser un compuesto farmacéutico que muestre alta afinidad por el primer material. Dicha composición farmacéutica se puede conjugar o derivatizar adicionalmente con un compuesto farmacéutico adicional que puede tener afinidad muy baja o nula por el primer material. Dicha composición farmacéutica adicional puede estar unida de forma covalente o unida de forma indirecta o en complejo con un compuesto farmacéutico que muestre una alta afinidad por el primer material. El primer material según la invención es HA (hidroxiapatita). Un compuesto farmacéutico adecuado que tiene alta afinidad por HA pueden

5 ser los bisfosfonatos. En este caso, el bisfosfonato puede conjugarse adicionalmente o derivatizarse con, por ejemplo, un antibiótico, fármaco anticanceroso, compuesto fluorescente o un radioemisor. El radioemisor puede ser uno o más compuestos iguales o diferentes y puede ser, por ejemplo, un compuesto radiante de partículas alfa o beta o una combinación de los dos. En tales casos, el método puede usarse para el tratamiento local de cáncer en cualquier tejido.

10 Una vez que el material o composición según la invención ha sido administrado al sujeto, el segundo material (en caso de que esté presente) es absorbido por el cuerpo o se erosiona en el cuerpo del sujeto para exponer la estructura de partículas finas o el primer material que tiene un área superficial efectiva muy alta. El período durante el cual tiene lugar la absorción o erosión del segundo material varía con el material utilizado como segundo material. Por lo tanto, el período en cuestión puede ser de al menos unas pocas horas, o en el plazo de 1 día, tal como 2 días, tal como 3 días, tal como 4 días, tal como 5 días, tal como 6 días, tal como 7 días, tal como 8 días, tal como 9 días, tal como 10 días, tal como 11 días, tal como 12 días, tal como 13 días, tal como 2 semanas, tal como 3 semanas, tal como 4 semanas, tal como 5 semanas, tal como 6 semanas, o en el plazo de 1 día a aproximadamente 6 semanas después de la administración al sujeto. Después del período de absorción del segundo material, se pueden administrar al sujeto 15 una o más composiciones farmacéuticas. Por consiguiente, se pueden administrar una o más composiciones farmacéuticas después de al menos unas pocas horas, o en el plazo de 1 día, tal como 2 días, tal como 3 días, tal como 4 días, tal como 5 días, tal como 6 días, tal como 7 días, tal como 8 días, tal como 9 días, tal como 10 días, tal como 11 días, tal como 12 días, tal como 13 días, tal como 2 semanas, tal como 3 semanas, tal como 4 semanas, tal como 5 semanas, tal como 6 semanas o en el plazo de 1 día a aproximadamente 6 semanas después de que se haya administrado al sujeto el primer y/o segundo material. 20

25 La una o más composiciones farmacéuticas se pueden administrar una o más veces, tal como, por ejemplo, 2 o más veces, 3 o más veces, 4 o más veces, 5 o más veces, 6 o más veces, 7 o más veces, 8 o más veces, 9 o más veces, 10 o más veces.

30 La una o más composiciones farmacéuticas pueden comprender dos o más principios activos diferentes, tales como 3 o más, 4 o más o 5 o más. Dichos principios activos pueden mostrar diferentes afinidades hacia el primer y el segundo material.

35 En el régimen relacionado con la administración de una o más composiciones farmacéuticas, la composición farmacéutica puede comprender uno o más principios activos iguales o diferentes en el primer momento de la administración, mientras que en una segunda administración, la composición farmacéutica puede comprender uno o más principios activos iguales o diferentes, que son opcionalmente diferentes de los administrados en el primer momento u ocasión de administración de una composición farmacéutica.

40 Transcurrido el período en el que se haya producido la absorción o erosión del segundo material, se administra un compuesto farmacéutico adecuado. Cabe señalar que existen numerosos ejemplos en la técnica anterior sobre la administración rutinaria de, por ejemplo, antibióticos administrados después y/o antes de la operación. Sin embargo, el objetivo de dicho procedimiento en la técnica anterior es simplemente prevenir la infección que puede surgir tras la inserción de, por ejemplo, un implante en el cuerpo de un sujeto. Por el contrario, los inventores de la presente invención han descubierto sorprendentemente que la administración sistémica de ciertos compuestos/composiciones farmacéuticas buscará la composición según la presente invención, es decir, el primer y opcionalmente segundo material, una vez que la superficie activada del primer material está quedando expuesta por la erosión del segundo material. 45

50 Como se ha mencionado anteriormente, los inventores de la presente invención han descubierto sorprendentemente que al administrar el material o composición a un sujeto y después dejar pasar un cierto período, es posible administrar posteriormente un compuesto farmacéutico al sujeto. Asimismo, los inventores han descubierto que el compuesto farmacéutico se puede administrar de la manera convencional que es estándar para el compuesto o composición farmacéutica en cuestión, tal como, por ejemplo, administración oral o intravenosa. De este modo, el compuesto farmacéutico entrará en la circulación sistémica del sujeto pero se concentrará y será atraído por el primer material con una superficie elevada expuesta. Por consiguiente, el método innovador puede verse como un tratamiento dirigido al sitio en el que uno o más compuestos farmacéuticamente activos buscan y se unen directa o indirectamente o se concentran en el sitio o superficie del primer material. Por consiguiente, la presente divulgación permite un tratamiento más eficaz que permite que nuevos regímenes de tratamiento basados en compuestos farmacéuticos activos conocidos se administren de la forma convencional ya aprobada por las autoridades y, en consecuencia, omita algunos de los requisitos de pruebas clínicas y evaluación de una composición que no ha sido aprobado por las autoridades, es decir, donde el compuesto farmacéutico se formula de una manera novedosa y también posiblemente para administrarse de una manera no probada previamente. 60

65 Una consecuencia adicional de la presente invención es que el método innovador divulgado en el presente documento proporciona una mayor concentración de la composición farmacéutica en el sitio en cuestión, es decir, la concentración de la composición farmacéutica aumenta en el sitio debido a la afinidad quimiotáctica con el primer material y una superficie altamente activada.

El uno o más compuestos farmacéuticos según la invención pueden ser, en principio, cualquier compuesto farmacéutico que muestre afinidad por el primer material utilizado en la composición según la invención. En un aspecto, el compuesto farmacéutico puede ser cualquier compuesto farmacéutico que muestre afinidad por las partículas de hidroxipatita.

5 Como se ha mencionado anteriormente, el tratamiento puede comprender el uso de una o más clases iguales o diferentes de compuestos farmacéuticos. Estos pueden administrarse de forma simultánea o secuencial en cualquier orden según sea necesario o se considere necesario.

10 En un aspecto, el segundo material puede mezclarse o precargarse con un compuesto farmacéutico que opcionalmente muestra una alta afinidad por el segundo material, y luego mezclarse adicionalmente con el primer material. Asimismo, como alternativa, el primer material puede mezclarse o exponerse a un compuesto farmacéutico que muestre alta afinidad con el primer material. Los materiales primero y segundo mencionados anteriormente pueden mezclarse y administrarse al sujeto que lo necesite. Esto permite un régimen de tratamiento en el que se permite que un compuesto farmacéutico se libere muy lentamente de la composición según la invención (el primer material), mientras que un compuesto farmacéutico se libera relativamente rápido del segundo material que se erosiona relativamente rápidamente en el cuerpo del sujeto en cuestión. En un aspecto, el primer material es hidroxipatita y el segundo material puede ser sulfato de calcio.

20 Tal como se indica en el presente documento, la presente invención se refiere a una composición para su uso en el tratamiento del cáncer que comprende un primer material particulado, en donde el material está en partículas de tamaño micro y nano. El material puede estar precargado o no con un compuesto farmacéutico. Dichas partículas pueden administrarse como una suspensión o dispersarse de otro modo en cualquier disolvente adecuado tal como, por ejemplo, como solución salina, que es adecuadamente una solución salina fisiológica. Dicha composición se puede utilizar para diversas aplicaciones tales como, por ejemplo, administración dentro o cerca de un tumor, donde las partículas penetrarán en las células bacterianas o cancerosas para ejercer su acción.

30 El compuesto farmacéutico puede ser un bisfosfonato tal como, por ejemplo, ácido zoledrónico, ácido etidróico, ácido clodrónico, ácido tiludrónico, ácido pamidrónico, ácido neridrónico, ácido olpadrónico, ácido alendrónico, ácido ibandrónico, ácido risendrónico o cualquier elemento adecuado del mismo. El bisfosfonato también puede ser una sal en donde está presente un compuesto radiactivo o un compuesto radiactivo tal como  $^{99}\text{Tc}$  o  $^{223}\text{Ra}$  o estroncio o samario.

35 Se pueden emplear otros agentes, por ejemplo compuestos que son visibles por rayos X o detectables por medios estándar tales como, por ejemplo, fluorescencia o RM o compuestos utilizados en PET-CT. Un ejemplo son, por ejemplo, compuestos que comprenden  $^{18}\text{F}$  como por ejemplo  $\text{Na}^{18}\text{F}$  o fluorodesoxiglucosa ( $^{18}\text{F}$ ).

40 Con respecto a la composición para su uso de acuerdo con la invención, debe entenderse que la administración del material o compuesto puede realizarse en cualquier tejido tal como cualquier tejido u órgano blando o puede administrarse cerca de tejido óseo o dentro de él.

45 Con respecto a la composición para su uso de acuerdo con la invención, debe entenderse que se puede emplear cualquier método de administración convencional que haya sido previamente aprobado por las autoridades clínicas. Si, por ejemplo, un fármaco ha sido aprobado para administración oral, se puede emplear la misma vía de administración según la invención. Así, la administración generalmente da como resultado que el compuesto farmacéuticamente activo entre en la circulación sistémica del sujeto. Como se ha mencionado previamente, la administración puede ser, por ejemplo, oral o intravenosa.

50 En otro aspecto de la invención, el compuesto farmacéuticamente activo se puede administrar cerca o dentro, por ejemplo, de un implante. En tales casos, el compuesto farmacéuticamente activo puede depositarse en cualquier forma de formulación y ser, por ejemplo, inyectado cerca del implante o depositado en la superficie de un tornillo, o absorbido en cualquier vehículo adecuado que se inserte en las cavidades del implante. El tornillo puede romperse después de la inserción en el implante.

55 Como se menciona en el presente documento, el primer material utilizado según la invención tiene que estar en un estado sólido finamente dividido, tal como, por ejemplo, en pequeñas partículas para proporcionar una superficie altamente efectiva. El primer material puede ser tal que 1 ml del material contenga al menos 0,5 millones de partículas, tal como, por ejemplo, al menos 1 millón de partículas, tal como, por ejemplo, al menos 2 millón de partículas, tal como, por ejemplo, al menos 3 millón de partículas, tal como, por ejemplo, al menos 4 millón de partículas, tal como, por ejemplo, al menos 5 millones de partículas o tal como, por ejemplo, al menos 10 millones de partículas. El primer material según la invención es apatita o hidroxipatita.

En un aspecto, las partículas del primer material están en el intervalo de 1  $\mu\text{m}$  a 10  $\mu\text{m}$ .

65 Se ha descubierto sorprendentemente que las partículas de tamaño micro muestran una mayor afinidad por un fármaco administrado que las partículas de tamaño mayor o menor que las partículas de tamaño micro del primer material. El

fármaco puede administrarse adecuadamente por vía sistémica.

En una realización preferida, el fármaco se puede administrar una vez y sólo una vez y las partículas en el primer material son partículas de tamaño micro.

Como se menciona en el presente documento, el fármaco o fármacos administrados pueden administrarse varias veces en diferentes ocasiones según lo consideren necesario los médicos.

En un aspecto, el tamaño de las partículas puede estar en intervalo de 40 nm a 100 nm.

Sorprendentemente, los inventores de la presente invención han descubierto que en aquellos casos en los que se considera necesaria la administración múltiple de un fármaco o fármacos, la afinidad hacia las partículas de tamaño nanométrico en el primer material es mayor para las partículas de tamaño nanométrico en el sentido de que tras la administración adicional (es decir, administración repetida) de una o más composiciones farmacéuticas, las partículas de tamaño nanométrico del primer material muestran una mayor afinidad que las partículas de tamaño micro más grandes. Por tanto, parece que la administración repetida de uno o más compuestos farmacéuticos recarga las partículas nanométricas del primer material.

Así, en un aspecto, la composición según la invención puede comprender sólo un primer material como se divulga en el presente documento. Como se menciona en el presente documento, el primer material es HA. El primer material puede ser una mezcla de partículas de tamaño micro y partículas de tamaño nano como se menciona en el presente documento y en consecuencia puede ser una mezcla de partículas de tamaño micro o partículas de tamaño nano, o una combinación de partículas de tamaño micro y partículas de tamaño nano. Por ejemplo, las partículas de tamaño micro pueden estar en el intervalo de 1  $\mu\text{m}$  a 10  $\mu\text{m}$ , y en donde las partículas de tamaño nanométrico pueden estar en el intervalo de 40 nm a 100 nm.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición que comprende un primer y un segundo material como se describe en el presente documento. El primer material puede ser una mezcla de partículas de tamaño micro y partículas de tamaño nano como se menciona en el presente documento. En un ejemplo, el primer material puede ser una mezcla de partículas de tamaño micro y partículas de tamaño nano como se menciona en el presente documento y en consecuencia puede ser una mezcla de partículas de tamaño micro o partículas de tamaño nano, o una combinación de partículas de tamaño micro y partículas de tamaño nano. Por ejemplo, las partículas de tamaño micro pueden estar en el intervalo de 1  $\mu\text{m}$  a 10  $\mu\text{m}$ , y en donde las partículas de tamaño nanométrico pueden estar en el intervalo de 40 nm a 100 nm.

En una composición según la invención pueden estar presentes diversas proporciones y relaciones entre la cantidad de partículas de tamaño micro y nano. Por ejemplo, la relación entre los diversos tamaños de partícula puede estar en el intervalo de aproximadamente el 1 % (% en peso) a aproximadamente el 99,9 % (% en peso) entre partículas de tamaño nano:micro, tal como del 10 % a aproximadamente el 90 %, de aproximadamente el 15 % a aproximadamente el 85 %, de aproximadamente el 20 % a aproximadamente el 80 %, de aproximadamente el 25 % a aproximadamente el 75 %, de aproximadamente el 30 % a aproximadamente el 70 %, de aproximadamente el 35 % a aproximadamente el 65 %, de aproximadamente el 40 % a aproximadamente el 60 %, de aproximadamente el 45 % a aproximadamente el 55 % o de aproximadamente el 50 % a aproximadamente el 50 %, de aproximadamente el 55 % a aproximadamente el 45 %, de aproximadamente el 60 % a aproximadamente el 40 %, de aproximadamente el 65 % a aproximadamente el 35 %, de aproximadamente el 70 % a aproximadamente el 30 %, de aproximadamente el 75 % a aproximadamente el 25 %, de aproximadamente el 80 % a aproximadamente el 20 %, de aproximadamente el 85 % a aproximadamente el 15 %, de aproximadamente el 90 % a aproximadamente el 10 %, de aproximadamente el 95 % a aproximadamente el 5 %, o de aproximadamente el 99,9 % a aproximadamente el 1 %. En un aspecto, la proporción o relación es de aproximadamente 50 % a aproximadamente 50 % entre partículas de tamaño nano:micro.

En otro aspecto, los inventores de la presente invención han descubierto que una cierta cantidad del primer material es capaz de unirse a una cierta cantidad del fármaco o fármacos administrados. En un ejemplo, el primer material es hidroxiapatita. La cantidad del primer material puede ser, por ejemplo, al menos aproximadamente 1 mg, tal como, por ejemplo, al menos aproximadamente 5 mg, tal como, por ejemplo, al menos aproximadamente 10 mg, tal como, por ejemplo, al menos aproximadamente 15 mg, tal como, por ejemplo, al menos aproximadamente 20 mg, tal como, por ejemplo, al menos aproximadamente 25 mg, tal como, por ejemplo, al menos aproximadamente 30 mg, tal como, por ejemplo, al menos aproximadamente 35 mg, tal como, por ejemplo, al menos aproximadamente 40 mg, tal como, por ejemplo, al menos aproximadamente 45 mg, tal como, por ejemplo, al menos aproximadamente 50 mg. Como alternativa, la cantidad del primer material puede estar en el intervalo de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 50 mg, tal como, por ejemplo, de 5 mg a aproximadamente 40 mg, tal como de 5 mg a aproximadamente 35 mg, tal como de 5 mg a aproximadamente 30 mg, tal como de 5 mg a aproximadamente 25 mg, tal como de 5 mg a aproximadamente 20 mg, tal como de 5 mg a aproximadamente 15 mg, tal como de 5 mg a aproximadamente 10 mg. Como alternativa adicional, la cantidad del primer material en una composición según la presente invención puede ser aproximadamente 5 mg, tal como 10 mg, tal como 15 mg, tal como 20 mg, tal como 25 mg, tal como 30 mg, tal como 35 mg, tal como 40 mg, tal como 45 mg, tal como 50 mg.

Se ha descubierto que las partículas tanto micro como nanométricas del primer material, que en un aspecto es hidroxiapatita, en una cantidad de aproximadamente 5 mg es capaz de unir aproximadamente el 10 % del fármaco administrado. Se ha descubierto además que 10 mg del primer material son capaces de unirse a aproximadamente el 30 % del fármaco administrado y que 20 mg del primer material son capaces de unirse a aproximadamente el 75 % del fármaco administrado. En otro aspecto, se ha descubierto que aproximadamente 30 mg a aproximadamente 40 mg son capaces de unirse a casi el 100 % del fármaco administrado. Así, en un aspecto, la cantidad del primer material está preferentemente en el intervalo de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 40 mg. La cantidad del primer material debe entenderse como la cantidad que se mezcla opcionalmente con el segundo o incluso el tercer material, que puede estar en otros intervalos de cantidades, en una composición según la invención.

La relación entre el primer y el segundo material puede estar en el intervalo de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 99,9 % entre el primer material y el segundo material, tal como del 10 % a aproximadamente el 90 %, de aproximadamente el 15 % a aproximadamente el 85 %, de aproximadamente el 20 % a aproximadamente el 80 %, de aproximadamente el 25 % a aproximadamente el 75 %, de aproximadamente el 30 % a aproximadamente el 70 %, de aproximadamente el 35 % a aproximadamente el 65 %, de aproximadamente el 40 % a aproximadamente el 60 %, de aproximadamente el 45 % a aproximadamente el 55 % o de aproximadamente el 50 % a aproximadamente el 50 %, de aproximadamente el 55 % a aproximadamente el 45 %, de aproximadamente el 60 % a aproximadamente el 40 %, de aproximadamente el 65 % a aproximadamente el 35 %, de aproximadamente el 70 % a aproximadamente el 30 %, de aproximadamente el 75 % a aproximadamente el 25 %, de aproximadamente el 80 % a aproximadamente el 20 %, de aproximadamente el 85 % a aproximadamente el 15 %, de aproximadamente el 90 % a aproximadamente el 10 %, de aproximadamente el 95 % a aproximadamente el 5 %, o de aproximadamente el 99,9 % a aproximadamente el 1 %. En un aspecto, la composición comprende sólo HA. En un aspecto, la proporción o relación es de aproximadamente 40 % a aproximadamente 60 % entre el primer material y el segundo material. En un aspecto, el primer material es HA (hidroxiapatita) en una cantidad del 40 % (% en peso) y el segundo material puede ser, por ejemplo, CaS (sulfato de calcio) en una cantidad del 60 % (% en peso).

En un aspecto, el primer material es fosfato de calcio y se proporciona en forma de partículas de fosfato de calcio (por ejemplo, partículas de hidroxiapatita sinterizada) para mezclar con el segundo material, tal como, por ejemplo, sulfato de calcio en polvo y agua para que se endurezca el sulfato de calcio, por lo que las partículas de fosfato de calcio quedan incrustadas en la fase de sulfato de calcio después del endurecimiento. El agua puede verse como un ejemplo de un tercer material. Un tercer material puede ser cualquier disolvente adicional o sustancia sólida adicional que actúa como diluyente o agente mezclador del primer y opcionalmente segundo material.

En otro aspecto, la composición según la invención comprende un primer y un segundo material. La composición puede entonces prepararse mediante mezcla convencional conocida en la técnica, que puede comprender además la adición de un disolvente u otro diluyente. En un ejemplo, la mezcla de los componentes de la composición puede tener lugar a temperatura ambiente normal y/o a presión atmosférica normal. Como alternativa, la mezcla puede tener lugar al vacío o a presión atmosférica reducida. Se ha observado que la humectabilidad que afecta a la unión química de la composición acabada aumenta al mezclar al vacío o a presión atmosférica reducida.

En un aspecto, el primer y/o segundo y/o tercer material pueden comprender además otros principios activos, tales como, por ejemplo, factores anabólicos activos en la formación ósea, es decir, preferentemente, proteínas de crecimiento óseo seleccionadas del grupo que comprende proteínas morfogénicas óseas (PMO), factores de crecimiento de tipo insulínico (IGF), factor de crecimiento transformante-ps (TGFP), hormona paratiroidea (PTH), esclerostina. Las proteínas activas para los huesos también pueden proporcionarse en forma de una composición que comprende proteínas activas para los huesos derivadas de fábricas celulares y proteínas de la MEC (documento WO 2008/041909). Como alternativa, se puede utilizar estroncio como factor de crecimiento óseo además de o como sustituto de las proteínas activas en los huesos. En un aspecto, la proteína activa en los huesos podrían ser proteínas de crecimiento óseo seleccionadas de la larga lista de PMO, pero, lo más preferentemente, PMO-2 o PMO-7 o una combinación de las mismas. Las PMO pueden aislarse de células de donantes (por ejemplo, de una fábrica de células óseas) o prepararse de forma recombinante. Para pacientes humanos, preferentemente se usan PMO humanas recombinantes, tales como rhPMO-2 o rhPMO-7. Las rhPMO están disponibles comercialmente o pueden producirse mediante técnicas conocidas.

En un aspecto de la invención, los agentes anticatabólicos útiles en la composición de la presente invención son agentes que inhiben la resorción ósea. Ejemplos de inhibidores con propiedades de resorción ósea son bisfosfonatos, moduladores selectivos de los receptores de estrógeno (SERM) (por ejemplo, raloxifeno, tamoxifeno, lasofoxifeno y bazedoxifeno); denosumab (un anticuerpo monoclonal contra RANKL desarrollado por Amgen) y estatinas.

En un aspecto, la composición según la invención puede comprender además un agente de contraste para rayos X seleccionado entre agentes de contraste para rayos X no iónicos solubles en agua (por ejemplo, iohexol) y/o agentes de contraste para rayos X biodegradables. El agente de contraste para rayos X se puede mezclar con el polvo de sulfato de calcio, el polvo de fosfato de calcio, otros aditivos o con el líquido, o se puede mezclar con la pasta que comprende el polvo de sulfato de calcio, el polvo de fosfato cálcico y el líquido en un proceso de mezclado retardado como se ha descrito anteriormente. Los agentes de contraste para rayos X también pueden encapsularse en microcápsulas poliméricas sintéticas solubles en agua y/o biodegradables, partículas de colágeno bovino, partículas

de almidón, partículas de anidación dihidrato, si se desea. Los agentes de rayos X pueden proporcionarse en encapsulaciones iguales o diferentes, opcionalmente con el agente anticatabólico y/o la proteína activa en los huesos y/u otros aditivos y liberarse antes o en la pasta. BONESUPPORT AB, como la marca CERAMENT™IC-TRU, ofrece una solución de rayos X premezclada que comprende yodo (iohexol) para mejorar la capacidad de rayos X, lista para mezclar con polvos cerámicos.

En un aspecto, la divulgación implica precargar uno o más compuestos farmacéuticos en el primer y/o segundo material de la presente divulgación. Dicho método puede comprender las etapas de:

- a) proporcionar un primer material particulado y/o un segundo material,
- b) poner en contacto/incubar uno o más compuestos farmacéuticos con el material en a),
- c) separar los compuestos farmacéuticos no unidos del material obtenido en la etapa b).

El uno o más compuestos farmacéuticos pueden ser iguales o diferentes y pueden tener diferentes afinidades por el primer y segundo material. El uno o más compuestos farmacéuticos se pueden disolver en cualquier disolvente adecuado tal como una solución salina fisiológica, agua u otra solución acuosa, solución tamponada o cualquier disolvente orgánico adecuado o cualquier mezcla de los mismos.

El período durante el cual uno o más compuestos farmacéuticos están en contacto con el primer material en partículas y/o un segundo material, puede estar dentro del intervalo de minutos, horas o días, tal como 1 hora, tal como 3 horas, tal como aproximadamente 6 horas, tal como 12 horas, tal como 24 horas, tal como 48 horas.

Después de poner en contacto/incubar uno o más compuestos farmacéuticos con el primer material en partículas y/o un segundo material, la mezcla resultante se puede separar de la solución o suspensión que comprende uno o más compuestos farmacéuticos mediante centrifugación o filtración, etc., el material en partículas resultante se puede enjuagar con cualquier disolvente adecuado y opcionalmente dejar secar posteriormente.

La invención se ilustra adicionalmente en los siguientes ejemplos.

## Ejemplos

### Procedimiento experimental general

El polvo de CaS y HA se mezcla en una proporción de 60 y 40 % en peso. Se mezcla agua o agente de contraste radiográfico en una proporción de líquido a polvo de 0,43 ml/g. Los componentes líquido y en polvo se mezclan rigurosamente para producir una suspensión homogénea. Esta suspensión se puede moldear en cualquier forma inyectándola en un molde. En aproximadamente 6-12 minutos, el material se endurece hasta formar una masa dura.

Como alternativa, la suspensión puede inyectarse o insertarse en el cuerpo del sujeto.

### Ejemplo 1

*En un estudio in vivo, se rellenó un implante de PEEK fenestrado con un soporte cerámico (sulfato de calcio (CaS)/hidroxiapatita (HA)) y se implantó en el hueso tibial de ratas.*

Métodos: El implante PEEK era un cilindro hueco, con tres agujeros en la parte inferior, para permitir el llenado con el biomaterial de CaS/HA. Se utilizaron tres grupos experimentales: 1) Implante solo (G1), 2) Implante que contiene CaS/HA en la cavidad hueca después de la administración sistémica de ZA, 2 semanas después de la implantación (G2) y 3) Implante que contiene CaS/HA y ZA localmente dentro de la cavidad hueca (G3). La dosis sistémica de ZA fue de 0,1 mg/kg y la dosis local de ZA fue de 10 µg. 6 semanas después de la cirugía, se sacrificó a los animales y el hueso se sometió a rayos X y tomografía microcomputarizada para cuantificar el grado de formación ósea periimplantaria. Se utilizaron dos regiones de interés (RdI) Figura 1.

La integración del implante con el hueso circundante se evaluó mediante pruebas de extracción en una máquina Instron/MTS. La fuerza máxima de extracción, la rigidez y la energía absorbida se calcularon a partir de esta prueba. Los resultados se ilustran en la figura 2. Se observó una fuerza máxima estadísticamente significativa para extraer el implante de la tibia en los grupos G2 (ZA sistémico) y G3 (ZA local) en comparación con el grupo de implante único G1 ( $p < 0,01$ ) (Figura 3). No se observaron diferencias en la rigidez. La energía absorbida fue significativamente mayor en el grupo de ZA local (G3) en comparación con el grupo de implante único (G1) ( $p < 0,05$ ). Estos hallazgos también se confirmaron mediante histología (Figura 4). Se observó más formación ósea en los grupos G2 y G3 en comparación con G1.

Este ejemplo ilustra que la apatita en el biomaterial de CaS/HA relleno dentro del implante de PEEK actúa como un resto de búsqueda del fármaco bioactivo, ácido zoledrónico (ZA). Debido a la quimiotaxis, al vehículo y a la fuga de ZA por los orificios Peek, hay una mayor formación de hueso alrededor del implante en el grupo G2 (ZA sistémico) en comparación con el grupo de implante único, G1.

**Ejemplo 2**

*ZA busca el material a base de apatita en un músculo.*

5 Métodos: Se colocó un gránulo de biomaterial de CaS/HA (5 mm de diámetro x 2 mm de altura) en una bolsa de músculo abdominal de ratas. A las 2 semanas de la cirugía, a los animales se les inyectó ZA marcado con  $^{14}\text{C}$  (0,1 mg/kg, radiactividad específica: 7,1 MBq/ml) por vía sistémica (subcutánea) y la radioactividad se midió en 1) el gránulo de CaS/HA colocado en el músculo y 2) el músculo circundante 24 horas después.

10 Resultados: La captación de  $^{14}\text{C}$ -ZA era evidente en el biomaterial de CaS/HA. El músculo que rodea el implante tenía recuentos radiactivos muy bajos, como se muestra en la Figura 5.

15 Esto verifica que el ZA radiactivo busca el biomaterial a base de apatita fuera del hueso y verifica los hallazgos del modelo de implante óseo en el Ejemplo 2.

**Ejemplo 3**

*Acreción y disponibilidad a largo plazo de  $^{14}\text{C}$ -ZA en el biomaterial de CaS/HA.*

20 Métodos: El biomaterial de CaS/HA se implantó en el canal del cuello femoral de 6 ratas osteoporóticas. Luego, los animales (n=3) recibieron una dosis sistémica (subcutánea) de  $^{14}\text{C}$ -ZA (0,1 mg/kg, radiactividad específica: 7,1 MBq/ml) 2 semanas después de la implantación. Los animales fueron sacrificados 6 meses después de la implantación (5 meses y 2 semanas después de la inyección).

25 Resultados: La captación de  $^{14}\text{C}$ -ZA en los animales que recibieron una dosis sistémica de  $^{14}\text{C}$ -ZA se verificó mediante recuento de centelleo. Los resultados se ilustran en la Figura 6.

30 Este ejemplo confirma que  $^{14}\text{C}$ -ZA busca y permanece en el material de apatita durante al menos 6 meses después de la inyección.

**Ejemplo 4 - Ejemplo comparativo**

*El antibiótico tetraciclina con fluorescencia y afinidad conocidas por el hueso se une a las partículas de apatita en un músculo.*

35 Métodos: Se colocó un gránulo de biomaterial de CaS/HA (5 mm de diámetro x 2 mm de altura) en una bolsa de músculo abdominal de ratas. A las 2 semanas de la cirugía, los animales se les inyectó tetraciclina por vía sistémica (subcutánea) (Concentración 25 mg/kg, 8 mg inyectados/rata). 1 día después, se sacrificó a los animales y se recogió el gránulo de CaS/HA así como el músculo circundante, fijado en formalina (4 %) e incluido en parafina. Luego se cortó el tejido utilizando un microtomo hasta un espesor de 5  $\mu\text{m}$ . Las secciones se desparafinaron usando xileno, se rehidrataron usando un gradiente decreciente de etanol y se aclaró en agua. Finalmente, las secciones se analizaron en un microscopio de fluorescencia (Zeiss, Japan Filter: FITC, Aumento: 0, Exposición: 150 ms).

45 Los resultados indican una clara captación del antibiótico en el biomaterial de CaS/HA, pero no se observó captación en el músculo circundante, lo que indica una clara afinidad de la tetraciclina por las partículas de HA en el biomaterial (los resultados se ilustran en la Figura 7).

**Ejemplo 5**

*$^{18}\text{F}$ , un isótopo radiactivo buscador de huesos, se acumula y se puede rastrear en la fracción de apatita en un sitio no ortotópico: el músculo.*

50 Métodos: Se colocó un gránulo de biomaterial de CaS/HA (5 mm de diámetro x 2 mm de altura) en una bolsa de músculo abdominal de ratas. A las 2 semanas de la cirugía, a los animales se les inyectó  $^{18}\text{F}$ -Fluoruro a través de la vena de la cola (Radiactividad específica: 120 MBq). La captación del trazador en el material a base de apatita se evaluó 1 h 45 min después mediante tomografía por emisión de positrones (PET) combinada con tomografía microcomputada (micro-CT). El tiempo total de exploración fue de 20 minutos.

60 Resultados: Del experimento con PET-CT, se verifica la acumulación de lo dado sistémicamente  $^{18}\text{F}$ -Fluoruro en la apatita que contiene micropartículas en el biomaterial implantado (Figura 8). A las dos semanas se había reabsorbido la mayor parte del sulfato dihidrato fijado soluble en agua.

65

**Ejemplo 6**

*Tamaño de las partículas de apatita en el mecanismo de unión.*

Método: Se usaron 25 mg de partículas de apatita pura de tamaño micro (tamaño: 10 µm) y 25 mg de partículas de apatita de tamaño nanométrico (tamaño: <200 nm) y los colocó bilateralmente en la bolsa del músculo abdominal de ratas. Luego, cada animal recibió una dosis sistémica de <sup>14</sup>C-ZA 2 semanas después de la implantación (Dosis de inyección: 0,1 mg/kg de ZA, fármaco/rata: 40 µg, radiactividad específica: 7,1 MBq/ml, Concentración de ZA: 1 mg/ml). Se sacrificó a las ratas 1 día después de la inyección y se midió la radiactividad en micropartículas y nanopartículas de apatita mediante recuento de centelleo. Resultados: La captación de <sup>14</sup>C-ZA fue mayor en micropartículas de apatita en comparación con nanopartículas de apatita en 4 de 5 muestras (Figura 9).

El experimento indica que las partículas de apatita de tamaño micrométrico son un mejor grupo de reclutamiento para <sup>14</sup>C-ZA en comparación con partículas de apatita de tamaño nanométrico.

**Ejemplo 7**

*Recarga del material*

Métodos: Se usaron 25 mg de partículas de apatita pura de tamaño micro (tamaño: 10 µm) y 25 mg de partículas de apatita de tamaño nanométrico (tamaño: <200 nm) y los colocó bilateralmente en la bolsa del músculo abdominal de ratas. Se utilizaron dos puntos temporales diferentes. En el momento 1 (día 14), todos los animales recibieron la misma cantidad de <sup>14</sup>C-ZA radiactivo. En el momento 2 (día 27), la mitad de los animales recibieron otra inyección del fármaco mientras que el resto no. Se sacrificó a todos los animales un día después y se midió la captación del fármaco en las partículas de apatita de dos tamaños diferentes mediante recuento de centelleo.

Resultados: Se midió la radiactividad en ambos grupos y se observó que la actividad aumentó en el grupo que fue inyectado nuevamente en comparación con el grupo que recibió solo una inyección (Figura 10). Esto indica una posibilidad de recargar estas partículas con un fármaco de elección si persiste la necesidad. En promedio, las nanopartículas de apatita en el grupo que recibió 2 inyecciones tuvieron un 77 % más de recuentos de <sup>14</sup>C-ZA en comparación con los animales inyectados una vez. De forma similar, las micropartículas tuvieron un aumento promedio del 72 %.

También muestra que las nanopartículas en una etapa posterior pueden permitir una penetración comparable a la de las micropartículas.

**Ejemplo 8**

*Las nanopartículas de apatita pueden penetrar en las células comunes del osteosarcoma.*

Métodos: Se sembraron células MG-63 (una línea celular común de osteosarcoma) en placas de 96 pocillos a una densidad de 8000 células/pocillo. Se administraron a las células nanopartículas de apatita o nanopartículas de apatita acopladas con ZA en una concentración de 100 µg/ml. El acoplamiento de nanopartículas se realizó suspendiendo partículas de apatita en PBS seguido de la adición de ZA a PBS. Las partículas y el fármaco se incubaron juntas durante 2 horas, seguido de centrifugación de las partículas y lavado con PBS 2X. Se descartaron los sobrenadantes y las partículas se alimentaron a las células MG-63. El t=día 1, 4 y 7, la viabilidad de las células se midió utilizando el ensayo MTT.

Resultados:

El día 1, no se observaron diferencias significativas entre nHA o nHA + ZA. El día 4 y el día 7, nHA + ZA indujo la muerte celular en el 60 % y el 90 % de las células, respectivamente. Solo las partículas de nHA indujeron la muerte celular en aproximadamente un 5-10 % de las células MG-63 (Figura 11).

Las nanopartículas de apatita atravesarán la pared celular. Añadiendo un antibiótico conocido que se une químicamente como la rifampicina (en la prueba se utilizaron nanopartículas) o un citostático como la doxorubicina (también con nanopartículas) o el ácido zoledrónico (ZA, que también induce la apoptosis en las células tumorales), las partículas pueden ser captadas por las células, lo que debería inducir la apoptosis como se muestra en la Figura 11.

Luego podrían cargarse y recargarse con el mismo fármaco o con uno diferente con unión a los sitios definidos de HA, es decir, Ca, P, OH.

El antibiótico ha demostrado un claro efecto intracelular letal. Esto es extremadamente importante ya que las bacterias del hueso viven en células como los osteoclastos, los osteoblastos o los osteocitos.

Esto se aplica también a los citostáticos, tanto con partículas solas como aún más en combinación con fármacos antitumorales como ZA o doxorubicina.

De mismo modo, incluso las micropartículas, que se ha demostrado que tienen un mejor efecto en la unión, podría

ejercer un efecto al ser masticado/comido por el osteoclasto u otra célula gigante capaz de digerir la apatita. El efecto letal inmediato y la recarga se beneficiarán de los diferentes tamaños.

#### **Ejemplo 9 - Ejemplo comparativo**

5

*La vancomicina y la gentamicina no se unen a la apatita.*

No todos los antibióticos se unen a la apatita. Como consecuencia de lo cual se observa una liberación rápida de estos antibióticos durante el período de la primera semana y la concentración máxima se alcanza dentro de las primeras 48 horas, como se muestra en la Figura 12.

10

Los estudios a largo plazo mostraron la liberación completa de gentamicina un mes después de la degradación del sulfato soluble en el vehículo bifásico HA/sulfato (Figura 13).

#### **Ejemplo 10 - Ejemplo comparativo**

*Prueba in vitro realizada para determinar la liberación del antibiótico isoniazida a partir de material CaS/HA.*

Método: Se mezcló isoniazida con biomaterial CaS/HA y se crearon gránulos de igual volumen. Luego, cada gránulo se colocó en un tubo de 1,5 ml y se llenó con 1 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS). En cada punto temporal, el PBS viejo se retiró y se congeló hasta el día del análisis. El tubo se rellenó con PBS fresco (1 ml). Todas las muestras se analizaron espectrofotométricamente y la concentración del antibiótico liberado se calculó a partir de una curva estándar de isoniazida elaborada en PBS. Los resultados del experimento de liberación de isoniazida *in vitro* se muestran en la Figura 14. Resultados: Tal como puede observarse a partir de la Figura 14, aproximadamente el 60 % del antibiótico ya se liberó el día 1 del experimento, lo que indica que también el antibiótico isoniazida carece de afinidad por las partículas de apatita.

20

25

#### **Ejemplo 11 - Ejemplo comparativo**

*Antibióticos utilizados en la infección ósea por grampositivos y en la tuberculosis.*

Método: Se mezcló rifampicina con biomaterial de CaS/HA y se crearon gránulos de igual volumen. Luego, cada gránulo se colocó en un tubo de 1,5 ml y se llenó con 1 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS). En cada punto temporal, el PBS viejo se retiró y se congeló hasta el día del análisis. El tubo se rellenó con PBS fresco (1 ml). Todas las muestras se analizaron espectrofotométricamente y la concentración del antibiótico liberado se calculó a partir de una curva estándar de rifampicina elaborada en PBS. Los resultados del experimento de liberación de rifampicina *in vitro* se muestran en la Figura 15. Resultados: Se observó una liberación sostenida de rifampicina del biomaterial de CaS/HA durante un período de 12 semanas con el 60 % de la rifampicina todavía unida al biomaterial de CaS/HA. A las 12 semanas, no queda CaS en el biomaterial y estos hallazgos indican claramente que la rifampicina restante en el biomaterial CaS/HA está unida a apatita.

30

35

40

Los estudios de antibióticos en conjunto indican que solo antibióticos específicos interactúan con la apatita y, por lo tanto, la liberación es lenta y estos antibióticos administrados sistémicamente, buscan partículas de apatita en el cuerpo y se unen a ellas.

45

#### **Ejemplo 12**

*Los citostáticos tienen afinidad por las partículas de apatita*

Métodos: Se suspendieron partículas de apatita de 5 mg, 10 mg y 20 mg en 1 ml de PBS que contenía 10 µg de doxorubicina y se distribuyeron homogéneamente en la suspensión mediante sonicación durante 5 minutos. Las muestras se hicieron girar suavemente en un agitador rotatorio durante 48 horas (velocidad: 50 rpm). Después de 48 h, las muestras se centrifugaron para obtener un gránulo de partículas de apatita y se recogió el sobrenadante. Luego se resuspendieron las partículas de apatita en 1 ml de PBS, pipeteado completamente para lavar el fármaco no unido. En este punto, las partículas se centrifugaron nuevamente y se recogió el sobrenadante. El lavado se repitió una vez más usando el mismo protocolo y se midió la fluorescencia del sobrenadante del tiempo original y de 2 sobrenadantes de las etapas de lavado en un espectrofluorímetro (excitación: 485 nm y emisión: 580 nm). También se detectó doxorubicina unida a las partículas de apatita mediante microscopía de fluorescencia. Se utilizó fármaco libre no unido como control. La figura 16 muestra los resultados del experimento de unión de doxorubicina *in vitro* (espectrofotométricamente). La figura 17 muestra las imágenes de microscopía fluorescente que muestran que la doxorubicina en realidad está unida a las partículas de apatita

50

55

60

Resultados: La cantidad de partículas de HA desempeñó un papel importante en la unión. Las muestras que contenían 5 mg de partículas de apatita pudieron unirse aproximadamente al 10 % del fármaco. Las muestras que contenían partículas de apatita de 10 mg pudieron unir el 30 % del fármaco y las muestras que contenían partículas de 20 mg unieron aproximadamente el 75 % del fármaco. Este experimento indica que la doxorubicina tiene una fuerte afinidad

65

dependiente de la concentración por las partículas de apatita.

### Ejemplo 13

#### 5 *Experimento de liberación de doxorubicina in vitro.*

Métodos: Se prepararon gránulos de biomaterial de CaS/HA mezclando 10 µg de doxorubicina/gránulo. Cada gránulo que contenía 10 µg de doxorubicina se sumergió en 1 ml de PBS a dos pH diferentes (5 y 7,4). En cada punto temporal, el PBS viejo se congeló hasta su posterior análisis y el tubo se rellenó con 1 ml de PBS fresco. El experimento se llevó a cabo durante un período de 4 semanas. Los sobrenadantes se analizaron en un espectrofluorímetro (excitación: 485 nm y emisión: 580 nm).

Resultados:

Se observó una liberación rápida de aproximadamente el 20-35 % del fármaco en el biomaterial de CaS/HA los días 1 y 3, con una liberación ligeramente mayor en el grupo de pH bajo. No se observó ninguna liberación adicional de doxorubicina en momentos posteriores (Figura 18).

### Ejemplo 14

#### 20 *Experimento de unión de doxorubicina in vivo.*

Métodos: Se implantaron 25 mg de partículas de apatita de tamaño nanométrico (tamaño <200 nm) en la bolsa del músculo abdominal de ratas. A los animales se les inyectaron 5 mg/kg de doxorubicina resuspendida en PBS 2 semanas después de la implantación y los animales se sacrificaron 1 día después. Las muestras se obtuvieron de la bolsa muscular implantada y, como control positivo, también se tomó para histología el lugar de la inyección sistémica de doxorubicina (piel debajo del cuello). Las muestras se incluyeron en parafina y se cortaron hasta un espesor de 5 µm. Luego, las muestras se analizaron en un microscopio fluorescente (excitación: 485 nm y emisión: 580 nm).

Resultados: Se pudo observar una fuerte tinción fluorescente en el lugar de la inyección y también se observó una señal relativamente débil pero positiva en las partículas de apatita y el área inmediatamente alrededor de las partículas. El músculo tomado 1 cm distal de las partículas de apatita del implante no mostró ninguna fluorescencia. Los resultados se muestran en la Figura 19.

A partir de los experimentos anteriores, parece que la unión depende de la estructura química del agente que se administra sistémicamente (más grupos hidroxilo libres en la cadena lateral indica más unión (Figura 20), el tamaño y la cantidad del material que se busca (por ejemplo partículas de apatita).

### Ejemplo 15 - Ejemplo comparativo

#### 40 *Mejora de la fijación de fracturas*

Se ha demostrado clínicamente que es posible utilizar el material bifásico en pacientes sometidos a una cirugía mayor de cadera (ref) para aumentar una fractura con buenos resultados a largo plazo.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30903873>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30522476>

Los estudios de elementos finitos también han demostrado que es posible mejorar la resistencia inmediata dependiendo de dónde se inyecta el material (Figura 22).

Los inventores han desarrollado un método novedoso para inyectar un material a través de un tornillo canulado sin utilizar un dispositivo de inyección de alta presión (Figura 23). Simplemente, dejando el tornillo a una distancia del extremo del canal perforado y llenando el hueco a través de un tornillo canulado con el material según la invención usando una aguja o un catéter de plástico y luego haciendo avanzar el tornillo presionando así el material hacia el hueso circundante. Esto podría combinarse con la adición de material de apatita también en el lugar de la fractura.

Esta configuración se probó en cabezas femorales humanas extirpadas durante la cirugía y ya mostró inicialmente una mayor fuerza de extracción.

Métodos: Las cabezas femorales osteoporóticas humanas extraídas en el momento de la artroplastia de cadera se fresaron para crear una cavidad en el canal del cuello femoral. El fresado se detuvo aproximadamente entre 0,5 y 1 cm antes de la superficie articular. Luego se insertó el tornillo canulado en el canal, pero se detuvo aproximadamente 1,5 cm antes del extremo de la profundidad del canal. Una muestra recibió solo el tornillo canulado, que luego se atornilló hasta la profundidad del canal. La otra muestra recibió el tornillo canulado y también se detuvo aproximadamente 1 cm antes del extremo del canal. En este punto, se inyectó material de CaS/HA usando una aguja, el cual se colocó en la punta del tornillo canulado y se inyectaron 1,5 cc del material en el espacio restante del canal fresado. Las partículas de HA están en el intervalo de 1-10 µm. Luego se apretó el tornillo de manera que el material

se empujara dentro de las roscas del tornillo. Luego, estas muestras se fijaron en un vaso de plástico y se llenaron con metal de Woods para brindar soporte para las pruebas mecánicas. Después del conjunto metálico de Woods, las muestras se montaron en un analizador mecánico (analizador mecánico biaxial Instron® 8511.20) y se extrajeron a una velocidad de 0,5 mm/s hasta que fallaron. La configuración se muestra en la Figura 24. La curva de fuerza y desplazamiento se utilizó para calcular la fuerza máxima requerida para sacar el tornillo en los dos grupos.

Resultados: La fuerza máxima utilizada para extraer el tornillo en la muestra que recibió solo el tornillo canulado fue de aproximadamente 1019 N. La fuerza máxima para extraer la fuerza en la muestra que recibió el tornillo canulado y el material de CaS/HA fue de aproximadamente 1789 N.

Los resultados indican que la inyección de biomaterial de CaS/HA en un tornillo canulado ya en la cirugía inicial puede mejorar el anclaje mecánico del tornillo al hueso circundante en esta prueba *ex vivo*. Por supuesto, la remodelación biológica y el crecimiento óseo alrededor del biomaterial de CaS/HA en un paciente vivo mejorarán aún más el anclaje. Se estima que el aflojamiento o la penetración proximal del tornillo representa el 5 % del total de casos que conducen a una reintervención con mayor mortalidad. En estos escenarios, si el sitio ya contiene millones de partículas de apatita, los fármacos administrados sistémicamente como ZA pueden buscar y unirse a las partículas de apatita y promover una mayor formación ósea y prevenir la resorción. Otra razón del fracaso es la infección y la administración selectiva de antibióticos en busca de apatita, también puede ser posible reducir la producción inicial de biopelículas e incluso erradicar la infección, especialmente en combinación sinérgica con un antibiótico no aglutinante administrado localmente en altas concentraciones mediante la degradación del componente de sulfato.

Según los resultados del estudio en ratas (cámara), se puede decir con alta certeza que podemos aumentar el anclaje óseo administrando una inyección sistémica con un bisfosfonato en el experimento 1.

Se podría insertar un material de micropartículas preestablecido o prefabricado, preferentemente como una varilla de diferente diámetro y longitud, en un tornillo canulado y ajustarlo según la longitud del canal (Figura 25).

El tornillo puede tener un agujero en la parte delantera pero también estar fenestrado en los laterales.

#### *Mejora del anclaje del dispositivo y la adherencia bacteriana local mediante recubrimiento*

La posibilidad de añadir partículas de apatita en las superficies de materiales de tamaño y cantidad específicos puede atraer diferentes fármacos sistémicos que buscan apatita en función de la afinidad específica del fármaco por los sitios de unión

El material recubierto con apatita puede cargarse inicialmente sumergiéndolo en un fármaco con afinidad química conocida y luego, eventualmente, recargarse mediante una inyección sistémica. Esto se puede utilizar con fines de regeneración ósea o para matar insectos que se adhieren a la superficie del material.

#### Otras aplicaciones

##### *Tratamiento y aplicaciones en tumores*

1. Se ha incorporado uno o más agentes que se unen específicamente a la apatita y se liberan con el tiempo. Se puede cargar un fármaco adicional en la fase de sulfato con baja afinidad por la apatita que luego se liberará durante un período de tiempo de hasta 6 meses. El material puede ser preestablecido, fabricado, inyectable o moldeable
2. No se puede tener citostático en la apatita y se puede cargar con una administración sistémica del fármaco o eventualmente recargarla. También podrían ser radioemisores con un amplio espectro de energía y penetración de células/tejidos de corto y largo alcance.
3. Los trazadores radiactivos o fármacos sin capacidad de unión a la apatita pueden unirse químicamente a otro fármaco que tenga una alta afinidad por la apatita. Por ejemplo, el ácido zoledrónico marcado con un citostático se puede cargar y recargar.
4. Esto podría lograrse implantando el material con o sin citostáticos desde el principio en diferentes tejidos blandos y duros y el fármaco podría recargarse en el material mediante la administración sistémica del fármaco. Esto sería beneficioso para los tejidos que tienen una baja absorción de fármacos.

#### **Ejemplo 16 - Ejemplo comparativo**

##### *Ilustración práctica con infección y defecto óseo que ilustra el principio de búsqueda de apatita.*

Se presenta un caso clínico donde se aplica un HA/Sulfato bifásico que contiene antibióticos con vancomicina y gentamicina (no se une a la apatita) después de un desbridamiento local y tratamiento intermedio con un espaciador de PMMA en un defecto óseo grande (>18 cm). El hueso estaba gravemente infectado con pus. El paciente había sido operado sin éxito cinco veces antes para erradicar la infección y reconstruir el hueso. A las 2 semanas, se administra un antibiótico sistémico, rifampicina, y un agente regenerador óseo, ácido zoledrónico. La liberación inicial de los

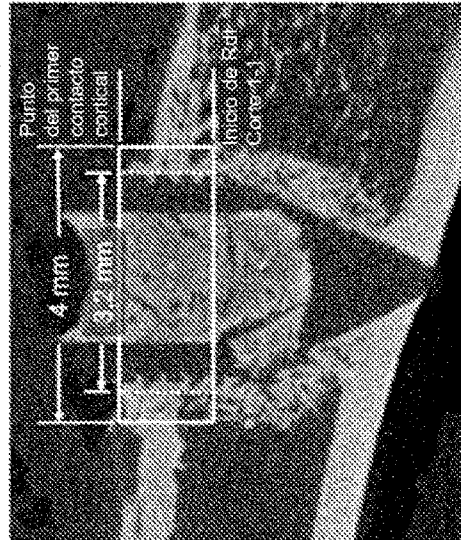
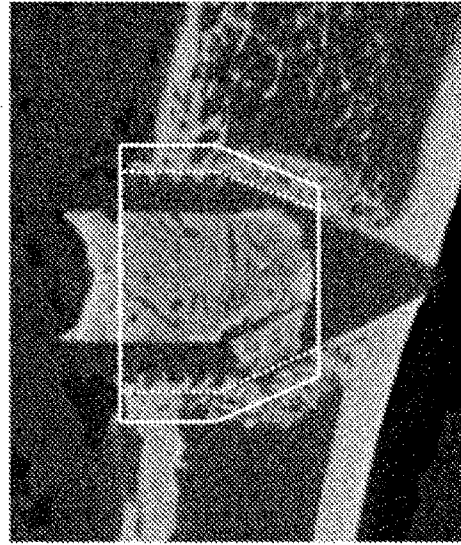
antibióticos unidos al sulfato se produjo durante la primera semana, enriqueciendo el ambiente local con calcio que atrae quimiotácticamente el agente buscador de apatita administrado sistémicamente. La unión se produce a grupos hidroxilo de apatita en micropartículas. El paciente quedó libre de infección después de la 2ª fase de la operación y mostró signos de unión ósea en la ubicación lateral distal ya a los 2,5 meses (Figura 27).

REIVINDICACIONES

1. Una composición para su uso en el tratamiento de cáncer, comprendiendo dicho uso las etapas de:

- 5 i) administrar a un sujeto que lo necesite un primer material que es hidroxiapatita en una mezcla de micropartículas en un tamaño de 1  $\mu\text{m}$  a 10  $\mu\text{m}$ , y nanopartículas en un intervalo de 40 nm a 100 nm, que opcionalmente puede comprender al menos un segundo material, en donde el segundo material o materiales son biorreabsorbibles a una velocidad mayor que la hidroxiapatita,
- 10 ii) dejar pasar un cierto período de tiempo para permitir que el primer material particulado quede expuesto al cuerpo cuando el segundo material o materiales estén presentes, permitiendo así que el segundo material sea total o parcialmente absorbido por el cuerpo del sujeto,
- 15 iii) administrar al sujeto uno o más fármacos anticancerosos, en donde, el primer material está opcionalmente precargado o empapado con uno o más compuestos farmacéuticamente activos y el segundo material está opcionalmente precargado o empapado con uno o más compuestos farmacéuticamente activos.
2. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el primer material no es bioabsorbible o es bioabsorbible muy lentamente, siendo así bioabsorbible después de un período de al menos 2 meses o 3 meses o al menos 6 meses o al menos 1 año o al menos 2 años o al menos 5 años o al menos 10 años o entre 6 meses y 2 años, y en donde el segundo material de la reivindicación 1 ii) es bioabsorbible y bioabsorbible a un ritmo mayor que el primer material, es decir, de manera que el segundo material se absorba en unas pocas horas, o en un día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas o 1 mes, 2 meses o 3 meses, o se absorba en 6 semanas.
- 20 3. La composición para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el segundo material es uno o más de fibrogénico, dextrano, ácido hialurónico, sulfato de calcio (hemihidrato y/o dihidrato), colágeno, diversas formas de celulosa tales como carboximetilcelulosa (CMC) o CMC sódica, u otros polisacáridos seleccionados de agarosa.
- 25 4. La composición para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde al menos uno o más fármacos anticancerosos es un bisfosfonato o radioemisores o compuestos radiomarcados, que tienen longitudes de onda de emisión y/o semividas iguales o diferentes.
- 30 5. La composición para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la administración al sujeto de uno o más fármacos anticancerosos tiene lugar mediante vías de administración convencionales para uno o más compuestos farmacéuticamente activos, tales como, por ejemplo, administración a la circulación sistémica, administración oral o administración en y/o cerca del sitio de administración del primer y opcionalmente segundo material, y en donde el primer material está opcionalmente empapado previamente o de otro modo precargado con uno o más fármacos anticancerosos, y en donde el segundo material está opcionalmente empapado previamente o precargado de otro modo con uno o más compuestos farmacéuticos.
- 35

RdI 2



RdI 1

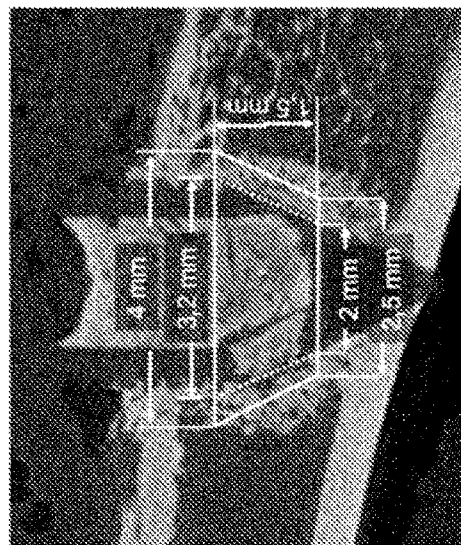


Figura 1

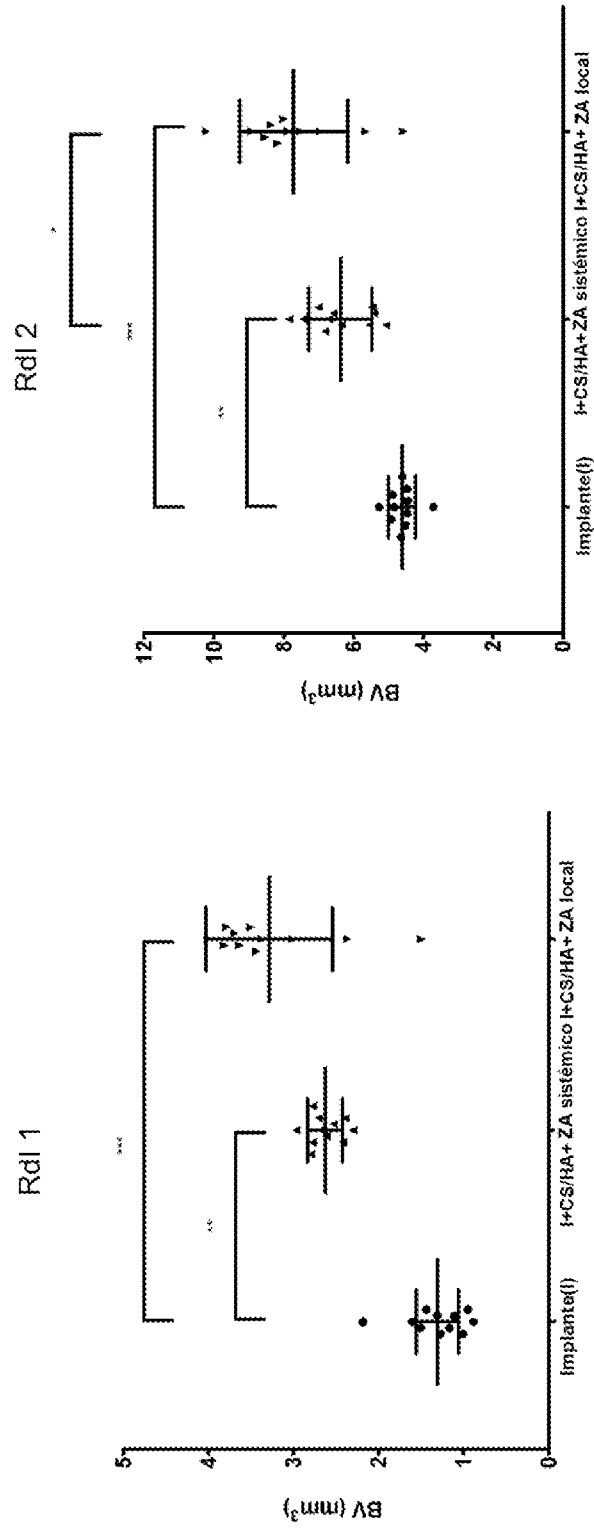


Figura 2

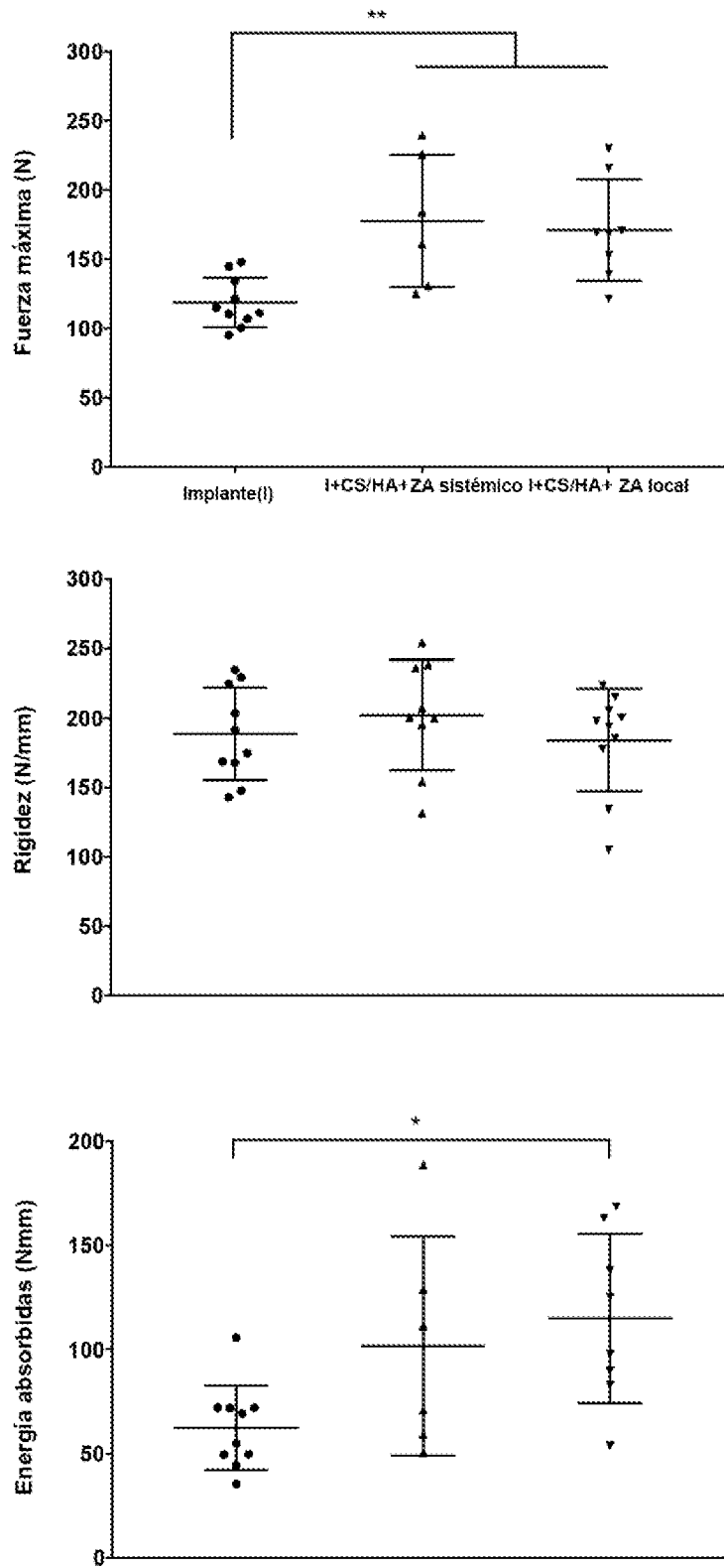
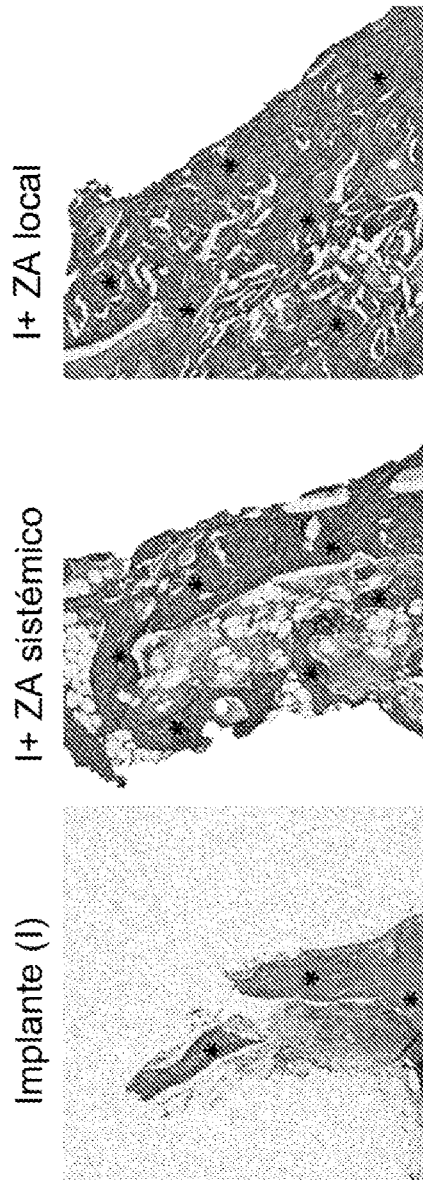


Figura 3



**Figura 4**

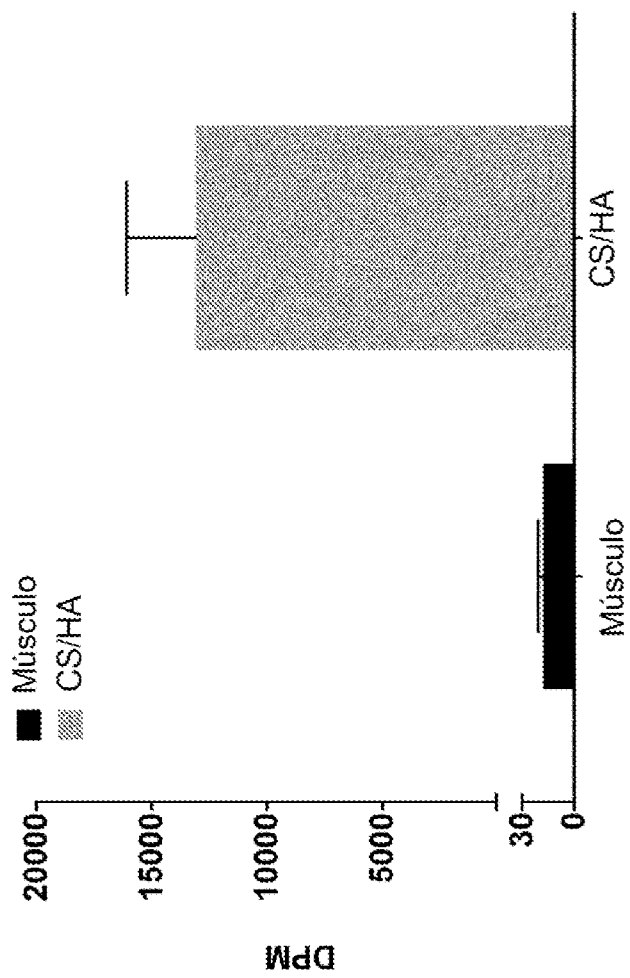


Figura 5

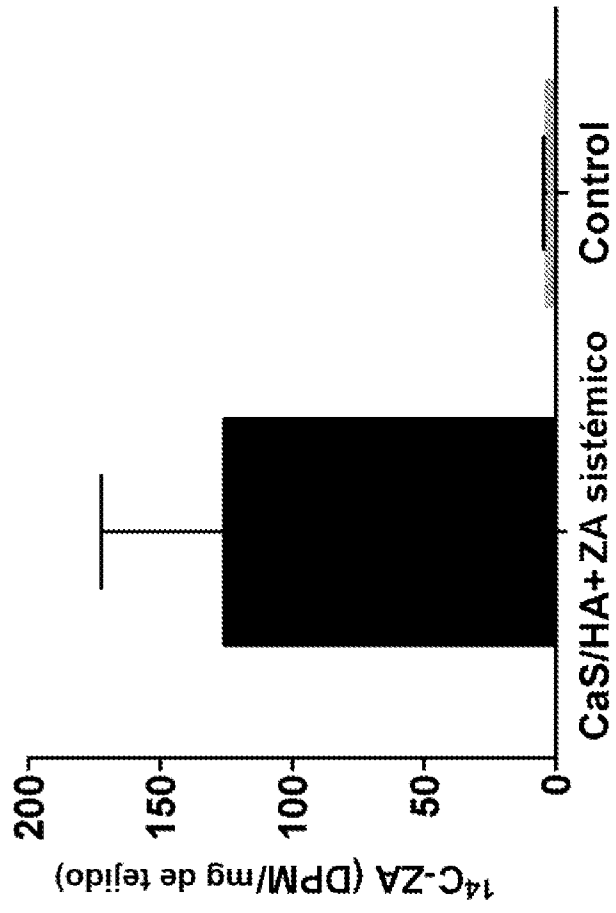


Figura 6

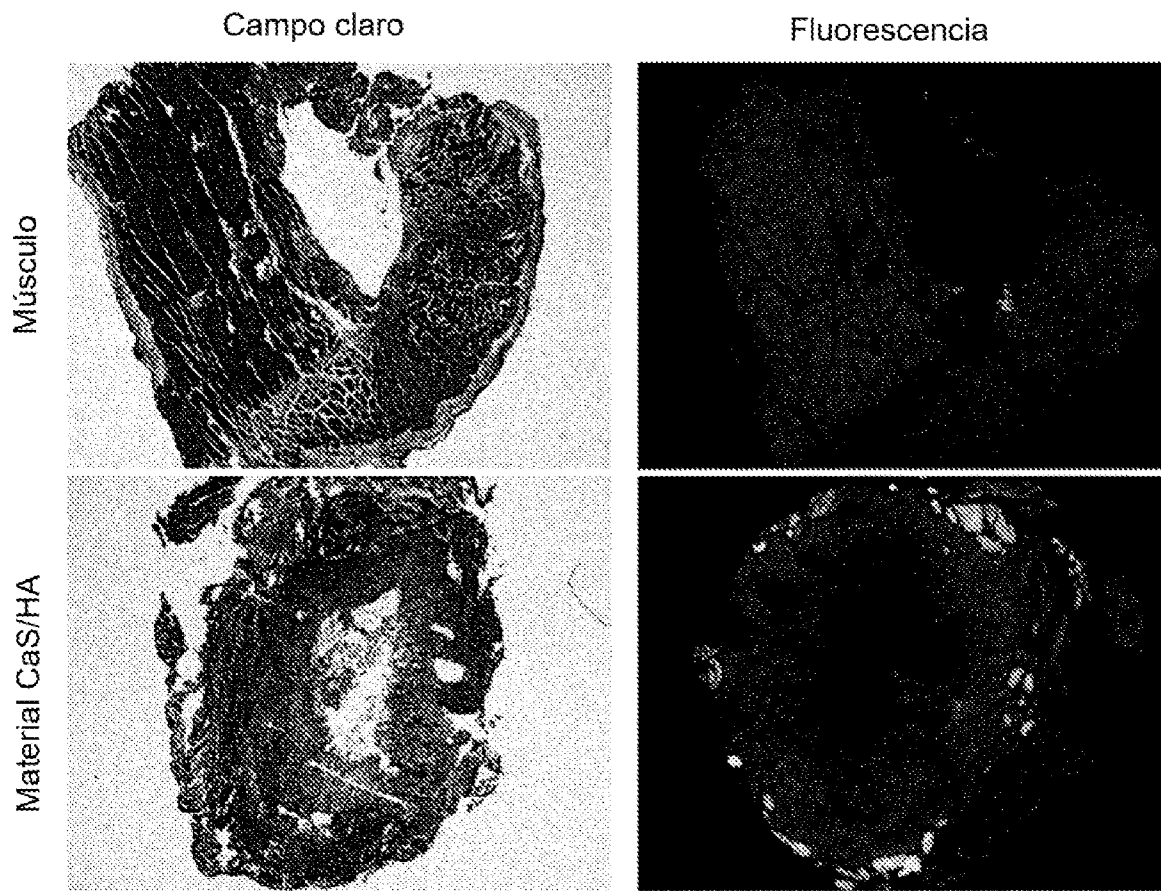


Figura 7

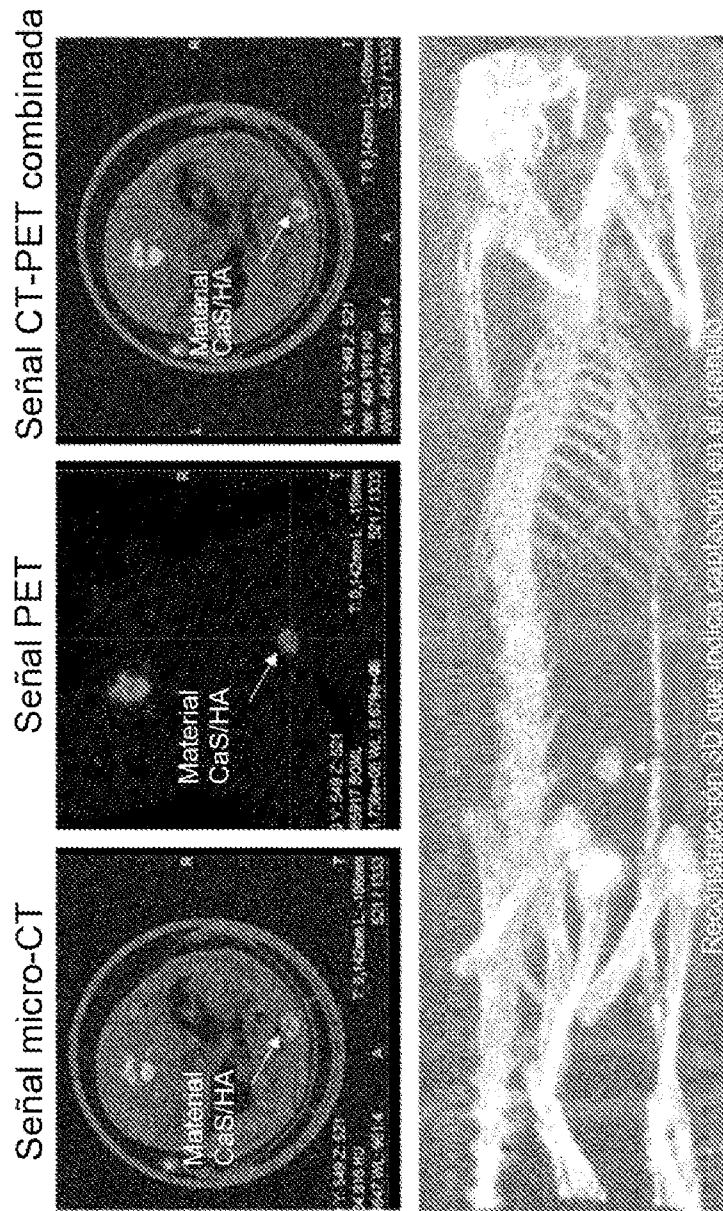


Figura 8

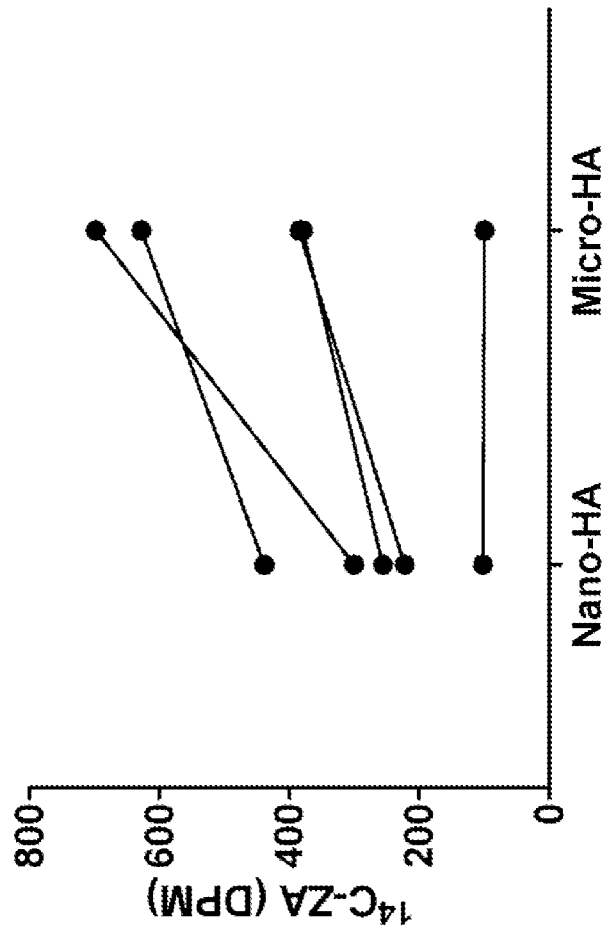


Figura 9

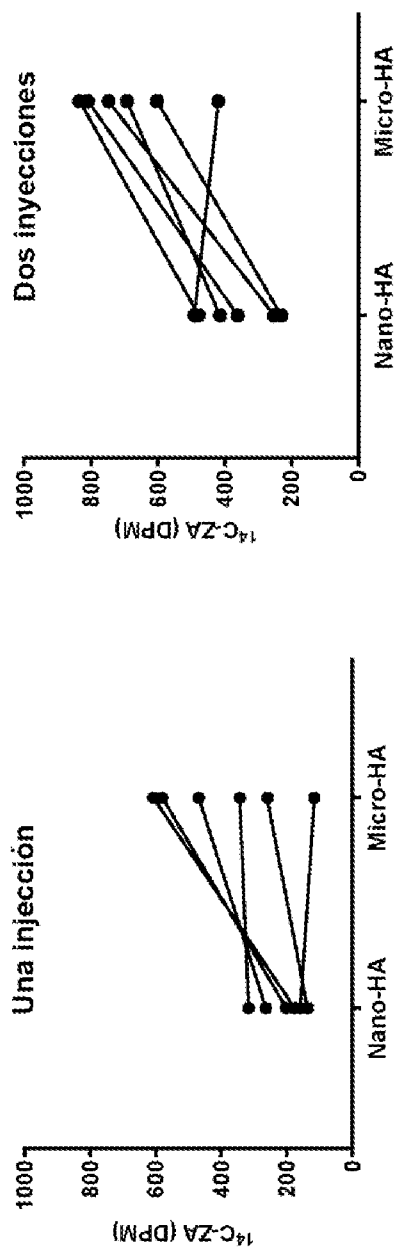


Figura 10

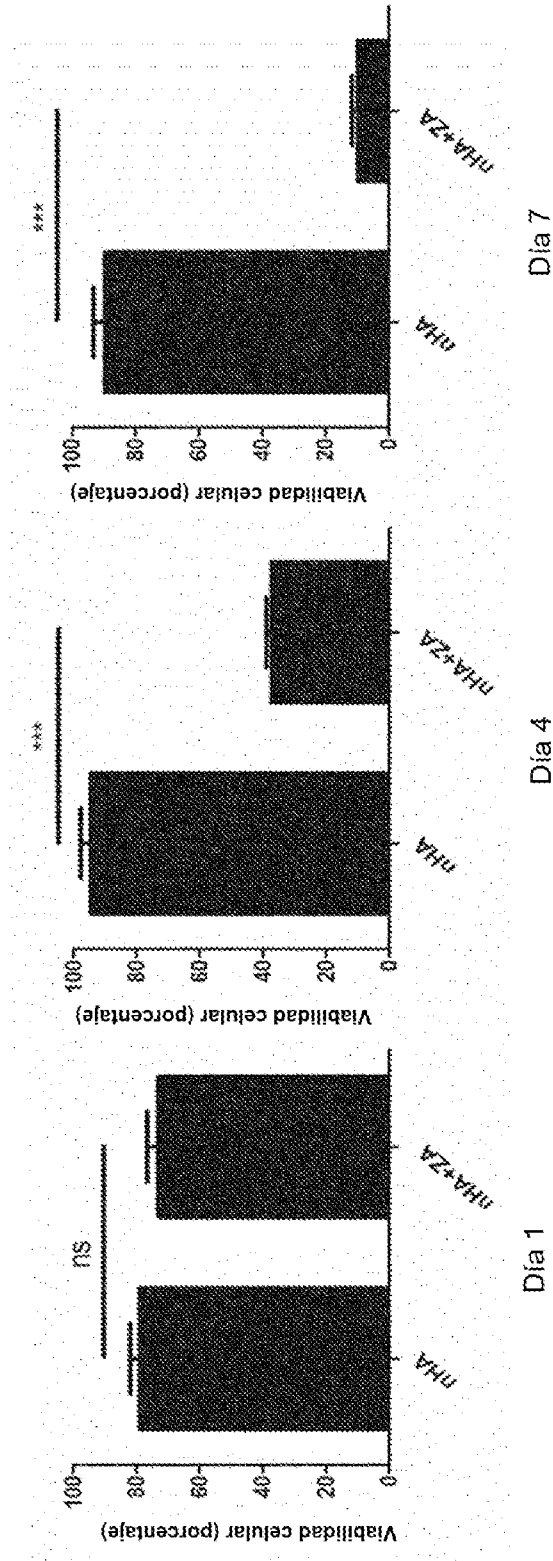


Fig. 11

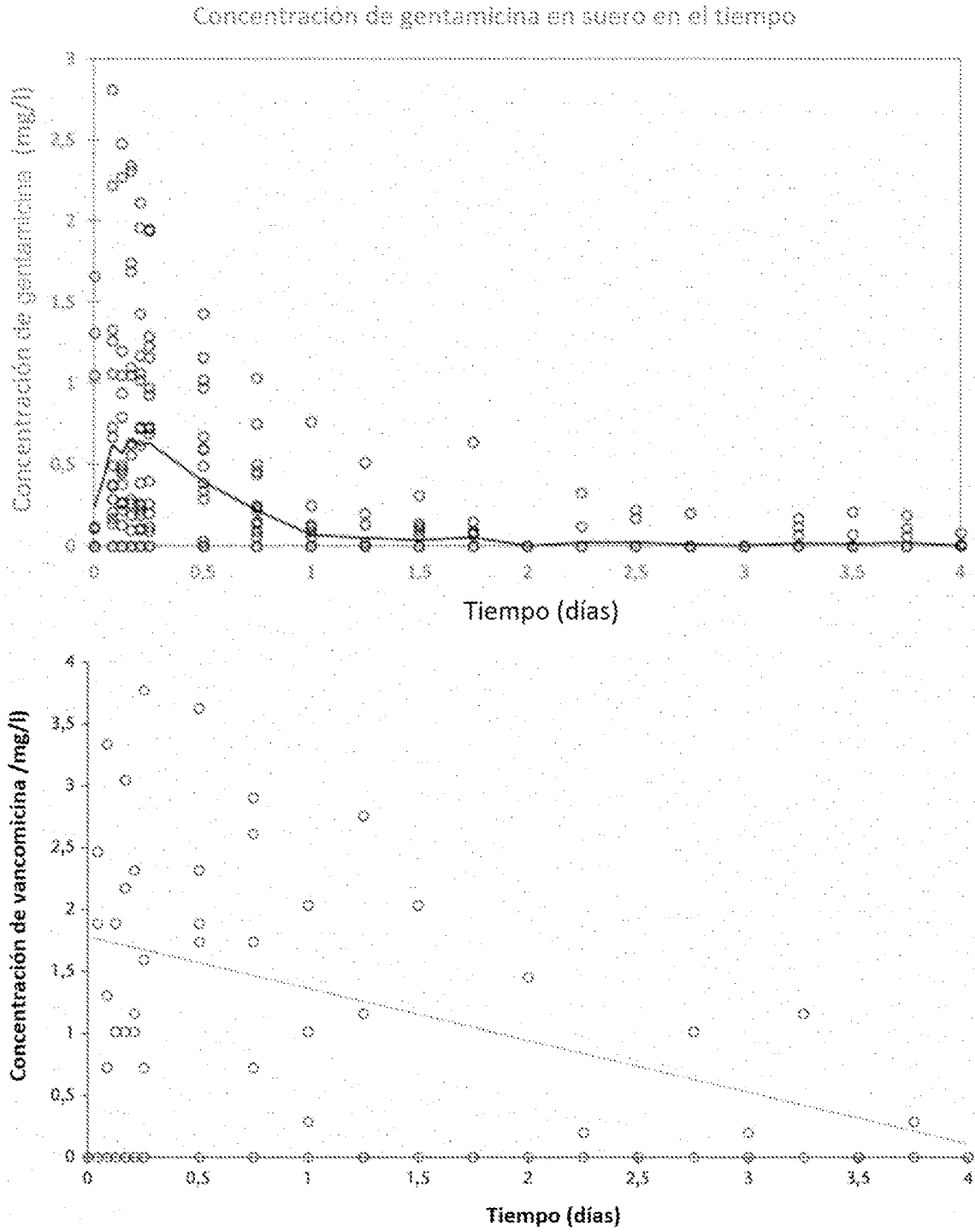


Figura 12

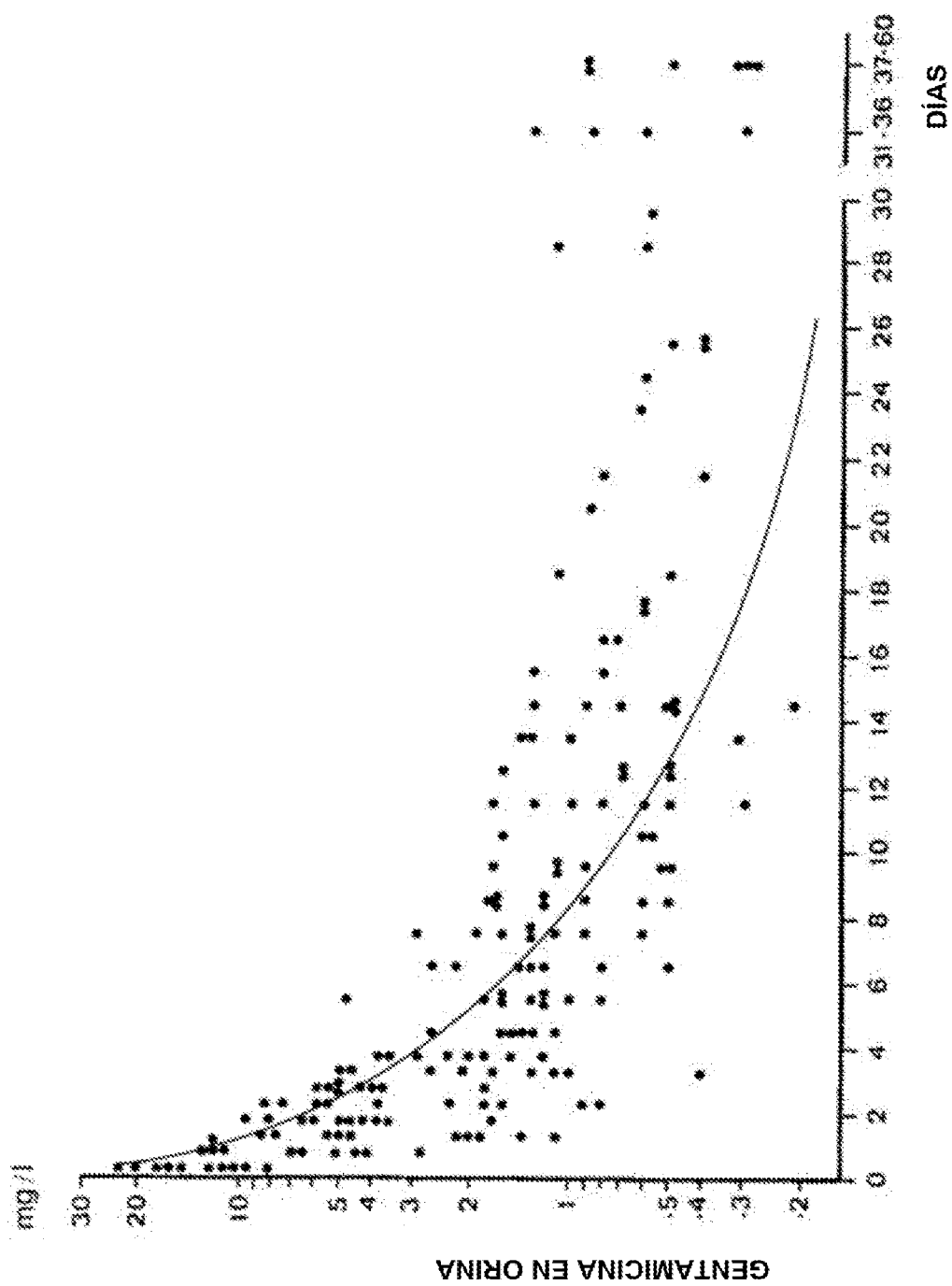


Fig. 13

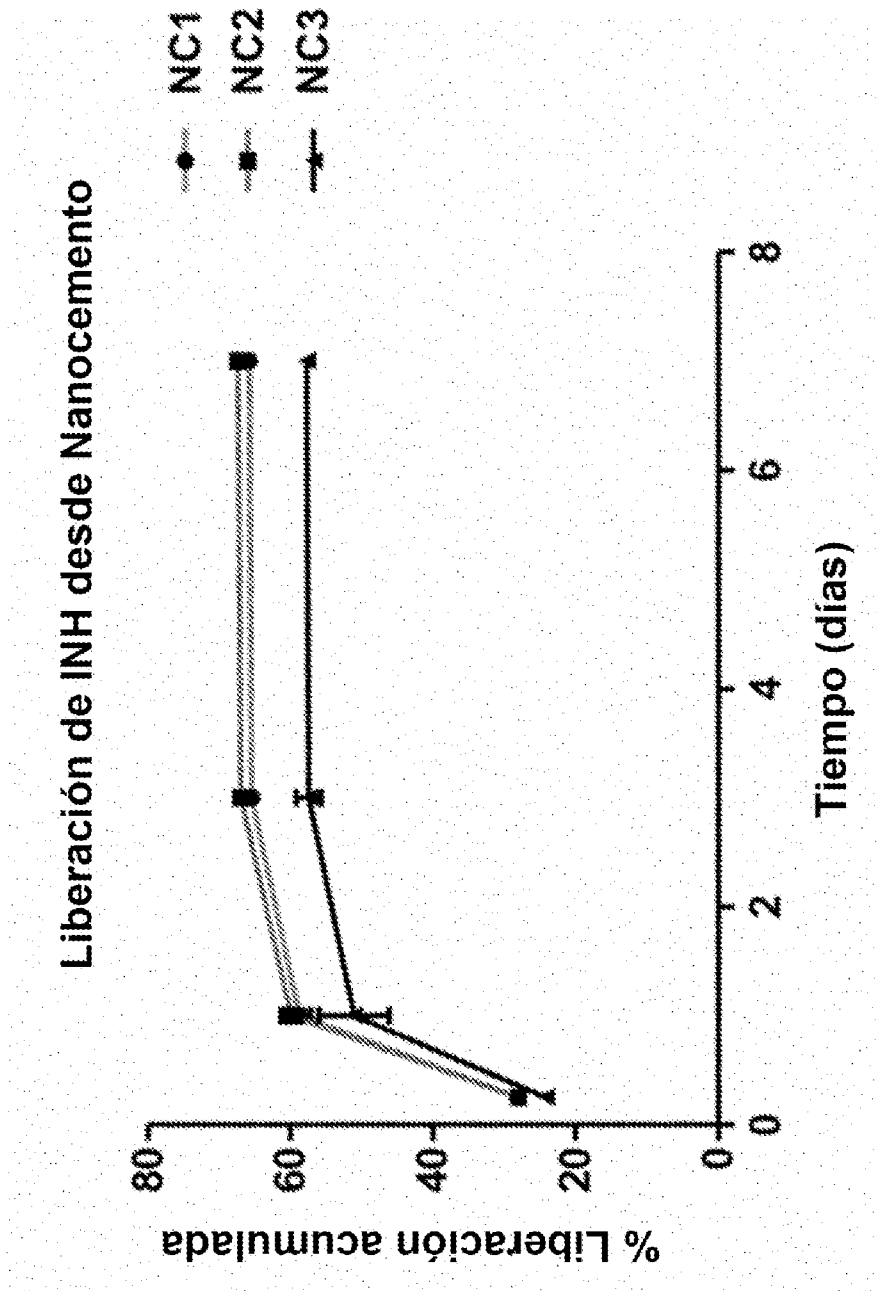


Figura 14

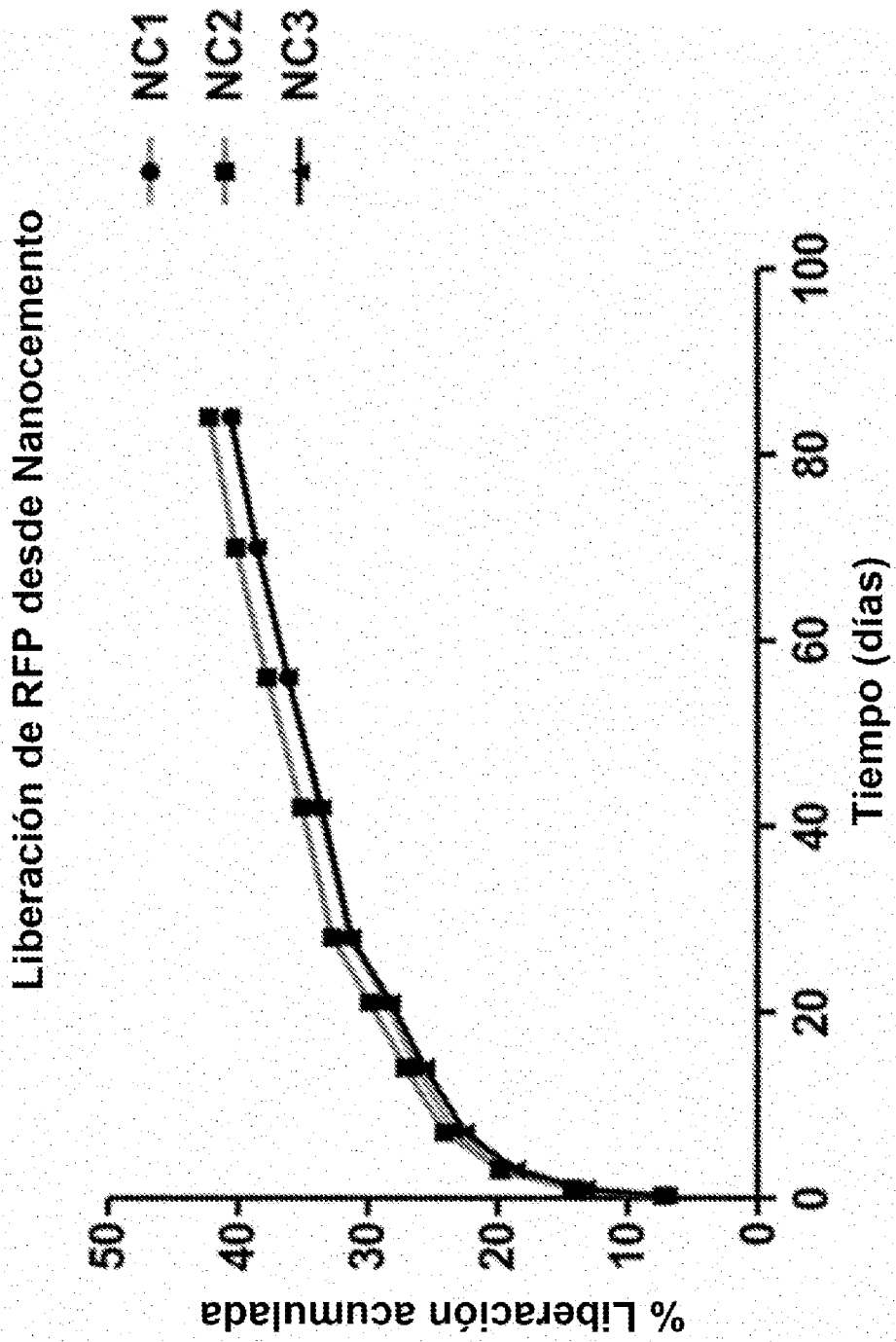


Fig. 15

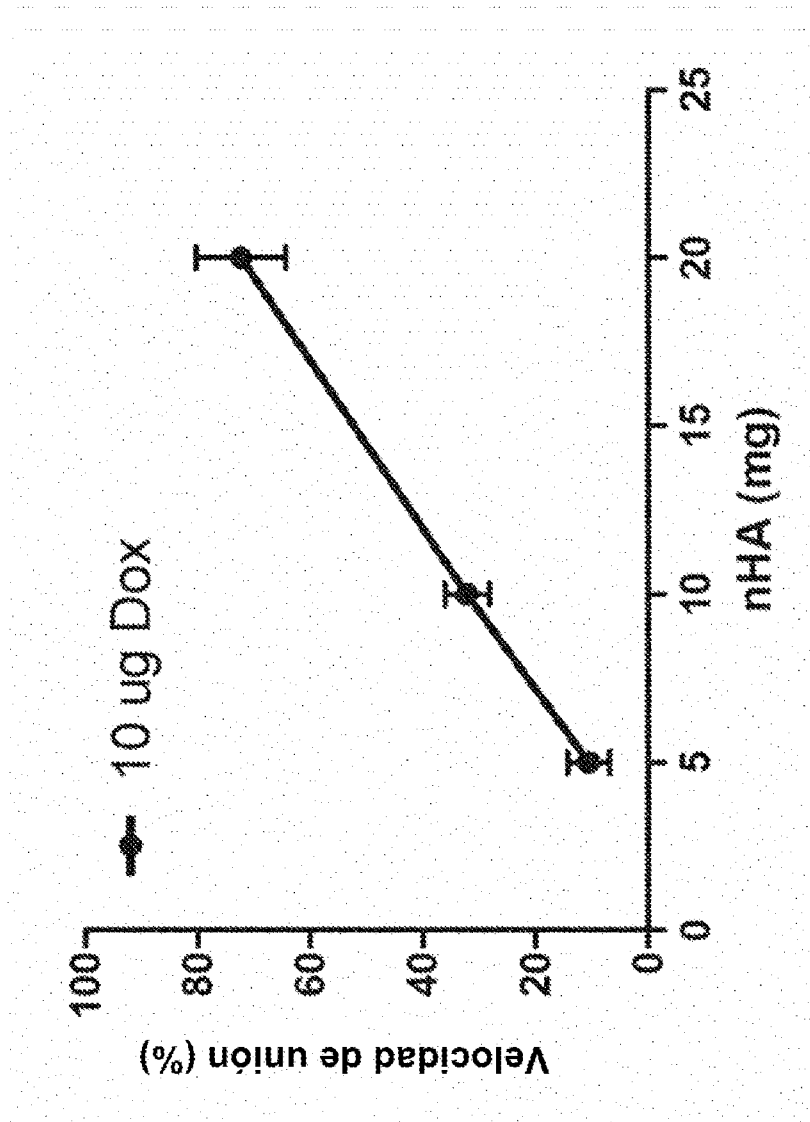


Fig. 16

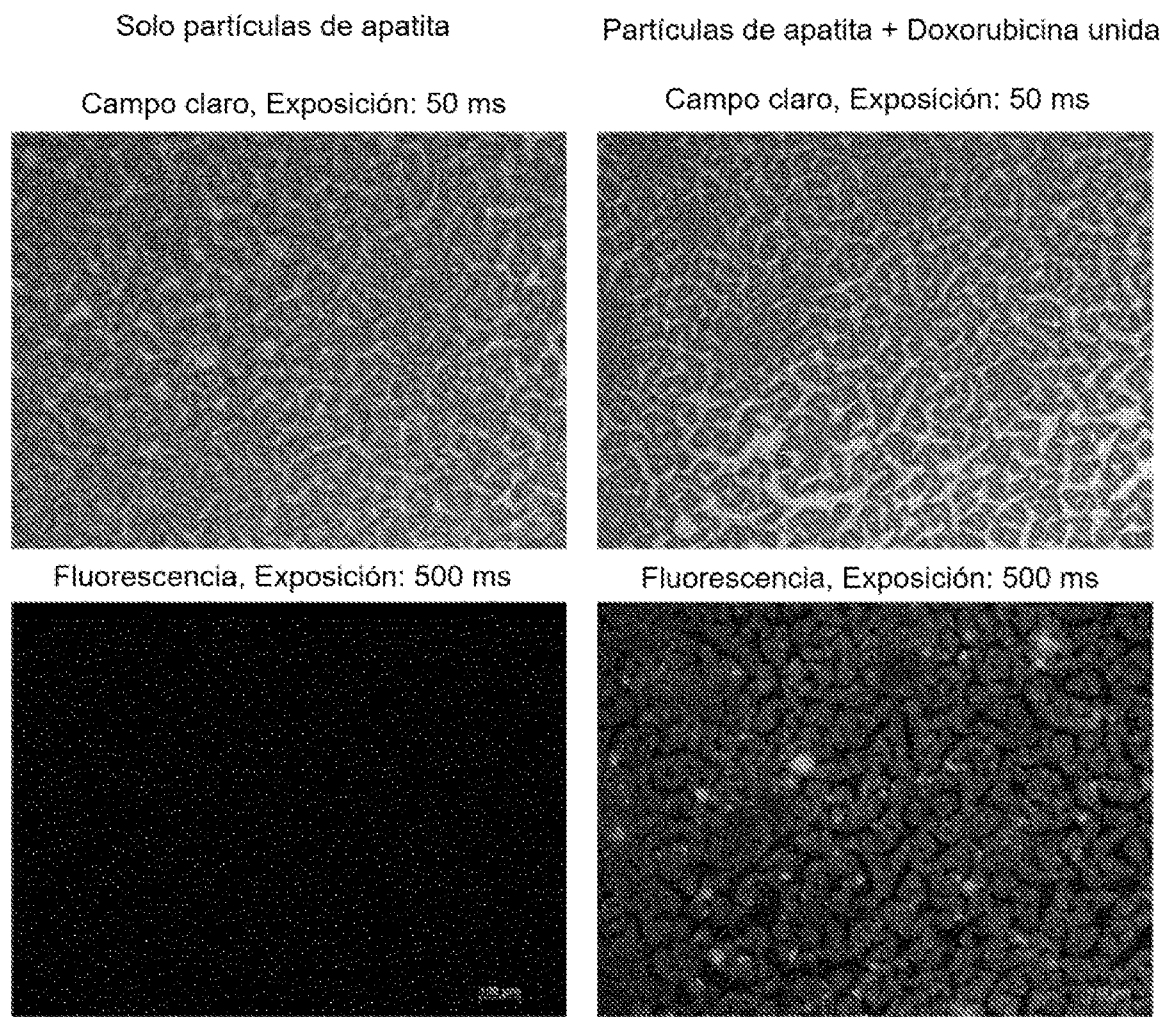


Fig. 17

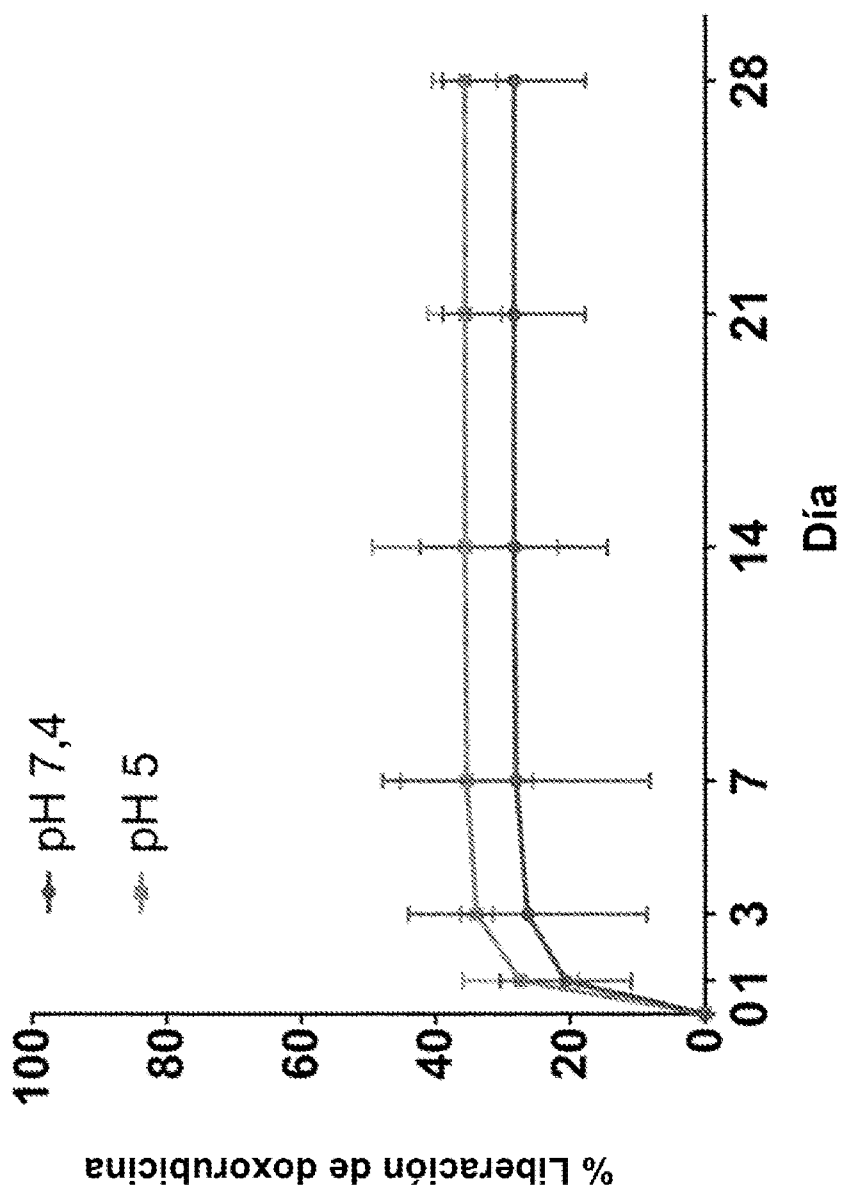
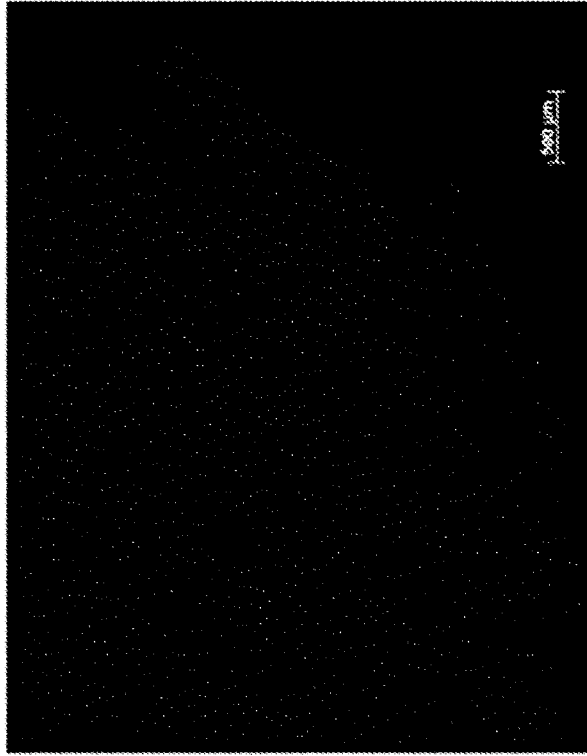


Figura 18

Músculo a 1 cm  
del implante



Aumento: 20X  
Exposición: 100 ms

Partículas de nanoapatita  
en el músculo



Aumento: 20X  
Exposición: 100 ms

Figura 19

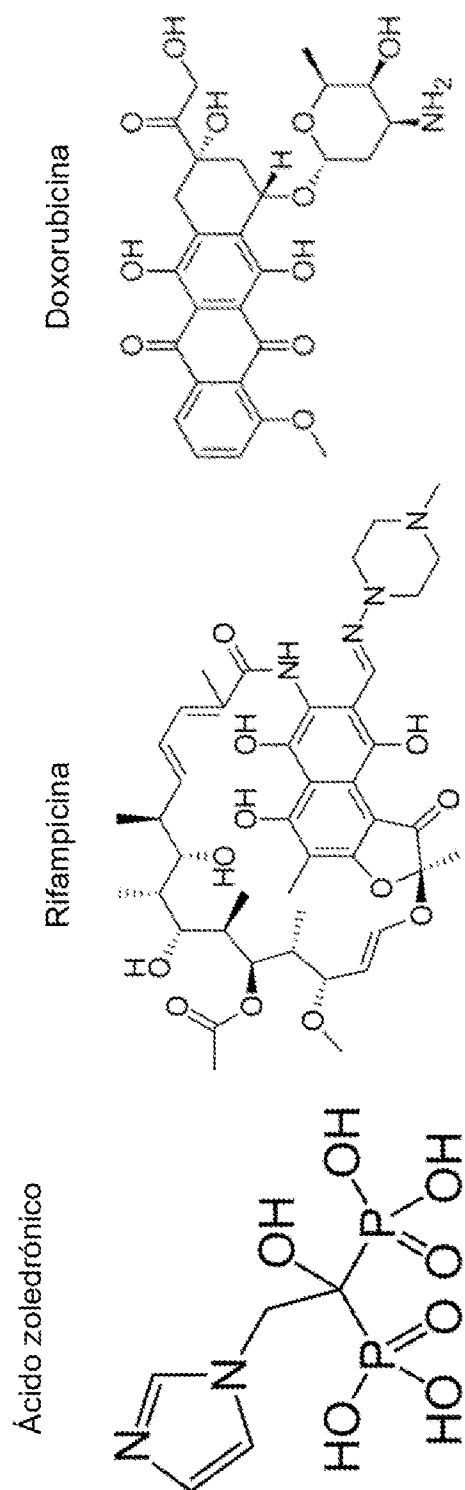


Figura 20

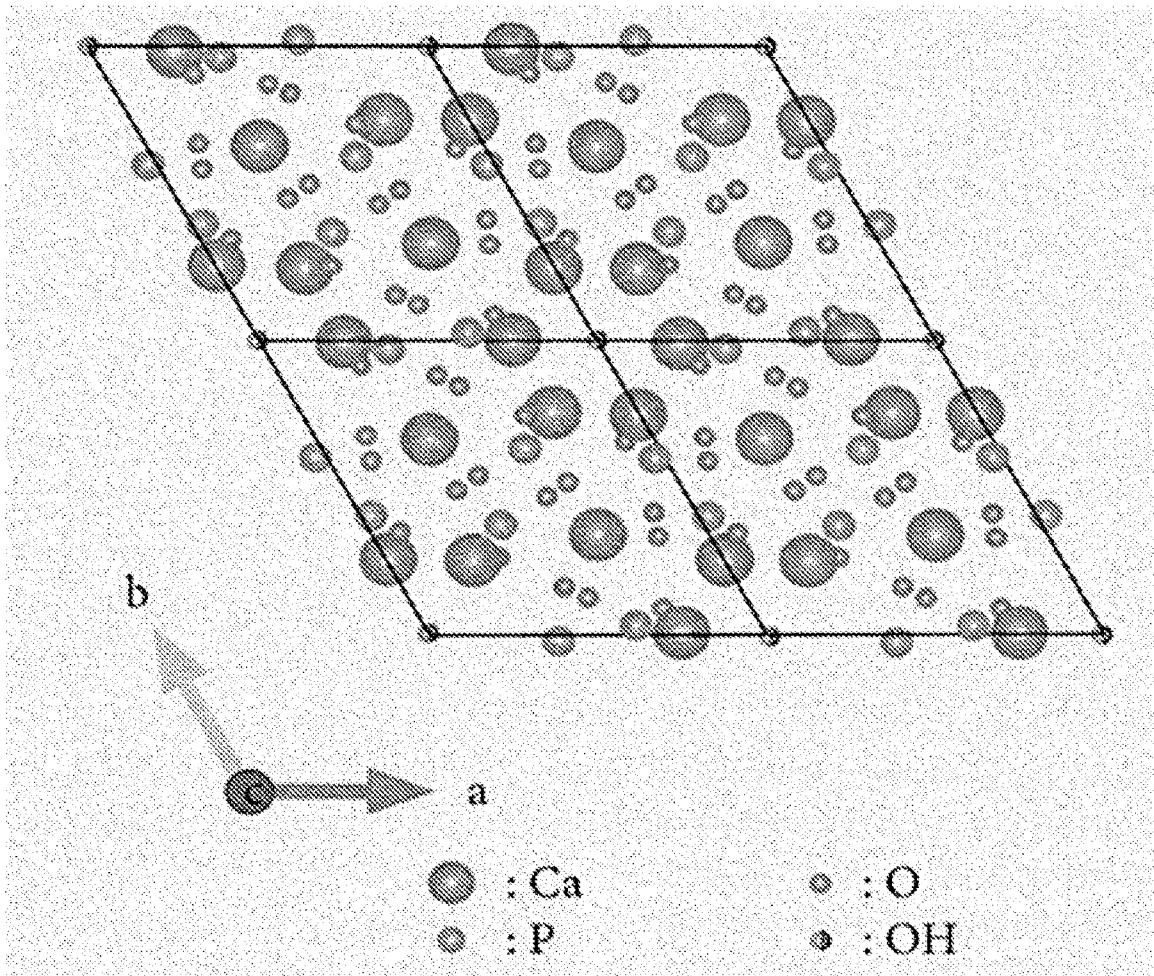


Figura 21

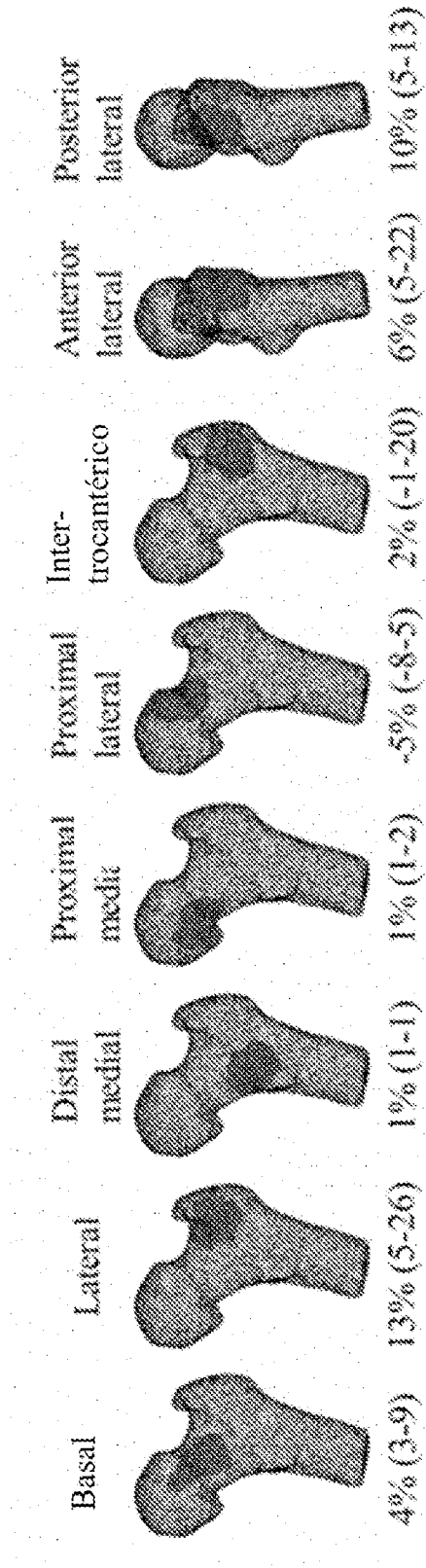


Figura 22

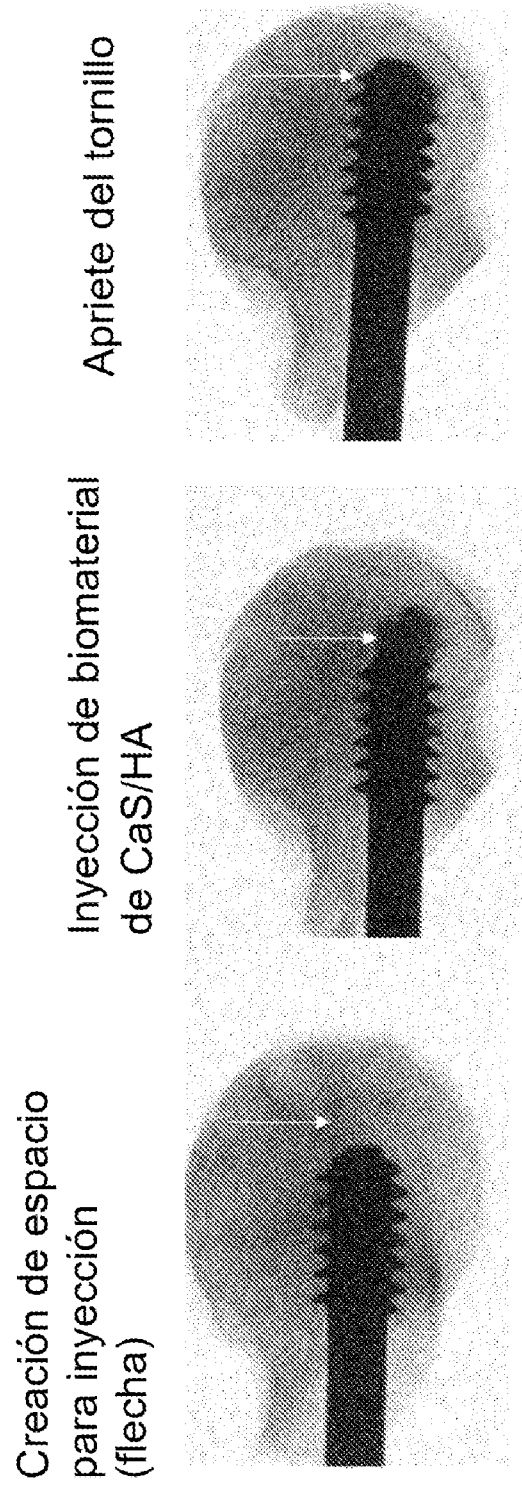


Figura 23

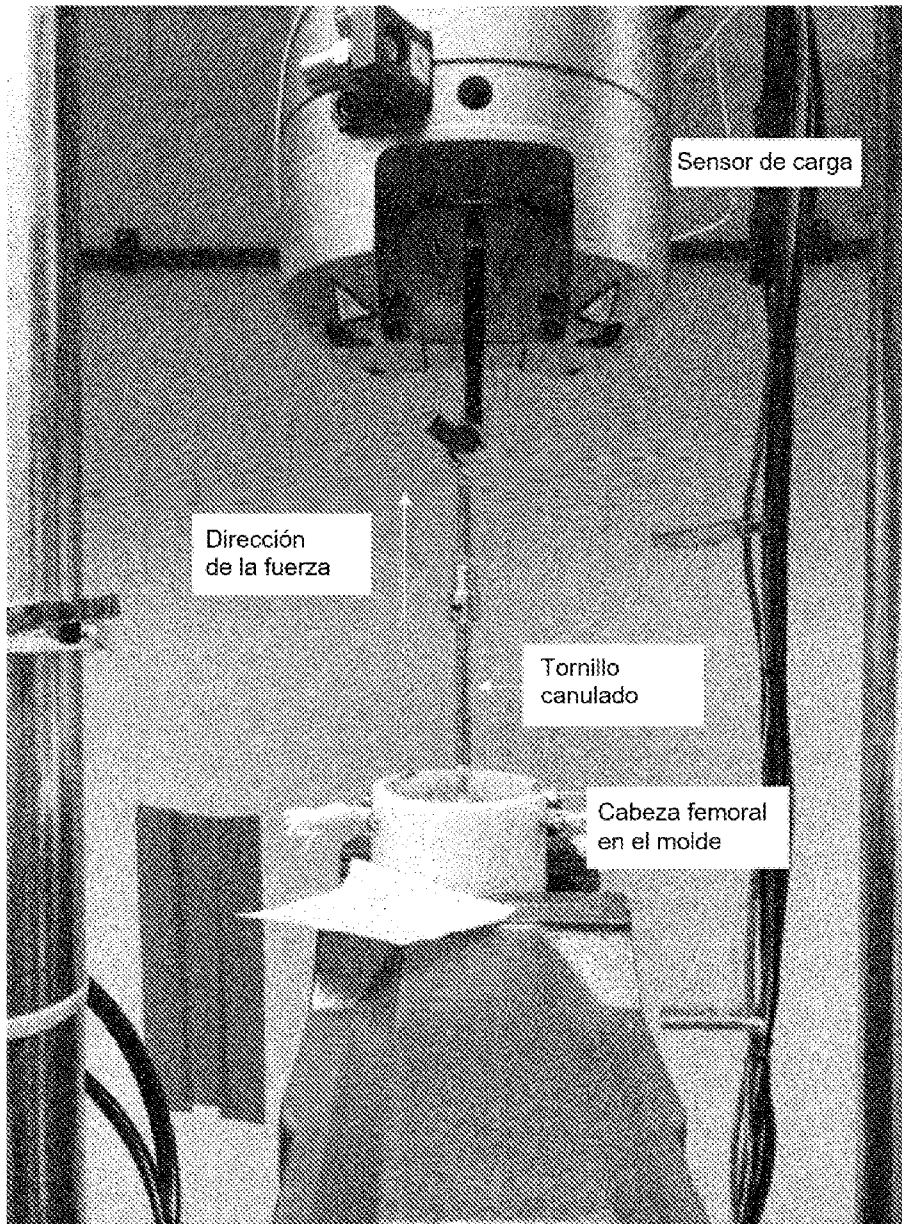


Fig. 24

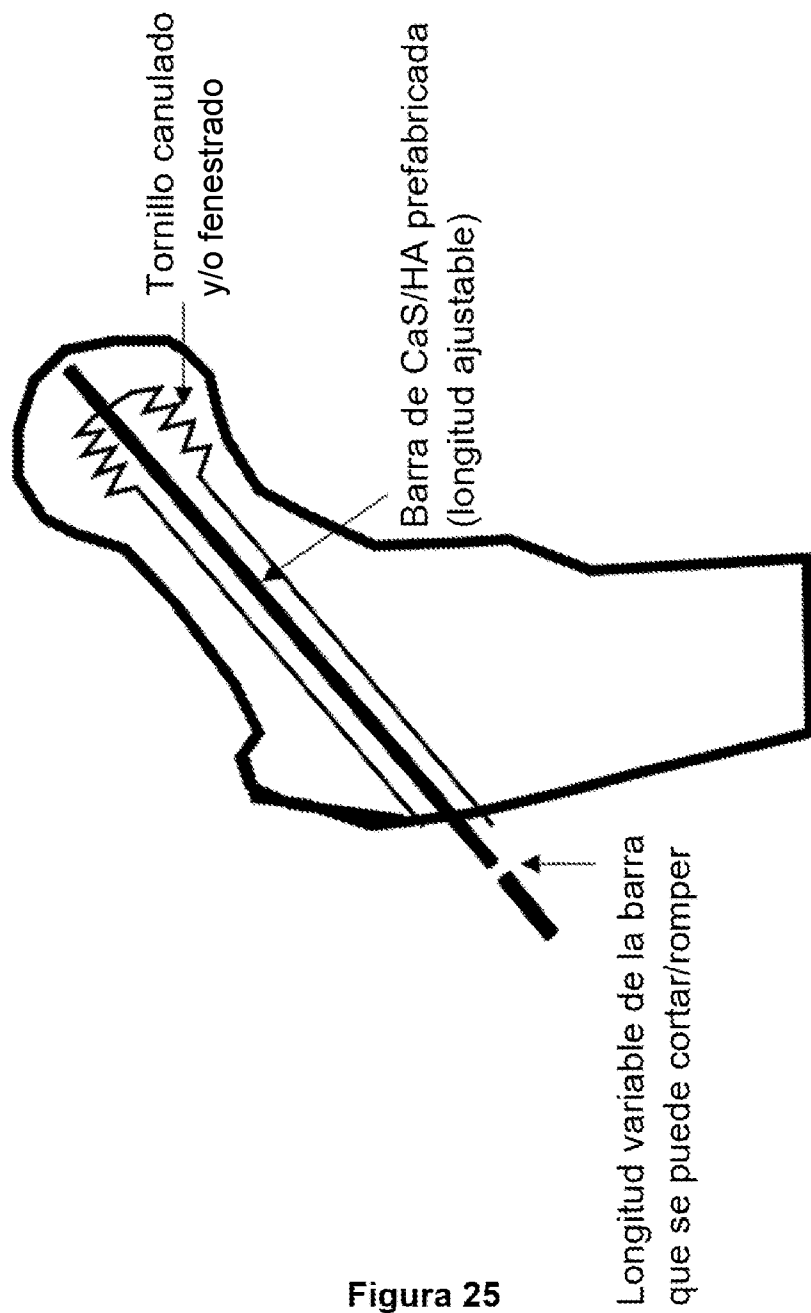
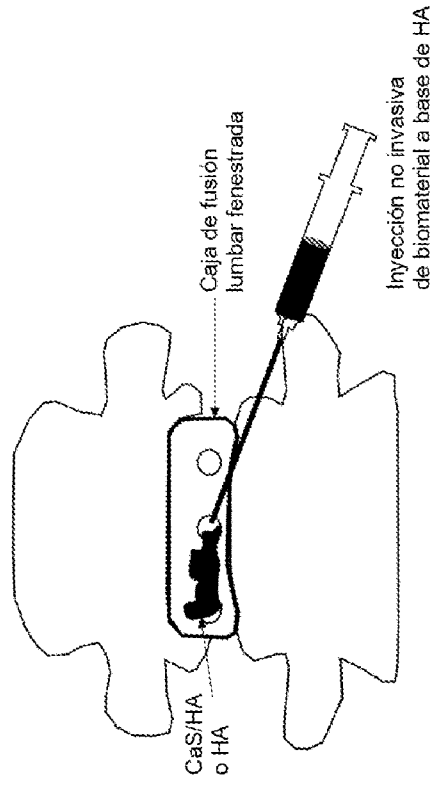
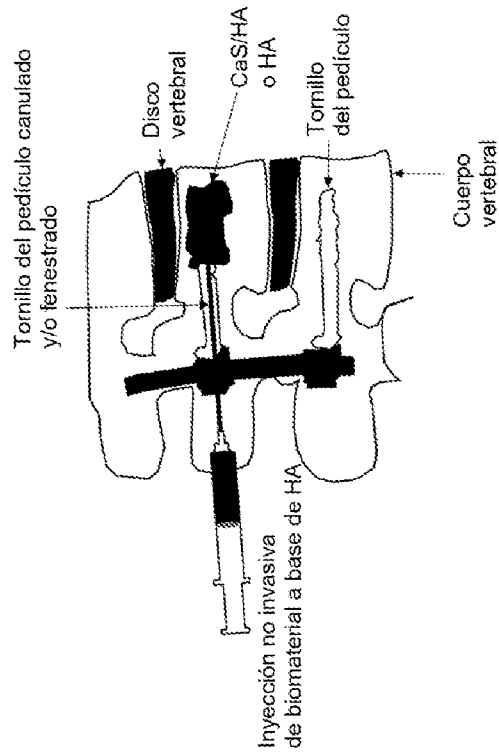


Figura 25

Fusión intercuerpos lumbares



Fijación del tornillo al pedículo



**Figura 26**

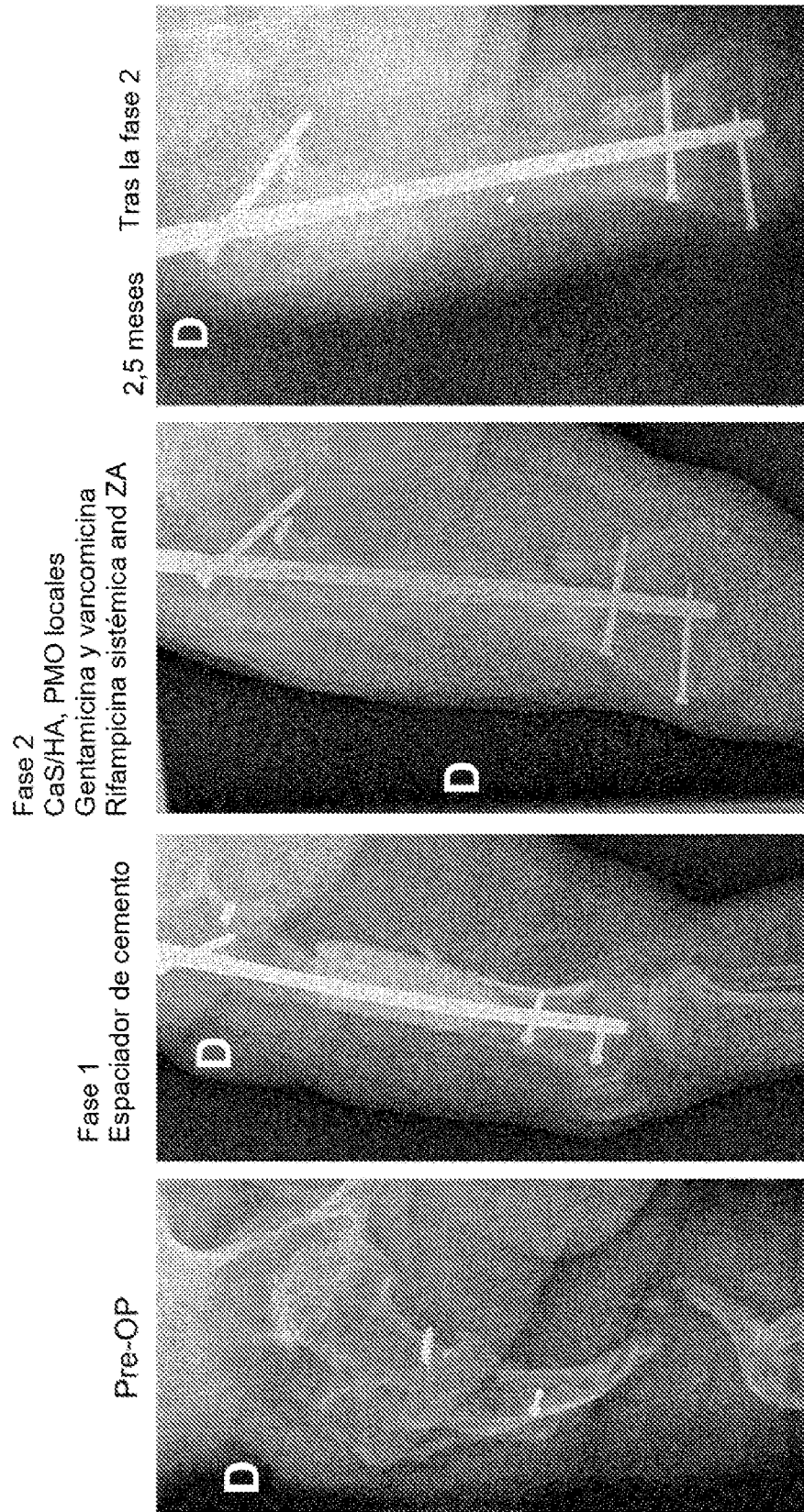


Figura 27