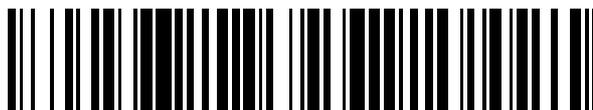


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 370 458**

51 Int. Cl.:
A61L 24/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **08785289 .3**
96 Fecha de presentación: **01.08.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2185207**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **19.05.2010**

54 Título: **COMBINACIÓN PARA LA ADHERENCIA DE TEJIDOS BIOLÓGICOS.**

30 Prioridad:
03.08.2007 DE 102007038125

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.12.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.12.2011

73 Titular/es:
**AESULAP AG
78532 TUTTLINGEN/DONAU
78532 TUTTLINGEN/DONAU, DE y
UNIVERSITÄT ROSTOCK**

72 Inventor/es:
**ODERMATT, Erich;
WEGMANN, Jürgen;
STERNBERG, Katrin y
BEHREND, Detlef**

74 Agente: **Tomas Gil, Tesifonte Enrique**

ES 2 370 458 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

Combinación para la adherencia de tejidos biológicos

5 [0001] La invención se refiere a una combinación, particularmente en forma de una composición adhesiva medicinal, que es adecuada para adherir y/o fijar tejidos biológico y/o sintéticos.

10 [0002] Las técnicas modernas para cerrar heridas se basan cada vez más en el uso de los llamados adhesivos tisulares. Éstos por lo general permiten un fácil manejo. Otras ventajas resultan de una reducción de la formación de cicatrices durante la curación de una herida, de una hipertrofia más baja, así como de la ausencia de tratamientos de seguimiento postoperatorios.

15 [0003] Actualmente están disponibles comercialmente diferentes tipos de adhesivos tisulares. Los llamados adhesivos de fibrina se componen principalmente de proteínas de plasma, particularmente fibrinógeno y trombina. Estos adhesivos intervienen activamente en la cascada de coagulación y normalmente cuentan con buenas características hemostáticas. Los adhesivos de fibrina se fabrican sin embargo, normalmente con fuentes humanas o animales, por lo que su puesta a disposición normalmente conlleva tiempo y es sobre todo cara. Otra desventaja consiste en que no excluyen del todo un riesgo de infección para el paciente.

20 [0004] Por otro lado, los adhesivos parcialmente sintéticos, por ejemplo gelatina-resorcinol-formaldehído, frecuentemente poseen un poder de adherencia más alto que los adhesivos de fibrina descritos anteriormente. Pero en comparación con los adhesivos tisulares naturales generalmente tienen peores características hemostáticas. A través del componente natural de un adhesivo parcialmente sintético, fundamentalmente pueden seguir transmitiéndose infecciones. Adicionalmente, los adhesivos sintéticos frecuentemente están reticulados con un compuesto tóxico, por ejemplo, formaldehído o glutaraldehído

30 [0005] Como consecuencia, se usan cada vez más también exclusivamente adhesivos tisulares fabricados de forma sintética. Estos adhesivos son principalmente composiciones a base de cianoacrilatos. Actualmente se utilizan diferentes cianoacrilatos como adhesivos quirúrgicos. El adhesivo Dermabond® se compone por ejemplo de n-octilo-2-cianoacrilato. Otro ejemplo es el producto adhesivo Histoacryl®, que contiene n-butilo-2-cianoacrilato. Los adhesivos tisulares a base de cianoacrilatos son normalmente de endurecimiento rápido. La utilización de adhesivos de cianoacrilatos provee resultados satisfactorios para el cuidado superficial de la herida. Sin embargo, han de tenerse en cuenta ciertas consideraciones desde el punto de vista toxicológico, en contra de la utilización de adhesivos de cianoacrilatos para el cuidado de heridas internas. A esto se añade, que los compuestos de cianoacrilatos reaccionan con tejidos biológicos con una fuerte reacción exotérmica, con lo que las células sanas en la zona de la herida pueden ser dañadas de forma persistente.

40 [0006] Ya que los adhesivos tisulares parciales como también los totalmente sintéticos, en sus aplicaciones medicinales están sometidos a diversas limitaciones, se buscan constantemente composiciones adhesivas alternativas. Una combinación adhesiva alternativa se describe por ejemplo en EP 1. 719 530 A2. Las composiciones allí divulgadas presentan sin embargo un endurecimiento lento, por lo que su aplicación médica queda igualmente limitada.

45 [0007] El documento WO 96/03159 A1 divulga una composición de adhesivo para la adherencia de tejidos a base de un producto reticular que presenta una proteína y unas unidades de oligolactona.

[0008] Objeto del documento WO 03/035122 A1 es una composición para la adherencia de tejido biológico a base de un polímero portador de grupos aminos y al menos un aldehído que presenta tres grupos aldehídos, donde la composición está libre de albúmina.

50 [0009] Del documento EP 1498128 A1 se conoce una composición medicinal a base de un derivado de quitosano fotoreticulable y un promotor para la cicatrización de heridas.

[0010] El documento WO 98/19718 A1 se refiere a un producto medicinal, que presenta un biopolímero reticulado con genipina y que contiene grupos aminos.

55 [0011] El documento WO 2007/090373 A2 publicado posteriormente se refiere a una combinación, que comprende un péptido, así como una oligolactona terminal funcionalizada.

60 [0012] Del documento US 4,740,534 se conoce un adhesivo quirúrgico a base de un prepolímero de uretano y un compuesto de ciano insaturado. El compuesto de ciano puede ser de cianoacrilatos o ciano acrilonitrilos. Como ya se ha mencionado, particularmente el uso de compuestos de cianoacrilatos tiene ciertas desventajas.

65 [0013] Otro adhesivo biológico se conoce del documento WO 2005/118011 A1. La composición de adhesivo allí descrita presenta una mezcla de prepolímeros reticulables, que están modificados con grupos de isocianato. La desventaja en este tipo de composición de adhesivo, es su viscosidad comparativamente baja, donde particularmente en heridas con fuerte sangrado se corre básicamente el riesgo de que la composición sea arrastrada fuera de la zona de la herida. Esta

composición de adhesivo también presenta un tiempo de gelificación o endurecimiento comparativamente largo. Esto puede conducir particularmente en sangrados fuertes a complicaciones adicionales.

5 [0014] La invención se pone por consiguiente como tarea, poner a disposición una combinación adecuada de composición de adhesivo para la adherencia de tejidos biológicos, que sea fácilmente manejable y particularmente adecuada tanto para el cuidado interno como también para el cuidado superficial de las heridas.

10 [0015] Esta tarea se resuelve con una combinación, particularmente para adherir y/o fijar tejidos biológicos y/o sintéticos, que comprende los componentes

- a) al menos un, particularmente un, polisacárido funcionalizado con nitrógeno y
- b) al menos una, particularmente una, oligolactona terminal funcionalizada.

15 [0016] El proceso de adherencia de la combinación según la invención, que preferiblemente es una composición de adhesivo quirúrgica, se basa en una reacción de sus componentes. Con una ventaja especial, se trata aquí de una reticulación in situ de los polisacáridos funcionalizados con nitrógeno con las oligolactonas terminales funcionalizadas. Por la funcionalización terminal, las oligolactonas de la combinación constituyen *partners* de reticulación adecuados, particularmente reactivos, para los polisacáridos. La reticulación se basa particularmente en ligamentos covalentes. Junto a ello también pueden desempeñar un papel procesos de reticulación físicos. A través de la reacción entre los
20 componentes de la combinación, pueden formarse cicatrizaciones de heridas, cuyas resistencias son significativamente más altas que por ejemplo, en una aplicación de adhesivos de fibrina convencionales clínicamente probados. La adherencia al tejido biológico se alcanza además a parte de esto, por la reacción de los grupos terminales funcionales de las oligolactonas con proteínas tisulares.

25 [0017] En una forma de realización preferida, el polisacárido es un polisacárido de origen natural. El polisacárido puede ser por ejemplo un glicosaminoglucano (mucopolisacárido). Un ejemplo de un polisacárido de origen natural preferido, es ácido hialurónico. El ácido hialurónico puede tener por ejemplo un peso molecular de al menos 20 kDa (kilodalton).

30 [0018] Adicionalmente o alternativamente a los polisacáridos citados con anterioridad, el polisacárido utilizado según la invención puede ser derivado de un polisacárido de origen natural. Típicamente se trata en este caso de un polisacárido químicamente modificado. En esta variante la funcionalización con nitrógeno del polisacárido se basa en la modificación química. Para esto, se contemplan fundamentalmente todos los polisacáridos que tienen acceso a una funcionalización de este tipo.

35 [0019] Según la invención también es posible que el polisacárido de la combinación sea un polisacárido totalmente sintético.

40 [0020] En una forma de realización especialmente preferida, el polisacárido es un polisacárido portador de grupos aminos, en particular grupos aminos primarios. Preferiblemente, la proporción de unidades de monosacáridos en el polisacárido, que portan un grupo amino, es de al menos un 30%, preferiblemente de un 80%. El polisacárido posee preferiblemente un peso molecular de 10 hasta 350 kDa, particularmente aprox. de 200 kDa.

45 [0021] En una forma de realización adicional, el polisacárido es un glicosaminoglucano desacetilado al menos en parte. La utilización de un derivado de glicosaminoglucano correspondiente también es posible. Como polisacáridos adecuados se tienen en cuenta particularmente al menos, sulfato de condroitina desacetilado en parte, sulfato de queretano y/o ácido hialurónico.

50 [0022] En una forma de realización especialmente preferida, el polisacárido presenta un grado de desacetilación de entre un 50 y un 98%, particularmente de entre un 60 y un 95%, preferiblemente de entre un 80 y un 90%.

55 [0023] De forma especialmente preferida el polisacárido es un quitosano. La utilización de quitosano es especialmente ventajosa por sus cualidades para detener hemorragias (hemostáticas) y antimicrobianas particularmente. Según la invención, puede estar previsto además, que el polisacárido sea un derivado de quitosano. El quitosano posee preferiblemente un peso molecular de entre 15 y 270 kDa. El quitosano presenta preferiblemente un grado de desacetilación de aprox. un 86 %.

60 [0024] En otra forma de realización, la combinación presenta varios polisacáridos diferentes funcionalizados con nitrógeno. Éstos particularmente pueden estar contenidos en la combinación en forma de una mezcla. Con respecto a los polisacáridos apropiados, se hace referencia a la descripción anterior.

65 [0025] La oligolactona terminal funcionalizada utilizada en el marco de la presente invención sirve preferiblemente como reticulante. Como oligolactonas se denominan en el sentido de la presente invención "ésteres internos" de ácidos hidroxicarboxílicos y por consiguiente en un sentido ampliado también, oligoglicólidas, oligoláctidos, así como oligolactonas compuestas, particularmente a base de glicólido y láctido. Éstos pueden fabricarse por ejemplo por polimerización de apertura de anillo u oligomerización.

[0026] Para la fabricación de la oligolactona se utilizan preferiblemente catalizadores. Los catalizadores pueden ser fundamentalmente compuestos de estaño. Los compuestos de cinc y/o hierro son especialmente preferidos por su buena biocompatibilidad.

5 [0027] Según la invención la oligolactona presenta grupos de isocianato terminales. Esto es especialmente ventajoso, puesto que una correspondiente combinación con polisacáridos funcionalizados con nitrógeno y con oligolactonas modificadas con grupos de isocianato, reacciona a un compuesto de adhesivo con una adherencia aumentada en sustratos a adherir, particularmente tejidos biológicos.

10 [0028] Para la funcionalización terminal de las oligolactonas, éstas preferiblemente son transformadas con diisocianatos. Las oligolactonas de la combinación según la invención se modifican preferiblemente en su extremo o sus extremos con un grupo de isocianato alifático. La utilización de diisocianatos alifáticos, particularmente hexametilenodiisocianato (HMDI), para la funcionalización de la oligolactona es especialmente preferida, ya que pueden formar a partir de diisocianatos aromáticos, diaminas carcinógenas. Con una transformación estequiométrica no es necesaria una purificación. En caso necesario sin embargo, puede llevarse a cabo una purificación. Para ello, dependiendo de la estructura, así como de la resistencia térmica de la oligolactona fabricada, puede efectuarse por ejemplo de una destilación.

20 [0029] La oligolactona presenta en otra forma de realización un alcohol polivalente, al menos bivalente. Como alcoholes adecuados se tienen en consideración particularmente etilenglicol (1,2-etanodiol) y/o glicerina (1,2,3-propanotriol).

25 [0030] La oligolactona preferiblemente está formada por un alcohol polivalente y ácidos hidroxicarboxílicos, particularmente glicol y/o ácido láctico. Preferiblemente se esterifica al menos un grupo hidroxilo del alcohol polivalente con unidades de ácido hidrocarboxílico, particularmente con unidades de ácido láctico y/o de ácido de glicol. En el caso de un alcohol bivalente se prefiere especialmente, cuando ambos grupos hidroxilos se presentan de forma esterificada. Los grupos hidroxilos del alcohol polivalente están preferiblemente, al menos en parte, esterificados con una cadena de 1 hasta 10, particularmente de 2 hasta 5, unidades de ácido hidroxicarboxílico. Con número creciente de las unidades, aumenta la viscosidad de la oligolactona así como del adhesivo obtenido en el marco de una reacción con el polisacárido funcionalizado con nitrógeno. Las oligolactonas descritas en el marco de esta forma de realización, de alcohol polivalente y unidades de ácido hidroxicarboxílico portan en la o las unidades terminales de ácido hidroxicarboxílico grupos funcionales, que forman la funcionalización terminal de la oligolactona.

30 [0031] Preferiblemente la oligolactona es un etilenglicol-oligolactido (EOL). Además, pueden utilizarse otras oligolactonas, particularmente etilenglicololigolactido (EOG $1/2$, M = 294,2 g/mol), pentaeritrololigolactido (POL $1/4$, M = 712,6 g/mol), glicerololigolactido (GOL 1/0,5, M = 164,1 g/mol) y glicerololigolactido-co-glicólido (GOLG 1/1/3, M = 584,4 g/mol).

40 [0032] Según la invención puede estar previsto además, que la combinación presente varias oligolactonas diferentes, particularmente en forma de una mezcla. Respecto a las oligolactonas que se tienen en consideración, se remite a las formas de realización precedentes.

45 [0033] Si se desea una reacción rápida de los componentes de la combinación y con ello una rápida adhesión, se puede usar en el marco de la combinación según la invención como otro componente un catalizador para la reacción entre los polisacáridos funcionalizados con nitrógeno y las oligolactonas terminales funcionalizadas. Con el uso de un catalizador de este tipo, la reacción de los grupos hidroxilos de los polisacáridos, en el caso de polisacáridos que portan grupos aminos también o sobre todo los grupos aminos, pueden acelerarse de manera importante con los grupos funcionales terminales de la oligolactona. Una aceleración catalítica de la reacción entre los componentes, puede ser útil sobre todo para uso medicinal. Puede por ejemplo, ser deseable en heridas de fuerte sangrado, la utilización de un catalizador, mientras por ejemplo en el pegado de huesos puede ser útil un endurecimiento más lento de la combinación, para permitir una adaptación con la posibilidad de una corrección posterior.

50 [0034] Como catalizadores adecuados se tienen en cuenta particularmente aminas, amidinas, ventajosamente 2,3-dimetil-3,4,5,6-tetrahidropirimidina, una amina terciaria, ventajosamente trietilamina, tributilamina, dimetilbencilamina, N-metilo, N-etilo, N-ciclohexilmorfolina, N, N, N', N'-tetrametiletildiamina, N, N, N', N'-diaminoetileter, bis-(dimetilamino-propil)urea, dimetilpiperacina, 1,2-dimetilimidazol, 1-aza-biciclo-(3,3,0)-octano y preferiblemente 1,4-diaza-biciclo-(2,2,2)-octano y/o una alcanolamina, como trietanolamina, triisopropanolamina, N-metilo y N-etilo dietanolamina y di-metiletanolamina, preferiblemente 1,4-di-aza[2,2,2]biciclo-octano (Dabco).]]

60 [0035] La proporción del polisacárido en la combinación suma en una forma de ejecución preferida de un 1 hasta un 80 % en peso, particularmente de un 5 hasta un 70 % en peso. La proporción de oligolactona en la combinación suma preferiblemente de un 20 hasta un 99 % en peso, particularmente de un 30 hasta un 95 % en peso. Los datos porcentuales de peso se refieren a la masa total de la combinación sin disolventes.

65 [0036] Por variación de la proporción del polisacárido y/o proporción de la oligolactona en la combinación se puede adaptar de manera especialmente ventajosa la fuerza de pegado o adhesiva de la composición adhesiva que resulta de la combinación después de la reacción sus componentes al propósito de uso respectivo.

Así puede lograrse particularmente con una mayor proporción de oligolactona un mayor grado de reticulación tras mezclarla con el polisacárido. Con una mayor cantidad de oligolactona en la combinación, pueden incluirse también de forma reforzada grupos reactivos hidroxilos y/o aminos de substratos a pegar, particularmente tejidos biológicos, en la reticulación, con lo que en general se incrementa la fuerza adhesiva (la adhesividad o fuerza de sujeción).

[0037] En una forma de realización adecuada, el polisacárido y /o la oligolactona se encuentran dispersos en uno o varios disolventes, preferiblemente disueltos. Preferiblemente el disolvente es agua. Además, pueden utilizarse disolventes orgánicos, que sean razonablemente biológicamente compatibles. Un disolvente apropiado es dimetilsulfóxido (DMSO). En una forma de realización preferida, el disolvente es una mezcla de disolvente de DMSO y agua.

[0038] La oligolactona se encuentra en otra forma de realización, en forma de una solución orgánica, preferiblemente una solución DMSO, particularmente con una proporción de oligolactona de entre un 50 y un 99 % en peso, particularmente 70 y 90% en peso, preferiblemente aprox. 80% en peso, referido al peso total de la solución.

[0039] El polisacárido y la oligolactona se presentan por separado. Ventajosamente polisacárido y oligolactona se mezclan cuando

[0040] se desea una reacción entre ellos. En una forma de realización oportuna, la combinación según la invención ya está contenida en un dispositivo de aplicación. Los componentes pueden por ejemplo aparecer por separado el uno del otro en cartuchos individuales, que se emplazan preferiblemente en una unidad de mezcla. Preferiblemente el polisacárido y la oligolactona se encuentran por separado en las cámaras de una jeringa multicomponente, particularmente en una jeringa de dos componentes o jeringa de doble cámara, aproximadamente del tipo Mixpack (Mixpack Systems AG, Rotkreuz, Suiza). La jeringa multicomponente posee oportunamente un mezclador para extrusión para la mezcla de los componentes de la combinación inicialmente presentes por separado.

[0041] Según la invención, se prefiere además que la combinación esté contenida en un dispositivo de pulverización. El dispositivo de pulverización puede presentar igualmente al menos dos cámaras. De esta manera con una especial ventaja, los componentes de la combinación, particularmente el polisacárido y la oligolactona, pueden almacenarse por separado hasta su uso real.

[0042] En otra forma de realización, se inicia o comienza una reacción, preferiblemente reticulación, de los componentes tras su mezcla en un substrato a adherir durante un periodo de tiempo de < 100 segundos, particularmente < 80 segundos, preferiblemente < 60 segundos.

[0043] En una forma de realización adicional el polisacárido aparece en forma de una dispersión acuosa, particularmente solución acuosa. El polisacárido se encuentra preferiblemente en forma de una solución acuosa con una proporción de polisacárido de un 2 hasta un 5 % en peso, preferiblemente de un 3 hasta un 4 % en peso, referido al peso total de la solución.

[0044] En otra forma de realización la combinación presenta aditivos, excipientes y/o cargas. Las sustancias aditivas y/o excipientes pueden ser sustancias antimicrobianas, particularmente sustancias activas antibióticas. Las cargas pueden ser por ejemplo gelatina, colágeno y/o albúmina. La utilización de gelatina y/o colágeno tiene la ventaja adicional, de que estos compuestos también tienen características hemostáticas. Las cargas preferidas, particularmente para la adhesión de tejido duro, se seleccionan del grupo fosfato dicálcico, fosfato tricálcico e hidroxilapatita. En el caso del fosfato tricálcico puede tratarse particularmente de β -fosfato tricálcico. Los carbonatos, por ejemplo, carbonato de calcio y materiales óxidos, por ejemplo dióxido del silicio, son otros ejemplos de posibles cargas. Finalmente, en el caso de los aditivos o excipientes, puede tratarse también de factores de crecimiento, de compuestos antiinflamatorios, desinfectantes y/o antimicrobianos.

[0045] Según la invención, puede estar previsto que la combinación esté conformada por el polisacárido funcionalizado con nitrógeno y la oligolactona terminal funcionalizada, eventualmente también por al menos un aditivo o excipiente. En referencia a esto se remite a la descripción anterior.

[0046] En una forma de realización ventajosa el polisacárido y/o la oligolactona se presentan en forma esterilizada. Los componentes de la combinación según la invención pueden presentarse por ejemplo por separado en cartuchos individuales. Los cartuchos pueden estar emplazados ventajosamente en una unidad de mezcla. Preferiblemente, los componentes se empaquetan de forma estéril, particularmente en una jeringa multicomponente, preferiblemente con un mezclador para extrusión conectado. Una esterilización de la combinación o de sus componentes individuales según la invención, se puede lograr ventajosamente sin variación de la estructura. Esto se puede realizar por ejemplo mediante una filtración estéril de las soluciones correspondientes. Preferiblemente, la combinación comprende una solución del polisacárido funcionalizado con nitrógeno, donde la solución del polisacárido se esteriliza por esterilización de vapor. Las oligolactonas terminales funcionalizadas, se llevan preferiblemente mediante una γ -esterilización a una forma esterilizada. Fundamentalmente también es posible un envasado aséptico de los componentes de la combinación según la invención. Sin embargo, pueden realizarse tanto la esterilización de vapor como también la esterilización mediante radiación- γ de forma particularmente ventajosa en la combinación que se presenta ya empaquetada. La combinación

según la invención puede presentarse también en forma confeccionada.

[0047] La combinación se presenta según una forma de realización especialmente preferida como composición de adhesivo.

[0048] La combinación es apropiada especialmente para la adherencia y/o fijación de tejidos biológicos, donde los tejidos a adherir preferiblemente son tejido duro y/o blando. En el caso del tejido duro a adherir, puede tratarse particularmente de tejido óseo, por ejemplo en forma de cavidades óseas, y/o extracciones dentales. Los tejidos blandos a adherir pueden ser particularmente órganos, vasos sanguíneos y/o tejido parenquimal. Como posibles órganos se observan particularmente hígado, riñón, bazo y/o pulmón.

[0049] La combinación según la invención puede emplearse además para la fijación y/o estanqueización de implantes, particularmente redes para hernias, prótesis vasculares, catéteres, endoprótesis y/o materiales de recambio para la duramadre. Una posibilidad es por ejemplo la fijación de una red para hernias en la pared abdominal. El material de recambio de duramadre puede ser particularmente un pericardio de bovino. Con la aplicación de la combinación según la invención no es necesario coser el material de recambio, con lo que se pueden ahorrar tiempo y costes de tratamiento. Otra aplicación ventajosa de la combinación, es la estanqueización de anastomosis y/o apósitos (parches) en órganos huecos, por ejemplo, vasos sanguíneos. La combinación según la invención puede utilizarse además, para la aplicación potencial en la medicina regenerativa (tissue engineering), para la fijación de los llamados "Drug-Delivery-Devices" (dispositivos para suministro de medicamentos) y particularmente de estructuras de soporte porosas y/o membranas.

[0050] Otro campo de aplicación de la combinación según la invención es la curación particularmente de heridas infectadas. En principio, es posible una aplicación de la combinación en la cirugía plástica, reconstructiva y/o cosmética, especialmente para evitar la formación de cicatrices, que son causadas sobre todo al coser las heridas.

[0051] En una forma de realización especialmente preferida, se usa la combinación para el cierre o para el sellado o la estanqueización de fugas de fluido y/o de aire en el cuerpo humano y/o animal. La combinación puede utilizarse por ejemplo para sellar fugas pulmonares, fugas intestinales, fugas de vejiga, fugas de uréter, pericardios, anastomosis de intestino y/o de vasos sanguíneos. Además, la combinación también es adecuada para sellar sangrados de orificio de punción en la cirugía vascular, así como para el sellado en operaciones de bypass arteriales. El compuesto adhesivo que surge por la reticulación de la combinación presenta preferiblemente características elásticas, lo que es ventajoso particularmente en tejidos de fuerte expansión, por ejemplo el tejido pulmonar, pero también en tejidos pulsantes, por ejemplo vasos sanguíneos.

[0052] En otra forma de realización posible, se puede utilizar la combinación para el sellado de sangrados mínimamente invasivos. La aplicación se realiza adecuadamente mediante un trocar. Una aplicación de la combinación, para el relleno de huecos de extracciones dentales y/o defectos de hueso, puede estar prevista igualmente según la invención. Adicionalmente o alternativamente a las posibilidades de empleo descritas hasta ahora, es pensable según la invención, utilizar la combinación para la fijación de músculos, ligamentos y/o tendones a huesos. La combinación puede ser usada además para la adhesión de bordes de herida. También es posible el tratamiento de heridas inducidas quirúrgicamente con la combinación según la invención, por ejemplo tras la eliminación de un tumor.

[0053] La combinación según la invención permite además también un uso en casos especialmente difíciles, particularmente en el tratamiento de heridas crónicas. En tales heridas surge tras el tratamiento quirúrgico necesario una fuerte tensión, que dificulta normalmente la curación de la herida. La alta fijación del cierre de las heridas según la invención, permite también en estos casos un sellado resistente e impide particularmente infecciones en las heridas. Tras terminación de la reacción de reticulación se pueden aplicar sobre las heridas cerradas de esta forma, por ejemplo vendajes compresivos, para impedir una formación de edema.

[0054] La presente invención comprende también una composición, en la que los componentes de la combinación según la invención se mezclan entre sí y los polisacáridos funcionalizados con nitrógeno están reticulados entre sí al menos en parte mediante las oligolactonas terminales funcionalizadas. Como ya se ha dicho, la reticulación puede basarse especialmente en ligamentos covalentes, donde sin embargo también ha de tenerse en cuenta una reticulación física. También se prefieren incluir grupos funcionales reactivos, especialmente grupos hidroxilos y/o aminos de substratos a adherir en la reticulación de la composición según la invención. La composición presenta ventajosamente una buena biotolerancia.

[0055] Objeto de la invención es por consiguiente también una composición de adhesivo, que presente la combinación según la invención, esto es, los componentes a) y b). En otras palabras, la presente invención se refiere también a una composición de adhesivo, especialmente para la adherencia y/o fijación de tejidos biológicos y/o sintéticos, que comprende los componentes

a) al menos un, particularmente un, polisacárido funcionalizado con nitrógeno

b) al menos una, particularmente una, oligolactona terminal funcionalizada.

[0056] En relación a otros detalles y características se remite por lo tanto a la descripción precedente y siguiente.

[0057] Una ventaja del adhesivo que resulta de la reacción de la combinación según la invención, es su biodegradabilidad. Mediante la reticulación de los polisacáridos funcionalizados con nitrógeno sobre la oligolactona terminal funcionalizada, resulta una adhesión muy resistente, que puede ser resorbida de manera ideal en el transcurso del proceso de curación. Aquí, son particularmente ventajosas la fase de endurecimiento inicial, vinculada con características adhesivas altas, y la lenta resorción en el cuerpo dependiente del tiempo en procesos de curación avanzada. Preferiblemente el adhesivo es resorbido durante un período de aproximadamente 1 año (biodegradado), preferiblemente durante un período de 2 hasta 6 meses. El mecanismo de la resorción puede basarse por ejemplo en procesos hidrolíticos y/o enzimáticos. En particular, los polisacáridos funcionalizados con nitrógeno pueden ser divididos y diferentes fragmentos de ellos extraídos y segregados. Alternativamente los fragmentos, particularmente los monosacáridos, pueden también introducirse en células.

[0058] La presente invención comprende además un producto médico-técnico, particularmente para adherir y/o fijar tejidos biológicos y/o sintéticos, que presenta la combinación según la invención. El producto médico-técnico es preferiblemente un implante, por ejemplo una red para hernias. Además, el producto médico-técnico pueden ser materiales de recambio, particularmente para el cierre y/o la estanqueización de la duramadre. El producto médico-técnico puede además ser un implante dental, en especial para el relleno de huecos de extracciones dentales. Según la invención es igualmente posible, que el producto médico-técnico sea un implante óseo, en especial para el tratamiento y/o relleno de defectos óseos.

[0059] Preferiblemente el producto médico-técnico es un producto hemostático (medio para detener hemorragias o hemostático). En esta forma de realización el producto médico-técnico es adecuado preferiblemente para el sellado de heridas sangrantes interiores y exteriores. La combinación según la invención, forma tras la mezcla de sus componentes con especial ventaja una masa pastosa y particularmente pegajosa, la cual por ejemplo, tras la aplicación sobre una zona herida a curar, constituye una especie de barrera física para líquidos corporales, particularmente sangre y/o exudado. De esta manera se impide con especial ventaja una salida de la sangre de la zona herida, con lo que se enriquecen las plaquetas sanguíneas y particularmente los factores de coagulación. Esto conlleva ventajosamente una hemostasia acelerada en la zona herida.

[0060] En una forma de realización preferida se trata de un producto médico-técnico para el pegado de tejido blando. Tejido blando, conforme a lo anteriormente mencionado, son principalmente órganos, vasos sanguíneos y/o tejido parenquimal. Especialmente preferido es el uso del producto médico-técnico para pegar rupturas de diferentes órganos, por ejemplo el hígado, el riñón y/o el bazo. Además, el producto médico-técnico se puede usar para el cierre de fugas, particularmente fugas pulmonares. La masa pastosa resultante de la mezcla de los componentes de la combinación según la invención, posee ventajosamente una elasticidad alta, lo que es particularmente una ventaja en tejidos de gran expansión.

[0061] En otra forma de realización el producto médico-técnico es adecuado para el pegado de tejido duro, particularmente de huesos. Para pegar huesos, así como para una rápida integración de implantes, particularmente en el área de los huesos, la aceptación del material implantado por las células del hueso, es de particular importancia. Esto por supuesto también se aplica al adhesivo utilizado. A través de la rápida colonización con osteoblastos y su posterior maduración, puede favorecerse una formación nueva del hueso y acortarse considerablemente en parte el proceso de curación. En esta forma de realización, el producto médico-técnico es por lo tanto adecuadamente un implante con una superficie microestructurada, donde la combinación según la invención presenta ventajosamente esta estructura de superficie, y ayuda particularmente a la renovación del hueso. Es posible además, también una aplicación en roturas complicadas. De esta manera, por ejemplo, con ayuda del producto médico-técnico según la invención pueden insertarse nuevamente astillas de hueso. El producto médico-técnico es adecuado además preferiblemente para la fijación de fracturas conminutas, por ejemplo en la zona craneofacial o en las extremidades, particularmente en la fractura de cabeza radial.

[0062] La presente invención se refiere además a un kit, particularmente de adhesivo, que comprende al menos dos, preferiblemente dos, recipientes. Un envase contiene un polisacárido funcionalizado con nitrógeno y el otro envase una oligolactona terminal funcionalizada. Los recipientes del kit según la invención son preferiblemente las cámaras de una jeringa multicomponente, particularmente una jeringa de dos componentes o doble. La jeringa presenta oportunamente un mezclador para extrusión para mezclar el polisacárido y la oligolactona. Además, los recipientes también pueden ser parte de un aplicador de aerosol o de un dispositivo de pulverización. En relación a otros detalles y características, particularmente en cuanto al polisacárido y/o la oligolactona utilizados, se remite a la descripción precedente.

[0063] En otro aspecto, la invención se refiere a un procedimiento in vitro para la adhesión, donde los componentes de la combinación según la invención se ponen en contacto el uno con el otro, con al menos uno, preferiblemente al menos dos, sustratos a pegar; que presenta grupos funcionales reactivos. Los grupos funcionales de los sustratos a pegar son preferiblemente grupos hidroxilos y/o aminos. En los procesos adhesivos se realiza la unión de los sustratos preferiblemente por una reticulación de grupos hidroxilos y/o eventualmente aminos de los polisacáridos funcionalizados con nitrógeno y los sustratos a través de la oligolactona.

5 [0064] Aquí, es preferido al menos uno de los sustratos un órgano, tejido, compartimento dental y/o hueso. Como compartimentos dentales se tienen en consideración particularmente esmalte y/o dentina. Preferiblemente los sustratos son bordes de heridas, que deben adherirse. Alternativamente puede tratarse sin embargo también por ejemplo, de sustratos inorgánicos u orgánicos que han de pegarse entre sí, que no son tejidos, como superficies de plástico o cerámicas. El proceso adhesivo puede llevarse a cabo en particular en un medio acuoso.

10 [0065] Además, es posible utilizar como sustratos no sólo sustratos macroscópicos, sino también otros reactivos, que contienen preferiblemente grupos hidróxilos y/o aminos. Estos pueden estar unidos entre sí, pero también con portadores fijos. Sustratos posibles son por ejemplo, compuestos de bajo peso molecular, particularmente péptidos, y/o células. En relación a otros sustratos a tener en cuenta, se remite a la descripción precedente.

15 [0066] La presente invención se refiere finalmente también a la utilización de la combinación según la invención para la fabricación de un producto médico-técnico. En relación con otros detalles y características del producto médico-técnico se remite a la descripción precedente.

20 [0067] Con la invención se pone a disposición con especial ventaja un preparado de combinación, que tiene especialmente amplio uso en el sector medicinal. La combinación según la invención es adecuada, conforme a lo anteriormente mencionado, especialmente para la adhesión de heridas internas y externas. La combinación es adecuada también para el tratamiento de heridas crónicas y/o de fuerte sangrado. Con especial ventaja puede adaptarse la viscosidad y fluidez de la combinación según la invención, en dependencia por ejemplo, de la longitud de la herida a adherir y particularmente de la profundidad de brecha de la herida o de los sustratos a adherir. Esto puede verse influido por ejemplo por el tipo de los polisacáridos y/o las oligolactonas, particularmente por su longitud (número de unidades de ácido hidrocarboxílico esterificadas). Estos parámetros pueden estar influenciados adicionalmente por la elección de un disolvente o una mezcla de disolvente, donde el tipo del disolvente igualmente tiene importancia. Junto a esto o alternativamente, se pueden utilizar también aditivos, por ejemplo medios tixotrópicos, particularmente fosfatos de calcio nanodispersos (p.ej. β -fosfato tricálcico) o ácidos silícicos nanodispersos, para la adaptación de la viscosidad y fluidez.

30 [0068] Otras características y ventajas de la invención resultan de la siguiente descripción de las figuras, de los ejemplos en relación con las reivindicaciones secundarias. Aquí las características individuales pueden materializarse respectivamente por sí solas, o en conjunto en combinación las unas con las otras.

35 [0069] En las figuras se representa lo siguiente:

Figura 1: esquema de reacción para la fabricación de EOL-NCO,

Figura 2: parte de una molécula de quitosano,

40 Figura 3: pruebas dinámicas para la determinación del punto de gelificación de un adhesivo de fibrina (representación del módulo de almacenamiento G' [Pa] y módulo de pérdida G'' [Pa] contra el tiempo t [s]),

45 Figura 4: pruebas dinámicas para la determinación del punto de gelificación en una combinación según la invención (EOL-NCO (γ -esterilizado)/protasano UPCI 213 (esterilizado con vapor de agua), representación del módulo de almacenamiento G' [Pa] y módulo de pérdida G'' [Pa] contra el tiempo t [s]),

50 Figura 5: resistencia adhesiva de diferentes sistemas adhesivos, incluidas combinaciones según la invención, sobre tejido muscular de bovino a temperatura ambiente (sobre la ordenada se relaciona la resistencia adhesiva $[N/m^2]$ y sobre el eje X los sistemas adhesivos examinados),

55 Figura 6: resistencia adhesiva de diferentes sistemas adhesivos, incluidas combinaciones según la invención, sobre tejido muscular bovino a $37^\circ C$ (respectivamente $n = 12$ pruebas, sobre la ordenada se relaciona la resistencia adhesiva $[N/m^2]$, sobre la abcisa los sistemas adhesivos),

Figura 7: resistencia adhesiva de diferentes sistemas adhesivos, incluida la combinación según la invención, sobre tejido muscular bovino a $37^\circ C$ (sobre la ordenada se relaciona la resistencia adhesiva $[N/m^2]$, y sobre la abcisa los sistemas adhesivos examinados, respectivamente $n = 12$ pruebas),

60 Figura 8: resistencia adhesiva de una combinación según la invención sobre una espuma rígida de poliuretano a $37^\circ C$ tras 4h, 24h, 48h y 72h (sobre la ordenada se relaciona la resistencia adhesiva $[kN/m^2]$ y sobre la abcisa el tiempo [h], respectivamente $n = 12$ pruebas).

65 [0070] En la figura 1 se muestra la fabricación de etilenglicol-oligolactido (EOL) 4, que está modificado en sus unidades de ácido láctico terminales con grupos de isocianato (EOL-NCO). La síntesis se realiza partiendo de etilenglicol 1 y

láctidos cíclicos 2, donde los grupos hidroxilos de 1 con los láctidos 2, se esterifican con una oligomerización por apertura de anillo, en caso necesario también polimerización por apertura de anillo. Para la funcionalización terminal del etilenglicol-oligolactido (EOL) 3 resultante, se modifican sus grupos hidroxilos terminales con hexametildioisocianato (HMDI) bajo conformación del oligolactido terminal funcionalizado 4. El oligoláctido 4 puede utilizarse ahora como reticulante para polisacáridos funcionalizados con nitrógeno, por ejemplo para un quitosano 5, cuya estructura se indica esquemáticamente en la figura 2, y para sustratos a pegar. En figura 1, n por ejemplo, puede ser 1, 2, 3, 4 o 5.

Ejemplo 1: síntesis de oligoláctido de etilenglicol con grupos terminales de isocianato (EOL-NCO)

[0071] Se transformaron 33 g (0.094 mol) de oligoláctido de etilenglicol del oligoéster (EOL) con 31.6 g (0.188 mol) de hexametildioisocianato (HMDI) durante 4 horas a 50 °C en argón. La mezcla reactiva posteriormente se agitó a 50 °C durante 2 días. Como producto de reacción se obtuvo un aceite viscoso, incoloro, insoluble, que en la espectroscopía IR mostró una banda acusada de isocianato a 2266 cm⁻¹. Una espectroscopia NMR efectuada adicionalmente confirmó la existencia del producto de reacción EOL-NCO.

Ejemplo 2: pruebas reológicas para la determinación de la viscosidad y del punto de gelificación

2.1 Viscosidad

[0072] Las pruebas reológicas para la viscosidad del prepolímero adhesivo EOL-NCO y del *partner* de reticulación utilizado protasano UPCI 213 (medical grade, M_w = 270 kDa, 4% en H₂O, compañía FMC Biopolymers Drummen Noruega) se llevaron a cabo con el reómetro Rheostress® 1 de la compañía Thermo Haake bajo las siguientes condiciones de medición: sistema de medida placa-placa (diámetros 20 mm), intersticio de medida 1 mm, prueba de oscilación, modo de medida CS (controlled stress = predeterminación temporal de tensión de empuje), procedimiento de medición tiempo-Sweep, parámetros de prueba: tensión de empuje T = 5 Pa; frecuencia f = 1Hz.; temperatura T = 37°C. El volumen aplicado al respectivo componente de adhesivo a medir, ascendió a 700 µl. Para cada uno de los componentes del adhesivo se determinó la viscosidad compleja dinámica $|\eta^*|$ [Pa·s]. Los valores representados en la tabla 1 para $|\eta^*|$ tras 300 s y 600 s son valores medios, que resultan respectivamente de 3 mediciones individuales.

Tabla 1: viscosidad compleja dinámica de los componentes de adhesivo examinados		
Componente de adhesivo	Viscosidad $ \eta^* $ [Pa·s]	
	con t = 300 s	con t = 600 s
EOL-NCO (EOUHMDI, 1/2 n/n)	261.7 ± 9.9	250.1 ± 8.8
EOL-NCO (EOUHMDI, 1/3 n/n)	2.0 ± 0.02	2.0 ± 0.03
EOL-NCO (EOUHMDI, 1/2 n/n) / DMSO (89/11 p/p)	36.7 ± 3.0	35.7 ± 2.9
EOL-NCO (EOUHMDI, 1/2 n/n) / DMSO (85/15 p/p)	5.8 ± 0.2	5.8 ± 0.2
EOL-NCO (EOUHMDI 1/2, 1/2 n/n) / DMSO (85/15 p/p), γ -esterilizado (> 25 kGy)	8.6 ± 0.4	8.8 ± 0.7
Protasano UPCI 213 (M _w = 270 kDa, 4% en H ₂ O)	6.7 ± 0.3	7.8 ± 0.5
Protasano UPCI 213 (M _w = 270 kDa, 4% en H ₂ O), esterilizado con vapor (121 °C, 20 min)	5.1 ± 0.5	6.6 ± 0.6
Protasano UPCI 213 (4% en H ₂ O), γ -esterilizado (> 25 kGy)	< 0.5	< 0.5

[0073] Puesto que en la aplicación con jeringas de cámara doble ambos componentes del adhesivo deberían mostrar para una mezcla óptima una viscosidad parecida, la viscosidad de los *partners* de reticulación se adaptó a la del EOL-NCO, mezclada con DMSO. Tras la γ -esterilización se observó una reducción fuerte de la viscosidad de la solución como consecuencia de la degradación de cadena. Viscosidades comparables con EOL-NCO 1/2 (EOUHMDI, 1/2 n/n)/DMSO (85/15 p/p) se alcanzaron con protasano UPCI 213 tras esterilización con vapor de agua. Por ello en las pruebas posteriores solo se utilizaron soluciones de protasano UPCI 213 esterilizadas con vapor de agua.

2.2 Punto de gelificación

[0074] Para poder juzgar la trabajabilidad de los componentes adhesivos líquidos como sistema de doble componente, se determinó el punto de gelificación con el reómetro Rheostress® 1 de Thermo Haake. El punto de gelificación se define como punto de transición sol-gel, en el cual el módulo de almacenamiento (proporción elástica) G' es igual al módulo de pérdida G'' (proporción viscosa). Caracteriza la transición del comportamiento del fluido (G'' > G') al comportamiento de sustancia tipo gel o comportamiento de sustancia sólida (G' > G''). Para la detección del punto de gelificación se utilizaron las siguientes condiciones de medición: sistema de medida placa-placa (diámetros 20 mm), intersticio de medida 1 mm, prueba de oscilación, modo de medición CD (controlled deformación = especificación de deformación), procedimiento de medición tiempo-Sweep, parámetros de prueba: deformación γ = 0 frecuencia f = 5 Hz; temperatura T = 37 °C; duración t = 2,000 s, volumen de aplicación: 1 ml.

[0075] El punto de gelificación se determinó por medio del punto de intersección de los módulos de 5 mediciones tras mezcla de EOL-NCO (EOUHMDI 1/2 n/n)/DMSO (85/15 p/p, γ -esterilizado > 25 kGy) y protasano UPCI 213 (medical

grade $M_w = 270$ kDa, 4% en H_2O , esterilizado con vapor de agua 121 °C, 20 min) y se comparó con el adhesivo de fibrina (Tissucol duo S Immuno, compañía Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim).

5 [0076] Las mediciones dieron como resultado, que el adhesivo de fibrina alcanzó su punto de gelificación de inmediato y metrológicamente no pudo ser registrado por el reómetro. Esto se confirmó por el hecho de que ya al comienzo de la medición se dio $G' > G''$ (Fig. 3). El paso de sol a gel de EOL-NCO (EOL/HMDI 1/2 n/n) / DMSO (85/15 p/p)/protasano UPCI 213 ($M_w = 270$ kDa, 4% en H_2O) por el contrario estaba en $196,4 \pm 40,1$ s (Fig. 4). El tiempo de vida útil o tiempo de gel retardado de la combinación según la invención frente al adhesivo de fibrina, tiene para el usuario la ventaja de que tras la aplicación de la combinación aún queda suficiente tiempo de trabajo, por ejemplo, para la fijación de las partes tisulares a pegar de fragmentos de hueso y/o para el posicionamiento o reposicionamiento de materiales de cobertura de defectos. La alta viscosidad de los componentes individuales de la combinación evita que los componentes salgan de la herida o de la zona de aplicación, o en el caso de heridas de fuerte sangrado o de fuerte exudación sean arrastrados fuera de la zona herida.

15 Ejemplo 3:

[0077] En 100 ml agua se disolvieron aprox. 4g de protasano UPCI 213 (FMC Biopolymers, Drummen Norwegen). A continuación, la solución se esterilizó a aprox. 121 °C durante 20 minutos mediante esterilización por vapor. Después de la esterilización se determinó el peso molecular del quitosano con ayuda de GPC (Cromatografía de gases). El peso molecular ascendió a aprox. 216 kDa. La viscosidad de la solución estéril de protasano 4 en peso porcentual ascendió a aprox. 1,99 Pas.

Ejemplo 4:

25 [0078] Una mezcla de oligoláctido de etilenglicol, que está modificado en sus extremos por reacción con hexametilendiisocianato (HMDI), y DMSO se esterilizó mediante γ -radiación (> 25 kGy). Con ello pudo demostrarse por medio de pruebas NMR, que la estructura química del oligoláctido de etilenglicol recortado en el final con HMDI se mantuvo.

30 Ejemplo 5: comprobación de la resistencia de la línea de unión en tejido blando

[0079] La prueba mecánica de la línea de unión se realizó bajo esfuerzo de tracción de un eje en la máquina de control universal Zwick BZ2.5/TN1S (Zwick GmbH & Co. KG, Alemania; indicador de carga 50 N). Para la comprobación de las uniones de pegado, se fijaron las partes de tejido blando, especialmente partes de tejido muscular bovino, en sujeciones de prueba de polimetilmetacrilato (PMMA). Para la creación de una superficie de referencia comparable para el pegado, las muestras de tejido blando sujetas, fueron cortadas a un tamaño medio de 230 mm^2 . A continuación, tras mezcla manual en un vial, se aplicaron 200 μl del sistema adhesivo a examinar sobre el tejido. Los trozos de tejido blando preparados se mantuvieron en la máquina de control universal con una presión definida de 2 N durante 10 minutos a temperatura ambiente (23 °C) o 37 °C, y a continuación con una velocidad de control de 10 mm/min bajo medición de la relación fuerza-desplazamiento se separaron y bajo consideración de la superficie de referencia, se determinó la fuerza adhesiva.

45 5.1 Realización de la reacción adhesiva para la adhesión de tejido blando a temperatura ambiente (23 °C) tras mezcla manual

[0080] Los siguientes sistemas adhesivos se examinaron en pruebas en serie a temperatura ambiente para determinar su resistencia adhesiva [N/m^2]: (5.1) sin aditivo de adhesivo; (5.2) fibrina (Tissucol duo S Immuno, compañía Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim); (5.3) EOL-NCO (EOL-HMDI 1/2 n/n)/DMSO (85/15 p/p, componente 1) y H_2O (componente 2); (5.4) EOL-NCO (EOUHMDI 1/3 n/n, componente 1) y protasano UPCI 213 ($M_w = 270$ kDa g/mol, 4% en H_2O , componente 2); (5.5) EOL-NCO (EOUHMDI 1/2 n/n)/DMSO (85/15 p/p, componente 1) y protasano UPCI 213 ($M_w = 270$ kDa, 4% en H_2O , componente 2). Los valores medios de las resistencias adhesivas de respectivamente 12 ensayos aislados se observan en la figura 5.

55 5.2 Realización de la reacción adhesiva para la adhesión de tejido blando a 37 °C tras mezcla manual

[0081] Para poder analizar el efecto adhesivo a temperatura corporal, se llevaron a cabo otras pruebas a 37 °C. A tal objeto los trozos de tejido blando sujetos en las sujeciones PMMA y embalados en plástico de embalar, antes de las pruebas se temperaron durante una hora a 37 °C por alojamiento en el incubador. Además, la máquina de control universal se equipó con una cámara climatizada temperable ($\Delta\theta = 0,5$ °C), de modo que pudo llevarse a cabo el ensayo de tracción a 37 °C. De esta forma se repitieron las ya efectuadas series de pruebas a temperatura ambiente para la detección de la fuerza de adherencia en tejido blando a 37 °C: (6.1) sin aditivo de adhesivo; (6.2) fibrina (Tissucol duo S Immuno, compañía Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim); (6.3) EOL-NCO (EOUHMDI 1/2 n/n)/DMSO (85/15 p/p, componente 1) y H_2O (componente 2); (6.4) EOL-NCO (EOL/HMDI 1/3 n/n, componente 1) y protasano UPCI 213 ($M_w = 270$ kDa, 4% en H_2O , componente 2); (6.5) EOL-NCO (EOUHMDI 1/2 n/n)/DMSO (85/15 p/p, componente 1) y protasano UPCI 213 ($M_w = 270$ kDa, 4% en H_2O , componente 2). Adicionalmente se modificó el contenido del disolvente DMSO, de modo que resultó la variante de adhesivo (6.6) con EOL-NCO (EOL/HMDI 1/2 n/n)/DMSO (89/11 p/p,

componente 1) y protasano UPCI 213 (4% en H₂O, componente 2). Los valores medios de las series de pruebas individuales (n = 12) se presentan en la figura 6.

Ejemplo 5.3: realización de la reacción adhesiva para la adhesión de tejido blando a 37 °C con uso de jeringas de cámara doble con componentes de adhesivo esterilizados

[0082] Para llevar a cabo condiciones de aplicación de práctica habitual, los componentes adhesivos esterilizados se administraron en jeringas de cámara doble con mezclador estático (compañía Mixpac Systems AG, Rotkreuz, Suiza, proporción de cámara 1:1). Para las pruebas se utilizó el sistema EOL-NCO (EOUHMDI 1/2 n/n)/DMSO (85/15 p/p, γ -esterilizado > 25 kGy) como componente 1 y protasano UPCI 213 (medical grade, M_w = 270 kDa, 4% en H₂O, esterilizado con vapor de agua 121 °C, 20 min) como componente 2 (7.3). Sirvieron como referencias la fibrina aplicada sobre el tejido (Tissucol duo S Immuno, compañía Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim (7.2)) y muestras de tejido sin aditivo de adhesivo (7.1). La fuerza de adherencia se determinó a través de respectivamente 12 ensayos aislados (figura 7).

Ejemplo 5.4: realización de la reacción adhesiva para la adhesión de tejido duro a 37 °C con uso de jeringas de cámara doble con componentes de adhesivo esterilizados

[0083] Para la evaluación de la fuerza de adherencia del sistema adhesivo sintetizado sobre tejido duro se modificó la configuración de la prueba. Como modelo de material de tejido duro, se utilizó una espuma rígida de poliuretano de célula abierta, con tamaño de poros de 500 - 1.200 μ m, que se convirtió con una sierra de hilo de diamante (Histo-Saw DDM-P216, Medim) en placas de cuerpo de prueba cuadradas con una geometría de 15 mm x 15 mm x 3 mm. Los cuerpos de prueba desechables obtenidos de esta manera fueron purificados a continuación con etanol al 99% en baño por ultrasonido y fijados mediante cianocrilato en las sujeciones PMMA cuadradas para el alojamiento en la máquina de control universal. Los componentes de adhesivo esterilizados también fueron aplicados en las placas de poliuretano fijadas con ayuda de jeringas de cámara doble con mezclador estático (Mixpac Systems AG, Rotkreuz, Suiza, proporción de cámara 1:1). A continuación, se presionaron la pareja de muestras ligeramente la una contra la otra y se almacenaron embaladas en ambiente húmedo 4h, 24h, 48h y 72h a 37 °C. La comprobación de la resistencia de la junta adhesiva se realizó bajo esfuerzo de tracción de un eje en la máquina de control universal Zwick BZ2.5/TN1S (Zwick GmbH & Co. KG, Alemania; indicador de carga 500 N) sin la aplicación de una pre-carga definida con una velocidad de control de 5 mm/min. En la figura 8 se representa el valor medio de las series de medición tras 4h, 24h, 48h y 72h (respectivamente n = 12) de EOL-NCO (EOUHMDI 1/2 n/n)/DMSO (85/15 p/p, γ -esterilizado > 25 kGy) y protasano UPCI 213 (medical grade, M_w= 270 kDa, 4% en H₂O, esterilizado con vapor de agua 121 °C, 20 min). La prueba mostró que la fuerza de adherencia del adhesivo crece tras la aplicación, lo que es particularmente ventajoso para pegados de hueso y/o para el tratamiento de defectos óseos.

Ejemplo 5.5: realización de la reacción adhesiva para la adhesión de tejido duro tras almacenaje de agua a 37 °C

[0084] La influencia de una entrada de humedad (por ejemplo debido a un sangrado) en el proceso de polimerización y la adherencia del sistema adhesivo EOL-NCO (EOUHMDI 1/2 n/n)/DMSO (85/15 p/p, γ -esterilizado > 25 kGy) y protasano UPCI 213 (grado médico, M_w = 270 kDa, 4% en H₂O, esterilizado con vapor de agua 121°C, 20 min) se simuló por colocación de muestras de espuma dura de poliuretano preparadas en agua destilada a 37 °C. La muestras de espuma dura de poliuretano fueron preparadas anteriormente de forma análoga al ejemplo 5.4 descrito anteriormente, y tras respectivamente 10 min, 2h y 24h de prealmacenamiento, acondicionadas en ambiente húmedo a 37 °C otras 24h en un baño de agua a 37 °C. Las resistencias adhesivas medidas tras el transcurso de los respectivos tiempos de almacenamiento justifican, que la resistencia adhesiva de la combinación según la invención en lo esencial no queda mermada por la humedad (compárense a tal objeto los valores reproducidos en la tabla 2 con las resistencias adhesivas reproducidas en la figura 7).

Tabla 2: fuerza adhesiva de EOL-NCO (EOUHMDI 1/2 n/n)/DMSO (85/15 p/p, γ -esterilizado) y protasano UPCI 213 (esterilizado con vapor de agua) sobre espuma rígida de poliuretano a 37 °C tras 10 min, 2h y 24h de prealmacenamiento en ambiente húmedo y posterior alojamiento en agua durante 24 horas (respectivamente n = 2 pruebas)

Prealmacenamiento	Fuerza adhesiva [kN/m ²]
10 min	196.9 222.9
2h	234.7 243.6
24h	212.7 235.5

Ejemplo 5.6: modificación del sistema adhesivo para la adhesión de tejido duro

[0085] Para el uso del sistema adhesivo como adhesivo de tejido duro es deseable lograr un efecto osteoinductivo con ayuda de cargas. Aquí, se tienen en cuenta junto a fosfatos de calcio, como por ejemplo hidroxilapatita y β -fosfato tricálcico, también carbonatos, por ejemplo carbonato de calcio, o materiales óxidos, por ejemplo dióxido del silicio. Debido a la constitución de partes de hueso esponjosas, es ventajosa aquí una distribución granulométrica de las cargas de entre 20 nm y 1 μ m, preferiblemente entre 20 nm y 100 nm. En este contexto, se examinó la aptitud de EOL-NCO (EOL HMDI 1/2 n/n)/DMSO (85/15 p/p, γ -esterilizado) y protasano UPCI 213 (esterilizado con vapor de agua) como adhesivo de tejido duro en relación con cargas. Una influencia de la carga sobre la resistencia adhesiva no pudo constatarse con una proporción de carga de un 5%. Esto se verificó por medio de en total 3 pruebas en una espuma rígida de poliuretano como sustrato a adherir.

Ejemplo 6:

[0086] Se cortó carne de músculo bovino en trozos rectangulares con una base de aprox. 2 cm². Los trozos cortados fueron temperados a aprox. 37 °C y sujetados en ambas abrazaderas de una máquina de control de la compañía Zwick (Ulm; Alemania). La solución de protasano estéril (compárese ejemplo 1) y la solución estéril de isocianato EOL en DMSO (compárese ejemplo 2) se presentaron en una jeringa de cámara doble estéril y se unieron mediante una jeringa mezcladora estática. A continuación, se aplicaron aprox. 200 μ l de la composición pastosa resultante sobre el trozo de carne de la abrazadera inferior. Con una tensión previa de aprox. 2 Newton se comprimieron el uno contra el otro los dos trozos de carne durante aprox. 10 minutos, antes de determinarse con una velocidad de aprox. 10 mm/Min. la fuerza de adherencia del adhesivo tisular. En un experimento de control se pegaron trozos de carne con aprox. 200 μ l de adhesivo de fibrina (compañía Baxter). En otro experimento de control se presionaron trozos de carne sin adhesivo. Los resultados de 12 mediciones se relacionan en la tabla 1 presentada abajo. Estos muestran, que un adhesivo resultante de una combinación según la invención, presenta en comparación una fuerza de adherencia notablemente mayor que el adhesivo de fibrina.

Tabla 3

	Fuerza adhesiva [N/m ²]	Desviación típica
EOL-Isocianato-quitosano	3705	962
Adhesivo de fibrina	1652	366
Sin adhesivo	781	296

Ejemplo 7:

[0087] De forma análoga al ejemplo 3, finalmente también se examinó la adhesión de tejido de hígado porcino. Los resultados se presentan a continuación en la tabla 2.

Tabla 4

	Fuerza adhesiva [N/m ²]	Desviación típica
EOL-Isocianato-quitosano	1308	664
Adhesivo de fibrina	553	320
Sin adhesivo	118	33

Ejemplo 8:

[0088] En otro ensayo se sometieron trozos de carne de músculo de forma análoga al ejemplo 3 a un ensayo de tracción con EOL-NCO-quitosano. Tras la determinación de la fuerza de adherencia, los trozos de carne fueron comprimidos de nuevo el uno contra el otro durante 10 minutos. Entonces se determinó de nuevo la fuerza necesaria para la separación de los trozos de carne. La fuerza adhesiva absoluta difirió en total en 12 ensayos de la fuerza de adherencia determinada inicialmente en menos de un 20 %. Con el adhesivo de fibrina mencionado en el ejemplo 3 se llevaron a cabo experimentos idénticos. Aquí, tras volver a comprimir los trozos de carne ya no pudo detectarse ninguna fuerza de adherencia. La fuerza de adherencia descrita en este ejemplo, de la combinación según la invención tras la mezcla de sus componentes, es de gran importancia sobre todo en la fijación de roturas de hueso, en las cuales tras una adhesión inicial de las partes de hueso a unir, en el resto del transcurso del tratamiento pueden ser necesarias correcciones por parte de los cirujanos.

Ejemplo 9: pruebas in vitro sobre un tejido biológico

[0089] Se determinó la estabilidad de presión de una combinación según la invención (solución de isocianato-EOL en DMSO 80/20 (p/p) y una solución de protasano de 4%) con un simulador biológico cilíndrico. El simulador biológico utilizado con una carcasa de presión tiene 400 mm de alto y tiene un diámetro de 150 mm. La tapa con sujeción para la fijación de tejido biológico, tiene un agujero circular con un diámetro de 30 mm. Se cortó pericardio de bovino preparado húmedo en pedazos de tamaño 60 x 60 mm y se secó. Con una punzonadora se generó un defecto central circular con un diámetro de 10 mm y se introdujo el pericardio en la sujeción de la tapa cilíndrica. El trozo previamente separado se

adhirió con ayuda de la combinación según la invención sobre el defecto generado. Tras un periodo de endurecimiento de 120 s se generó en el simulador biológico mediante aire comprimido una sobrepresión, con lo que la sobrepresión máxima se detectó hasta el desgarre de la zona de pegado. En n = 5 mediciones pudo determinarse una sobrepresión media de 74,3 mbar. En otro ensayo se ajustó una sobrepresión máxima de 50 mbar, se mantuvo la presión durante 1 min y luego se soltó. Esta forma de proceder se repitió 30 x , sin que se rompiera la junta adhesiva.

[0090] El ensayo muestra la estabilidad de presión y la elasticidad de la junta adhesiva en tejido biológico. La combinación según la invención es adecuada por lo tanto por ejemplo para el cierre de fugas de aire, como pueden aparecer particularmente en el pulmón tras una resección .

Ejemplo 10: pruebas toxicológicas

[0091] Una solución de isocianato EOL estéril en DMSO 80/20 (p/p) se mezcló con una solución de protasano de 4% mediante una jeringa de mezclado Mixpac y según ISO 10993 (Biological Evaluation of Medical Devices Part 5: Test for Cytotoxicity) se sometió a una prueba de citotoxicidad. En la evaluación de la prueba, la mezcla de protasano-isocianato-EOL, así como el control negativo se evaluó con el valor 0 = ninguna reactividad (intracitoplásmica diferenciada, ausencia de lisis celular), mientras que el control positivo efectuado paralelamente presentaba con el valor 4 = reacción grave (destrucción casi completa de las hileras celulares) características citotóxicas.

Ejemplo 11: detención de hemorragias hepáticas

[0092] En otro ensayo se utilizó la combinación según la invención para la detención de hemorragias hepáticas en conejos. Tras narcotización de los animales se llevó a cabo una laparatomía, se descubrió el hígado y en cada uno de los lóbulos del hígado se realizó una resección parcial. El hígado sangrante se trató con la combinación según la invención, con lo que sus componentes (en este caso una solución de protasano de 4% en peso, así como una mezcla de isocianato EOL y DMSO (80/20 p/p) se mezclaron sobre la herida del hígado. Los sangrados pudieron cortarse en menos de 60 segundos en todos los conejos.

Ejemplo 12: hemostasia de excoriaciones

[0093] Una mezcla esterilizada de composición de isocianato-EOL-DMSO 80/20 (p/p) y una solución esterilizada de protasano de 3% (p/v) se presentaron en un aplicador de doble cámara con un sistema de aerosol. Sobre la piel de ratas narcotizadas se produjo con papel de lija una excoiación de 4 x 4 cm, sobre la cual se aplicó la combinación mencionada anteriormente con tres pulverizaciones sucesivas. Sobre la superficie de la herida se formó una película homogénea, que cubrió completamente la herida.

Ejemplo 13: fugas intestinales en el cerdo

[0094] En el intestino grueso de un cerdo, tras su narcotización se realizaron varias punciones con una cánula afilada. Una solución estéril de isocianato-EOL en DMSO 80/20 (p/p) se mezcló con una solución de protasano de 4% en una jeringa de mezclado Mixpac y se aplicó sobre las zonas de punción. El enturbiamiento blanco lechoso facilita al cirujano una aplicación exacta del adhesivo sobre el tejido. Paralelamente las zonas de punción también se trataron con una solución de isocianato-EOL viscosa pura o con una solución de quitosano puro de 4%. Tras un tiempo de endurecimiento de 180 s se comprobó la hermeticidad de la punción a través de la compresión del intestino. Las zonas de punción tratadas con la combinación según la invención demostraron tener hermeticidad o estar hermetizadas, mientras que aquellas zonas de punción tratadas con una solución de isocianato-EOL puro o solución de quitosano pura de 4% tenían escapes, lo que pudo constatarse por medio de burbujas de aire salientes.

Ejemplo 14: sangrados de orificio de punción

[0095] Tras narcotización de los cerdos (n = 3) y apertura del abdomen, se dejó libre la aorta infrarenal. Se explantó una sección de vaso sanguíneo de aprox. 3 cm y se sustituyó con una prótesis de PTFE en el marco de una "end to end-Anastomose" (anastomosis de extremo a extremo). Al abrir las pinzas vasculares se pudieron observar en ambas anastomosis sangrados de orificio de punción, que se trataron tras nueva aplicación de las pinzas vasculares con una combinación según la invención (solución de isocianato-EOL en DMSO 80/20 (p/p) y solución de protasano de 4%). El enturbiamiento blanco lechoso de la mezcla obtenida facilitó al cirujano la aplicación exacta del adhesivo sobre el tejido. Las pinzas vasculares se abrieron nuevamente 30 s tras la aplicación de la combinación según la invención. Ya no aparecieron sangrados de orificio de punción.

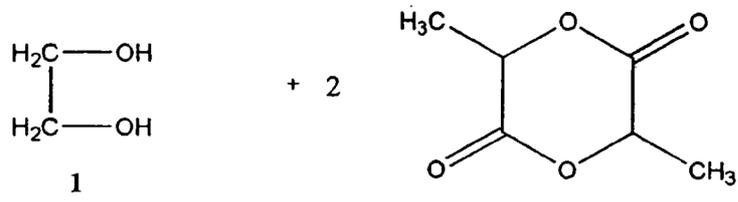
[0096] Los experimentos con animales anteriormente descritos muestran la funcionalidad de la combinación según la invención para el cierre de fugas de aire y de fluido. El enturbiamiento blanco lechoso que se da al mezclar los componentes a) y b) de la combinación, facilitan a los cirujanos la diferenciación entre combinación y tejido a tratar, por lo que la combinación puede aplicarse con exactitud con particular ventaja.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Combinación, particularmente para adherir y/o fijar tejidos biológicos y/o tejidos sintéticos, que comprende los componentes
- a) un polisacárido funcionalizado con nitrógeno
 b) una oligolactona terminal funcionalizada, **caracterizada por el hecho de que** el polisacárido y la oligolactona se presentan por separado y la oligolactona presenta grupos de isocianato terminales.
- 10 2. Combinación según la reivindicación 1, **caracterizada por el hecho de que** el polisacárido es un polisacárido de origen natural o un derivado de uno de este tipo.
3. Combinación según la reivindicación 1 o 2, **caracterizada por el hecho de que** el polisacárido es un polisacárido portador de grupos aminos, particularmente grupos aminos primarios.
- 15 4. Combinación según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por el hecho de que** la proporción de unidades de monosacáridos en el polisacárido, que portan un grupo amino, es de al menos un 30%, preferiblemente un 80%.
- 20 5. Combinación según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por el hecho de que** el polisacárido es al menos en parte un glicosaminoglicano desacetilado (mucopolisacárido).
6. Combinación según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por el hecho de que** el polisacárido presenta un grado de desacetilación de entre un 50 y un 98%, particularmente entre un 60 y un 95%, preferiblemente entre un 80 y un 90%.
- 25 7. Combinación según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por el hecho de que** el polisacárido es quitosano o un derivado de éste.
- 30 8. Combinación según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por el hecho de que** la oligolactona está formada a partir de un alcohol polivalente y ácidos hidroxycarboxílicos, particularmente por glicol y/o ácido láctico.
9. Combinación según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por el hecho de que** la proporción de polisacárido en la combinación es de un 1 hasta un 80% en peso, particularmente de un 5 hasta un 70% en peso.
- 35 10. Combinación según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por el hecho de que** la proporción de oligolactona en la combinación es de un 20 hasta un 99% en peso, particularmente de un 30 hasta un 95% en peso.
- 40 11. Combinación según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por el hecho de que** el polisacárido y/o la oligolactona se presentan preferiblemente disueltos dispersos en uno o varios disolventes.
12. Combinación según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por el hecho de que** el polisacárido se presenta en forma de una solución acuosa, particularmente con una proporción de polisacárido de un 2 hasta un 5% en peso, preferiblemente de un 3 hasta un 4% en peso, referido al peso total de la solución.
- 45 13. Combinación según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por el hecho de que** la oligolactona se presenta en forma de una solución de DMSO, particularmente con una proporción de oligolactona de entre un 50 y un 99% en peso, referido al peso total de la solución.
- 50 14. Combinación según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por el hecho de que** el polisacárido y la oligolactona se presentan por separado el uno del otro en las cámaras de una jeringa multicomponente.
15. Combinación según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por el hecho de que** una reacción, preferiblemente reticulación, de los componentes tras su mezcla sobre un en substrato a pegar, se inicia en un período de < 100 segundos, particularmente < 80 segundos, preferiblemente < 60 segundos.
- 55 16. Combinación según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por el hecho de que** la combinación presenta aditivos, particularmente colágeno, gelatina y/o albúmina.
- 60 17. Combinación según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por el hecho de que** el polisacárido y/o la oligolactona se presentan en forma esterilizada.
18. Combinación según una de las reivindicaciones precedentes, **caracterizada por el hecho de que** la combinación es una composición de adhesivo.
- 65 19. Composición, **caracterizada por el hecho de que** los componentes de la combinación según una de las

reivindicaciones anteriores son mezclados y el polisacárido se reticula al menos en parte con la oligolactona.

- 5 20. Producto médico-técnico, particularmente para el pegado y/o fijación de tejidos biológicos y/o sintéticos, que comprende una combinación según una de las reivindicaciones anteriores 1 hasta 18.
21. Kit que comprende al menos dos recipientes separados, con lo que uno de los envases contiene un polisacárido funcionalizado con nitrógeno y el otro envase contiene una oligolactona terminal funcionalizada, **caracterizado por el hecho de que**, la oligolactona presenta grupos de isocianato terminales.
- 10 22. Kit según la reivindicación 21, **caracterizado además por** un polisacárido funcionalizado con nitrógeno y/o una oligolactona terminal funcionalizada según una de las reivindicaciones 2 hasta 19.
- 15 23. Procedimiento in vitro para adherir, **caracterizado por el hecho de que** los componentes de la combinación según una de las reivindicaciones 1 hasta 18, se ponen en contacto entre sí y con al menos un sustrato a pegar, que presenta grupos reactivos funcionales.
24. Uso de una combinación según una de las reivindicaciones 1 hasta 18 para la fabricación de un producto médico-técnico.



\downarrow
 Kat.

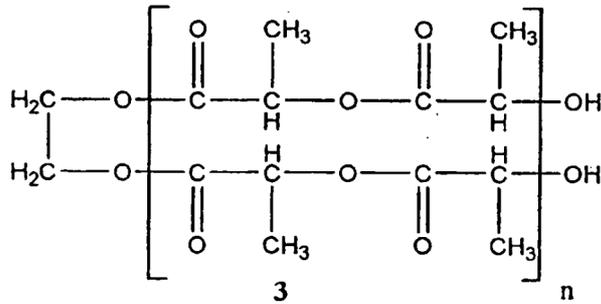
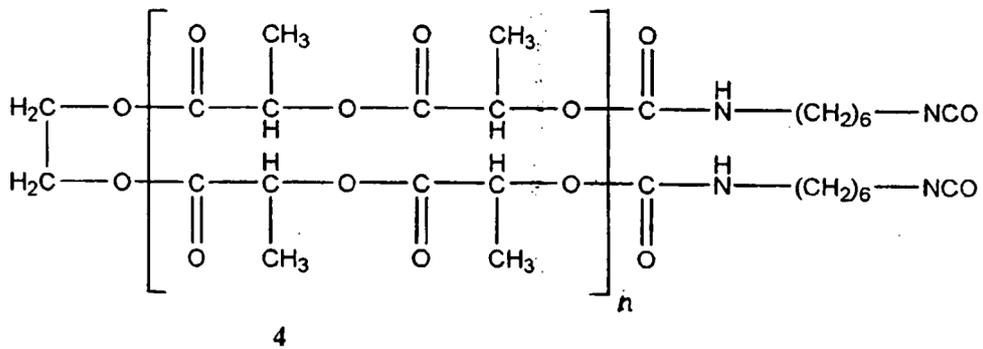
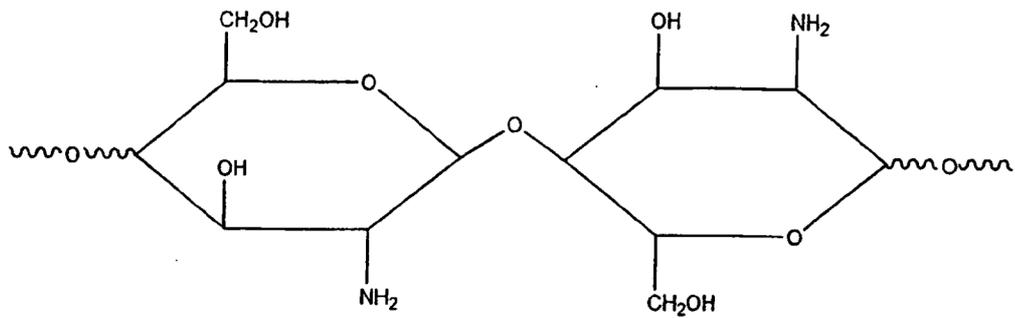


Fig. 1

\downarrow
 HMDI





5

Fig. 2

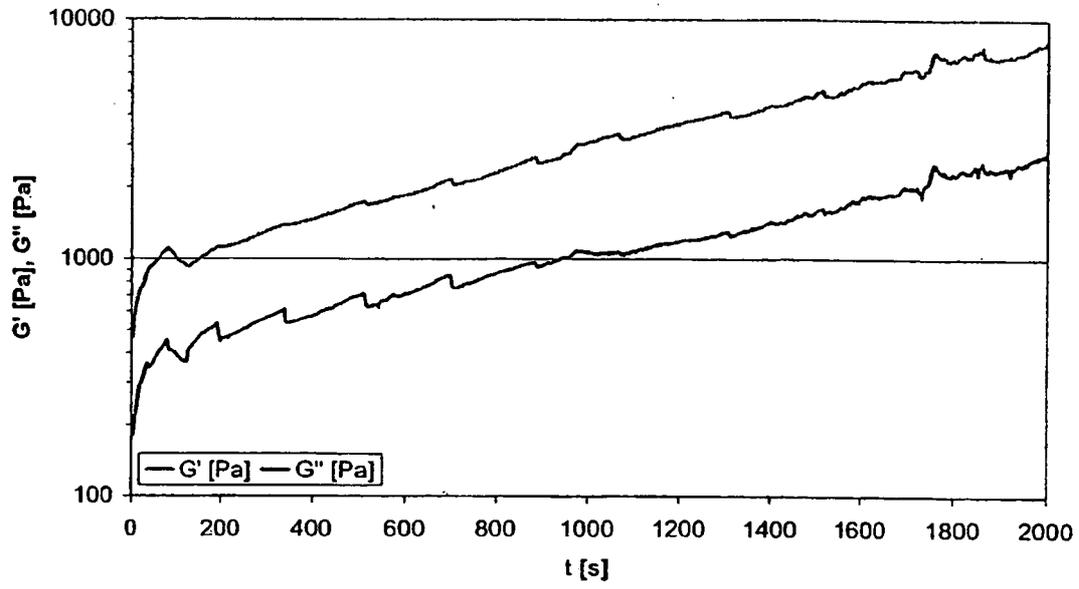


Fig. 3

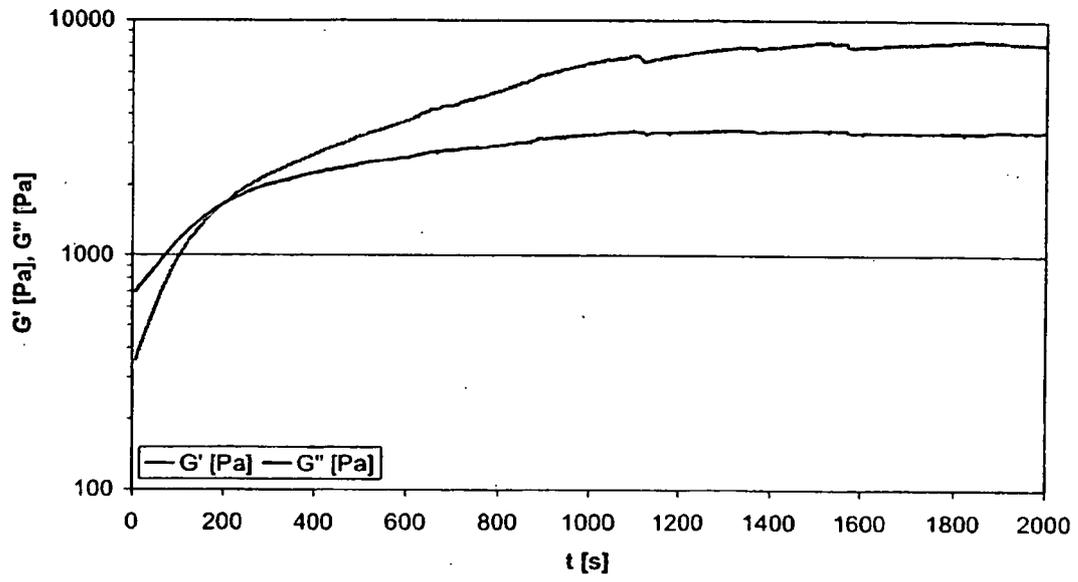


Fig. 4

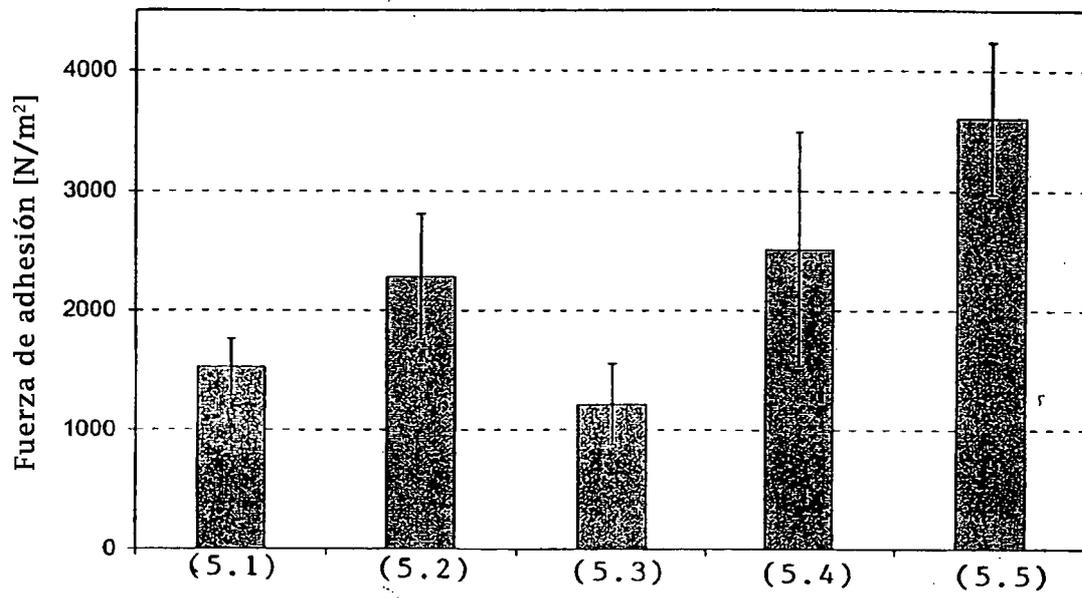


Fig. 5

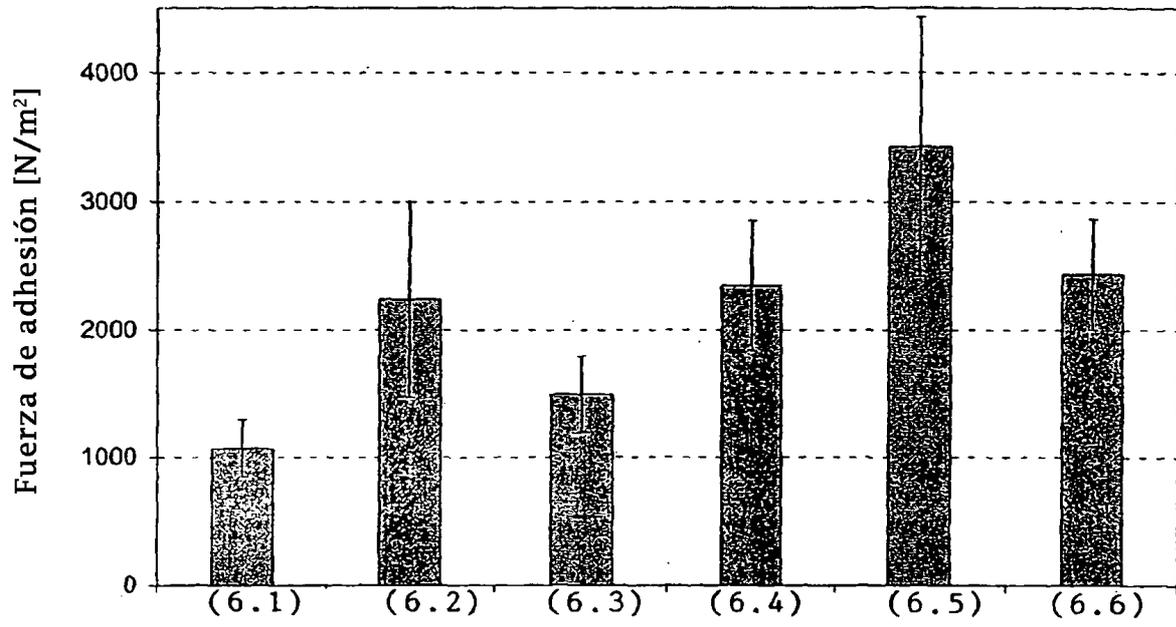


Fig. 6

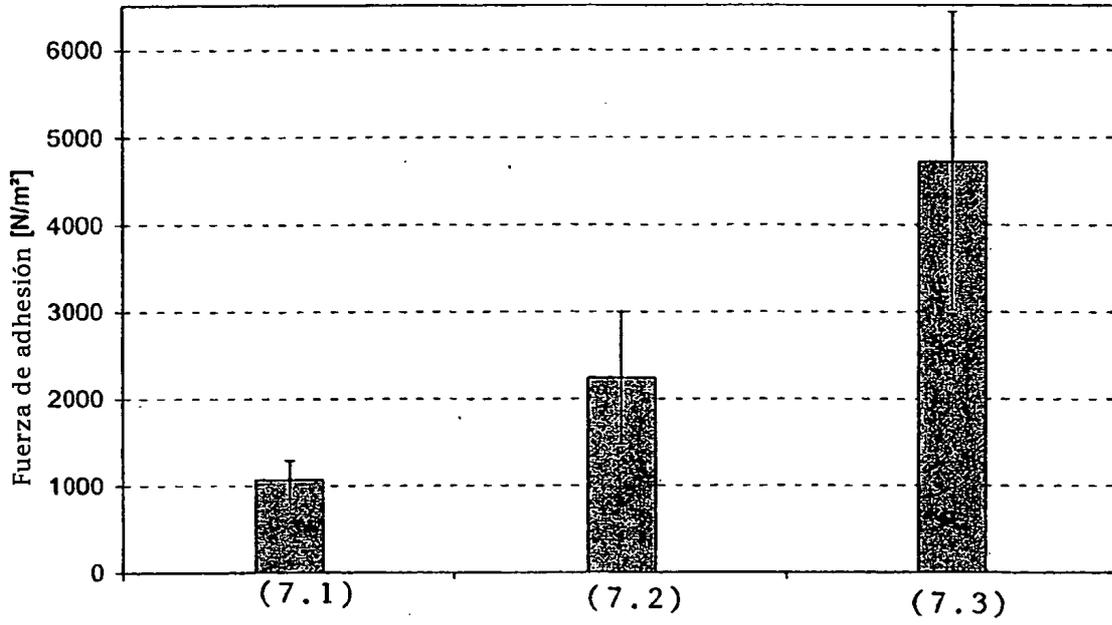


Fig. 7

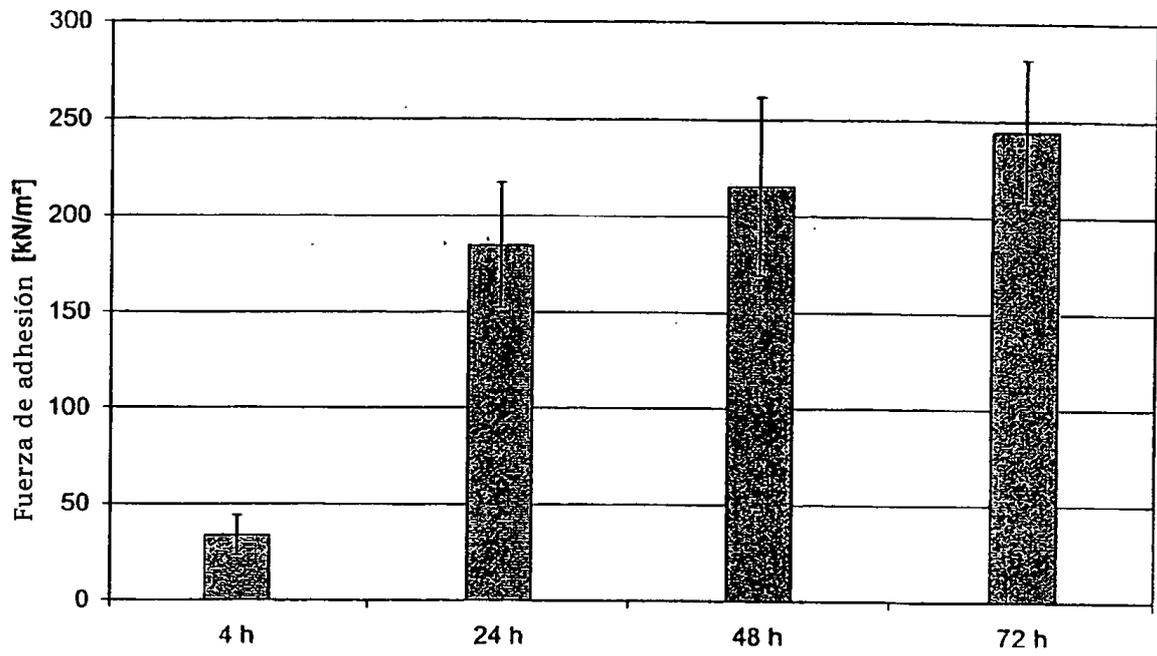


Fig. 8