

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 380 729**

51 Int. Cl.:  
**A61L 31/06** (2006.01)  
**A61L 31/14** (2006.01)  
**B29C 41/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04726621 .8**  
96 Fecha de presentación: **08.04.2004**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1616584**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **18.01.2006**

54 Título: **Película biodegradable con estructura de nido de abeja**

30 Prioridad:  
**10.04.2003 JP 2003106186**  
**07.08.2003 JP 2003288573**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**17.05.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**17.05.2012**

73 Titular/es:  
**TEIJIN LIMITED**  
**6-7, MINAMIHONMACHI 1-CHOME CHUO-KU**  
**OSAKA-SHI OSAKA 541-0054, JP**

72 Inventor/es:  
**FUKUHIRA, Yukako;**  
**KITAZONO, Eiichi;**  
**KANEKO, Hiroaki;**  
**SUMI, Yoshihiko;**  
**SHIMOMURA, Masatsugu y**  
**TANAKA, Masaru**

74 Agente/Representante:  
**Carpintero López, Mario**

ES 2 380 729 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**

Película biodegradable con estructura de nido de abeja

**Campo técnico**

5 La presente invención se refiere a una membrana anti-adhesión para evitar la adhesión tras la intervención. Con más detalle, la invención se refiere a una membrana anti-adhesión fabricada a partir de una película biodegradable que presenta una estructura de nido de abeja. La membrana anti-adhesión de la invención es excelente en cuanto a propiedades de manipulación y exhibe un efecto inhibitor de adhesión satisfactorio durante un período de tiempo deseado.

**Técnica anterior**

10 La adhesión de tejidos, que es una acción fisiológica que tiene lugar después de las intervenciones quirúrgicas, se define como una unión anormal entre el tejido y un órgano o similar, que está provocada por la producción de fibras de colágeno por medio de los fibroblastos generados tras el daño tisular. Se considera que dicha adhesión tiene una probabilidad de 90 % después de la intervención, y en el caso de un trastorno con dolor o biofuncional o similar, el paciente experimenta un dolor síquico o físico, dando lugar a problemas.

15 Con el fin de solucionar este problema, hasta ahora se han llevado a cabo numerosos estudios. Por ejemplo, con el fin de minimizar la formación de adhesiones, se ha usado una membrana anti-adhesión soluble en agua tal como una solución acuosa de alginato de sodio y una solución acuosa de hialuronato de sodio. No obstante, estos materiales presentan un determinado efecto anti-adhesivo ya que, debido a su solubilidad en agua, fluyen fuera del punto en el que se precisa evitar la adhesión, no permanecen el punto requerido, y presentan la posibilidad de  
20 provocar una adhesión no deseada en la zona normal.

Por este motivo, con el fin de separar el tejido dañado de otros tejidos, se estudia una membrana anti-adhesión fabricada de una barrera física, un material tal como silicona, vaselina y politetrafluoroetileno. Debido a que dicho material no es bio-absorbible, al tiempo que está dotado de una acción suficiente como barrera, existen problemas tales como el riesgo de respuesta inmunológica debido a la retención a largo plazo en el cuerpo y a la necesidad de  
25 una segunda intervención para la extracción después de la cura.

Con el fin de solucionar estos problemas, se han desarrollado membranas anti-adhesión que usan un polímero natural que es bio-absorbible.

De manera específica, se conoce una membrana anti-adhesión que usa celulosa oxidada. En el caso de aplicar una esponja o tejido formado por celulosa oxidada, debido a que las células fibrosas pueden pasar a través de los huecos y migrar, se genera un problema de aparición de adhesión. Con el fin de evitar esto, se desarrolla y se usa  
30 una membrana anti-adhesión formada por hialuronato de sodio y carboximetil celulosa. No obstante, debido a que estos materiales presentan una elevada absorción de agua, existe el problema de que se hinchan por medio del líquido de la instrumentación quirúrgica o de los órganos distintos de la zona de lesión de manera que sus propiedades de manipulación resultan pobres.

35 Resulta deseable una membrana anti-adhesión que presente una forma en la cual no tenga lugar la circulación de células fibrosas de un tejido a otro y también resulta deseable que presente carácter biodegradable y elevada capacidad de funcionamiento.

El documento JP-A-2000-197693 divulga una membrana anti-adhesión formada por un copolímero de ácido láctico y caprolactona.

40 El documento JP-A-2001-157574 divulga una película que presenta estructura de nido de abeja preparada a partir de un polímero que contiene un polímero biodegradable que presenta, añadido sobre el mismo, de 1 a 50 % de un polímero anfífilo que tiene un polímero de acrilamida hidrófilo como estructura de cadena principal y que presenta tanto un grupo dodecilo en forma de lado cadena lateral hidrófoba como un grupo lactosa o un grupo carboxilo en forma de cadena lateral hidrófila y uno de sus procedimientos de producción.

45 No obstante, aunque el polímero de material de base usado en el presente documento es un polímero que presenta una elevada bio-compatibilidad, existe preocupación acerca de que el polímero anfífilo se pueda descomponer para dar lugar a derivados de acrilamida, y resulta difícil afirmar que los derivados resulten siempre seguros con respecto al organismo vivo. Es posible, si se desea que la cantidad de uso de dicho polímero anfífilo esté controlada de forma que sea lo más pequeña posible.

50 De este modo, para el fin de aplicación sobre un tejido biológico, en el caso de usar una película que presenta una estructura fina, la bio-compatibilidad puede representar un gran problema. Por este motivo, no sólo con el polímero a usar sino también con el reactivo para formar una estructura fina, concretamente un tensioactivo tal como polímero anfífilo, resulta deseable que presenten bio-compatibilidad y seguridad con respecto a los organismos vivos. Con el fin de lograrlo, desde el punto de vista de garantizar la seguridad, resulta deseable aumentar el contenido de

polímero con el fin controlar la cantidad de uso del tensioactivo.

En las circunstancias existentes, no existe ninguna membrana anti-adhesión que presente biocompatibilidad y biodegradabilidad, resulte excelente en cuanto a propiedades de manipulación y exhiba un efecto inhibitor de adhesión satisfactorio durante un período de tiempo deseado, y se demanda su aparición.

## 5 Divulgación de la invención

Los presentes inventores han descubierto que una película biodegradable que presenta estructura de nido de abeja es una membrana anti-adhesión que tiene excelentes propiedades de manipulación y que exhibe un efecto inhibitor de la adhesión satisfactorio de manera estable durante el período de tiempo deseado.

10 De igual forma, han encontrado que mezclando un fosfolípido con un polímero biodegradable como tensioactivo y colando la mezcla en condiciones de humedad elevada, se obtiene una película con estructura de nido de abeja que también resulta útil como material de base de cultivo celular y que presenta una excelente biocompatibilidad y que la película en cuestión resulta eficaz para evitar la adhesión en el punto de intervención, etc, dando lugar al cumplimiento de la invención.

15 De manera específica, la invención se refiere a una membrana para su uso en la prevención de adhesiones pos-operatorias, que comprende una película biodegradable de un poliéster alifático biodegradable y/o un policarbonato alifático biodegradable, presentando dicha película estructura de nido de abeja, y que dicha película comprende un tensioactivo, que se caracteriza por que dicho tensioactivo es un fosfolípido.

Preferentemente, la estructura de nido de abeja presenta un diámetro interno medio de hueco de no más que 20  $\mu\text{m}$ .

20 Además, como procedimiento de producción de la membrana anti-adhesión en cuestión, la invención se refiere a un procedimiento de producción de una membrana anti-adhesión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 que comprende:

25 colar una solución de disolvente orgánico de un polímero biodegradable sobre un sustrato en atmósfera de humedad relativa de 50 a 95 %, evaporar de forma gradual el disolvente orgánico en cuestión y de manera simultánea condensarlo sobre la superficie del líquido colado en cuestión, y evaporar las pequeñas gotas de agua que se generan por medio de la condensación en cuestión.

En una realización preferida de la invención, la película biodegradable que presenta estructura de nido de abeja se une a una barrera física entre el punto de intervención y su tejido adyacente con el fin de controlar la unión al tejido, reduciendo de este modo la formación de adhesión después de la intervención.

30 Como polímero biodegradable que se usa para la preparación de la película biodegradable de la invención, desde el punto de vista de la solubilidad en un disolvente orgánico, se prefieren poliésteres alifáticos biodegradables tales como poli(ácido láctico), copolímero de ácido láctico-ácido glucólico, poli(ácido hidroxibutírico), policaprolactona, poli(adipato de etileno), poli(adipato de butileno), policarbonatos alifáticos tales como poli(carbonato de butileno) y poli(carbonato de etileno) y similares. Entre todos, desde el punto de vista de fácil disponibilidad, se desean poli(ácido láctico), copolímero de ácido láctico-ácido glucólico y policaprolactona.

35 Con el fin de preparar una estructura de nido de abeja con buena reproducibilidad, es preferible usar un polímero anfífilo además del polímero biodegradable anterior. Tomando en consideración la aplicación como membrana anti-adhesión, es preferible que el polímero anfífilo no sea tóxico. Como polímero anfífilo, se puede aplicar un copolímero de bloques de polietilenglicol/polipropilenglicol, un polímero anfífilo que presenta un polímero de acrilamida como estructura de cadena principal y que presenta tanto un grupo dodecilo en forma de cadena lateral hidrófoba como un grupo carboxilo en forma de cadena lateral hidrófila, un polímero anfífilo que presenta, como grupo hidrófilo, un complejo iónico entre un material aniónico de alto peso molecular tal como heparina, sulfato de dextrano y un ácido nucleico que incluye ADN y ARN y una sal de alquilamonio de cadena larga, o una proteína soluble en agua tal como gelatina, colágeno y albúmina.

45 Además, se puede usar un polímero biodegradable y anfífilo. Ejemplos de dicho polímero incluyen un copolímero de bloques de poli(ácido láctico)-polietilenglicol, un copolímero de bloques de poli-e-caprolactona-polietilenglicol y un copolímero de bloques de poli(ácido málico)-alquil éster de poli(ácido málico).

Además, con el fin de preparar de manera sencilla una estructura de nido de abeja con buena reproducibilidad, se añade un fosfolípido como tensioactivo además del polímero biodegradable anteriormente mencionado.

50 El fosfolípido es una sustancia que constituye el sistema de membrana y que existe de manera original en el organismo vivo. Por consiguiente, el fosfolípido es una sustancia que presenta elevada biocompatibilidad y que también se puede aplicar a un sistema de administración de un fármaco, y se sabe que el fosfolípido presenta una elevada seguridad. Además, el fosfolípido que se usa como tensioactivo en la invención se encuentra fácilmente disponible.

Con respecto al origen del fosfolípido a usar en la invención, no importa si es un extracto de un tejido animal o un

producto sintetizado de forma artificial. Resulta deseable aplicar, como fosfolípido, un miembro escogido entre el grupo que consiste en fosfatidil etanolamina, fosfatidil colina, fosfatidil serina, fosfatidil glicerol y sus derivados. Se prefiere fosfatidil etanolamina y se prefiere más L- $\alpha$ -fosfatidil etanolamina dioleilo.

5 Para preparar la estructura de nido de abeja de la invención, debido a que resulta esencial formar partículas de gotas de agua sobre la solución polimérica, el disolvente orgánico a usar debe ser soluble en agua. Sus ejemplos incluyen disolventes orgánicos basados en halógeno tales como cloroformo y cloruro de metileno; hidrocarburos aromáticos tales como benceno, tolueno y xileno; ésteres tales como acetato de etilo y acetato de butilo; cetonas insolubles en agua tales como metil isobutil cetona; y disulfuro de carbono. Se pueden usar estos disolventes orgánicos por separado o en forma de disolvente mixto que es una combinación de estos disolventes.

10 La concentración de polímero del total de polímero biodegradable y polímero anfífilo que se disuelve en dicho disolvente orgánico es preferentemente de 0,01 a 10 % en peso y más preferentemente de 0,05 a 5 % en peso. Cuando la concentración de polímero es menor que 0,01 % en peso, la resistencia mecánica de la película resultante es insuficiente, y por tanto, no resulta deseable. De igual forma, cuando es 10 % o más, la concentración de polímero es demasiado elevada de forma que no se obtiene una estructura de nido de abeja. Además, la  
15 proporción de polímero biodegradable con respecto a polímero anfífilo en la composición es de 99/1 a 50/50 (peso/peso). Cuando la composición de polímero anfífilo no es más que 1, no se obtiene una estructura uniforme de nido de abeja, mientras que cuando la composición en cuestión es 50 o más, la estructura de nido de abeja resultante falla en cuanto a estabilidad, especialmente en cuanto a estabilidad dinámica, y por tanto, no es objeto de referencia.

20 De manera similar, preferentemente a concentración en la solución del total de polímero biodegradable y fosfolípido que se disuelve en el disolvente anteriormente mencionado es de 0,01 a 10 % en peso, más preferentemente de 0,05 a 5 % en peso, cuando la concentración de polímero se encuentra por debajo de 0,01 % en peso, la resistencia dinámica de la película resultante es insuficiente, y por tanto, resulta no deseable. De igual forma, cuando es 10 %  
25 en peso o más, la concentración en la solución es demasiado elevada de forma que no se obtiene la estructura de nido de abeja suficiente. Además, la proporción de la composición de polímero biodegradable con respecto a fosfolípido es de 1/1 a 1.000/1 (peso/peso) en términos de proporción en peso. Cuando la proporción en peso de fosfolípido con respecto a polímero biodegradable no es más que 1/1.000, no se obtiene una estructura de nido de abeja uniforme, mientras que cuando la proporción en peso en cuestión es 1/1 o más, la estructura resultante no presenta propiedades auto-portantes como película y su coste resulta elevado y es poco rentable, y por tanto, no  
30 resulta preferida.

En la invención, la solución de disolvente orgánico de polímero en cuestión se somete a colada sobre un substrato para preparar la estructura de nido de abeja. Como substrato en cuestión, se pueden usar materiales inorgánicos tales como vidrio y una cera de silicio; materiales de alto peso molecular que presentan una excelente resistencia a disolventes orgánicos, tales como polipropileno, polietileno y poliéter cetona; y líquidos tales como agua, parafina líquida y un poliéter líquido. Entre todos, en el caso de usar agua como substrato, por medio de uso eficiente de las propiedades autoportantes que son una característica de la estructura de nido de abeja en cuestión, se extrae  
35 fácilmente la estructura en cuestión a partir del substrato, y dicha estructura resulta apropiada.

En la invención, se considera el mecanismo de formación de la estructura de nido de abeja como se muestra a continuación. Cuando se evapora, el disolvente orgánico hidrófobo extrae calor latente. De este modo, la  
40 temperatura de la superficie de película colada disminuye, y las gotas finas líquidas de agua se coagulan y se adhieren sobre la superficie de la solución de polímero. Por medio de la acción del segmento hidrófilo de la solución de polímero, se reduce la tensión superficial entre el agua y el disolvente orgánico hidrófobo. Por ese motivo, cuando las partículas finas de agua coagulan para formar un bloque sencillo, se hacen estables. Después de la evaporación del disolvente, las gotas de líquido de forma hexagonal descansan en la forma de envase más próxima, y finalmente  
45 el agua se evapora, por lo que de este modo el polímero permanece con la forma regularmente adoptada de nido de abeja. Por consiguiente, con respecto a la circunstancia de la preparación de la película en cuestión, resulta deseable que la humedad relativa se encuentre dentro del intervalo de 50 a 95 % . Cuando la humedad relativa no es más que 50 %, la condensación de la película de colada resulta insuficiente, mientras que cuando es 95 % o más, resulta difícil de controlar la circunstancia, y por tanto, dicha situación no resulta preferida. El tamaño del diámetro interno de hueco de la estructura de nido de abeja formada de este modo es de 0,1 a 20  $\mu\text{m}$ , y cuando el tamaño del diámetro interno de hueco se encuentra dentro de este intervalo, se puede usar de manera apropiada la película resultante en forma de membrana anti-adhesión.  
50

En la película preparada de este modo, cuando la superficie presenta una estructura de nido de abeja y el espesor de película es suficientemente grueso, el lado trasero que entra en contacto con el substrato es una superficie lisa  
55 en la cual no penetran los poros. De igual forma, el espesor de película es menor que el tamaño de la gota de agua, obteniéndose una película en la cual penetran los poros.

Por consiguiente, resulta deseable escoger una película penetrante o película no penetrante dependiendo de la finalidad de uso.

Desde el punto de vista de evitar la adhesión, con el fin de evitar la migración de células fibrosas entre los órganos,

es preferible usar una película en la cual los poros no penetran. Además, es preferible que el lado que presenta la estructura de nido de abeja se ponga en contacto con el área de la herida. Esto es porque resulta posible adsorber sangre o un órgano líquido a medida que se generan en la zona de la herida hacia el interior de la estructura de nido de abeja y evitar el exudado hacia afuera.

5 Se puede conformar la membrana anti-adhesión de la invención con una forma de laminado de dos o más láminas de películas con estructura de nido de abeja, teniendo en cuenta la mejora de la resistencia mecánica. Preferentemente, el número de láminas de películas con estructura de nido de abeja objeto de laminado es de 2 a 15, y más preferentemente de 2 a 10, desde el punto de vista de flexibilidad de la película. De este modo, es posible  
10 conferir a la membrana anti-adhesión las características propias de los polímeros que constituyen las respectivas películas, tales como resistencia dinámica, adhesión a los tejidos y capacidad de bioabsorción.

Se puede producir el material que evita la adhesión que comprende un laminado de películas con estructura de nido de abeja por medio de hinchamiento de las películas con estructura de nido de abeja objeto de laminado, o sometiendo a laminado las películas con estructura de nido de abeja respectivas y provocando el hinchamiento de las mismas en un disolvente apropiado, seguido de secado. Como disolvente para el hinchamiento de las películas  
15 secas, se puede usar cualquier disolvente con tal de que produzca el hinchamiento de las películas con estructura de nido de abeja sin provocar que éstas se disuelvan. Por ejemplo, se prefiere agua o una solución acuosa de una sal inorgánica tal como cloruro de sodio y cloruro de calcio. También, se puede añadir un disolvente orgánico tal como etanol, metanol y propanol. Aunque el espesor de la película con estructura de nido de abeja no se encuentra particularmente limitado, preferentemente no es mayor que 500  $\mu\text{m}$ , y más preferentemente no mayor que 200  $\mu\text{m}$ ,  
20 desde el punto de vista de flexibilidad. De igual forma, preferentemente el espesor de la película con estructura de nido de abeja es de 1  $\mu\text{m}$  o más, y más preferentemente de 3  $\mu\text{m}$  o más, desde el punto de vista de flexibilidad.

En particular, la membrana anti-adhesión se usa de manera apropiada para evitar la adhesión en el momento de la intervención quirúrgica. Por ejemplo, el material que evita la adhesión se usa para impedir la adhesión de la superficie de un tejido biológico cuando se produce daño provocado por una operación abdominal contra una  
25 enfermedad de hígado, bazo, páncreas, riñón, útero, ovario, etc., o una operación durante la sutura del tendón de Aquiles, un nervio, etc.

Con respecto al procedimiento para usar la membrana anti-adhesión de la invención, se adhiere una abertura de la película con estructura de nido de abeja sobre la zona de la herida, y la humedad tal como la sangre y un líquido de órgano es posteriormente adsorbida, fijando de este modo la membrana anti-adhesión a la zona de la herida. Debido  
30 a que la humedad tal como sangre y un líquido de sangre es adsorbida en la abertura, no es necesario suturar la zona de la herida.

Además, en los casos en los que la humedad en la zona de la herida sea tan reducida que la fijación sea insuficiente, también es posible adherir la membrana anti-adhesión de la invención sobre la zona de la herida y posteriormente suministrar el líquido desde el exterior, favoreciendo de este modo la fijación del material en  
35 cuestión. A medida que el líquido es suministrado desde el exterior, aunque se pueda utilizar cualquier solución con la condición de que sea una solución acuosa inocua para la zona de la herida, resulta apropiada una solución salina fisiológica o solución de Ringer.

Además, dado que cuando se sumerge en agua la película de la invención se encuentra libre de la formación de gel o de solución, no se une al instrumento quirúrgico y resulta fácil de manipular.

40 Además, la membrana anti-adhesión de la invención se puede someter a tratamiento de esterilización tal como esterilización con etanol, esterilización con rayos  $\gamma$ , esterilización con haz de electrones y esterilización con gas de óxido de etileno. Mediante la aplicación de dicho tratamiento es posible mejorar la seguridad.

#### **Breve descripción de los dibujos**

45 La figura 1 es una fotografía de microscopio óptico de una membrana anti-adhesión del ejemplo de referencia 1.  
La figura 2 es una fotografía de microscopio electrónico de una película que tiene la estructura de nido de abeja obtenida en el ejemplo 4.  
La figura 3 es una fotografía de microscopio electrónico de una película que tiene la estructura de nido de abeja obtenida en el ejemplo 5.  
La figura 4 es una fotografía de microscopio óptico de una película que tiene la estructura de nido de abeja  
50 obtenida en el ejemplo 6.  
La figura 5 es una fotografía de microscopio óptico de una película que tiene la estructura de nido de abeja obtenida en el ejemplo 7.  
La figura 6 es una fotografía de microscopio óptico de una película que tiene la estructura de nido de abeja obtenida en el ejemplo 8.

#### **Mejor modo de llevar a cabo la invención**

A continuación se describen modos de llevar a cabo la invención con referencia a los ejemplos siguientes, pero no debe interpretarse que la invención se encuentra limitada a los mismos.

**Ejemplos****(Ejemplo de referencia 1)**

5 Se mezcló una solución de cloroformo de poli(ácido láctico) (peso molecular: 100.000) (5 g/l) con un poli(copolímero de acrilamida) (peso molecular medio expresado en peso: 85.000), como polímero anfífilo, representado por el compuesto de fórmula 1 en una proporción de 10/1, se sometió la mezcla a colada sobre un sustrato de vidrio y se dejó reposar en condiciones de temperatura ambiente y humedad de 70 %, y se evaporó gradualmente el disolvente para preparar una estructura de nido de abeja. La estructura de nido de abeja obtenida de este modo presentó un tamaño de diámetro interno de hueco de 5  $\mu\text{m}$  y un espesor de película de 13  $\mu\text{m}$ . La figura 1 muestra una de sus fotografías de microscopio óptico.

**10 (Ejemplo de referencia 2)**

Se mezcló una solución de cloroformo de copolímero de ácido láctico-ácido glucólico (proporción de copolímero: 75/25, peso molecular: 100.000) (5 g/l) con un poli(copolímero de acrilamida), como polímero anfífilo, en una proporción de 10/1, se sometió la mezcla a colada sobre un sustrato de vidrio y se dejó reposar en condiciones de temperatura ambiente y humedad de 70 %, y se evaporó gradualmente el disolvente para preparar una estructura de nido de abeja. La estructura de nido de abeja obtenida de este modo presentó un tamaño de diámetro interno de hueco de 5  $\mu\text{m}$  y un espesor de película de 13  $\mu\text{m}$ .

El poli(copolímero de acrilamida) que se usó presenta la siguiente fórmula estructural.

[Fórmula]

(cada uno de m y n representa una unidad de repetición, y m/n es 1/4).

**20 (Ejemplo comparativo 1)**

Se sometió a colada una solución de cloroformo de poli(ácido láctico) (peso molecular: 100.000) (100 g/l) sobre un sustrato de vidrio y se dejó reposar en condiciones de temperatura ambiente, y se retiró el disolvente por medio de secado espontáneo para preparar una película de colada.

**(Ejemplo comparativo 2)**

25 Se sometió a colada una solución de cloroformo de copolímero de ácido láctico-ácido glucólico (proporción de copolímero: 75/25, peso molecular: 100.000) (100 g/l) sobre un sustrato de vidrio y se dejó reposar en condiciones de temperatura ambiente, y se retiró el disolvente por medio de secado espontáneo para preparar una película de colada.

**(Ejemplo de referencia 3)**

30 Se anestesiaron ratas sin pelo macho SPF (peso corporal medio: 250 g) mediante inyección intraperitoneal; se realizó un corte en la zona abdominal para dejar el estómago expuesto; se realizó una incisión de aproximadamente 8 mm en la superficie de la pared del fondo del estómago; se adhirieron cada una de las membranas anti-adhesión obtenidas en los Ejemplos de referencia 1 y 2 y Ejemplos comparativos 1 y 2 (lados de tres centímetros) sobre todas y cada una de las láminas por rata. Una semana después de adherir la membrana anti-adhesión, se llevó a cabo la autopsia para observar el estado de adhesión a simple vista. Como resultado de ello se obtuvieron los diferentes estados de adhesión para cada rata que se muestran en la Tabla 1.

35 En las películas con estructura de nido de abeja de los Ejemplos de referencia 1 y 2, no se produjo ni formación de gel ni solución en el estado de inmersión en agua, la adherencia a la zona de la herida resultó fácil debido a la flexibilidad de la película, y las propiedades de manipulación fueron buenas. No se provocó una respuesta inflamatoria importante o similar, y se apreció que la membrana anti-adhesión obtenida por medio de la invención presentó una biocompatibilidad satisfactoria. En cada una de las películas de colada de los Ejemplos comparativos 1 y 2, se produjo fallo de flexibilidad; una vez arrugada, no recupera su condición original; y la adherencia a la zona de la herencia resultó difícil. Por tanto, no puede decirse que la capacidad de funcionamiento sea buena.

Los resultados se muestran en la Tabla 1.

45

Tabla 1

	Contenidos de la membrana de anti-adhesión	Estado de adhesión
Ejemplo de referencia 1	Película de estructura de nido de abeja formada por PLA/poli(copolímero de acrilamida)	No se provocó la adhesión
Ejemplo de referencia 2	Película de estructura de nido de abeja formada por la adhesión de PLGA/poli(copolímero de acrilamida)	No se provocó
Ejemplo comparativo 1	Película de colada PLA	Se provocó la adhesión sobre peritoneo, hígado y estómago
Ejemplo comparativo 2	Película de colada PLGA	Se provocó la adhesión sobre peritoneo, hígado y estómago

**(Ejemplo 4)**

5 Se mezcló una solución de cloroformo de poli(ácido láctico) (peso molecular: 100.000) (5 g/l) con fosfatidiletanolamina-dioleilo, como tensioactivo, en una proporción de 10/1, se sometió la mezcla a colada sobre un sustrato de vidrio y se dejó reposar en condiciones de temperatura ambiente y una humedad de 70 %, y se evaporó gradualmente el disolvente para preparar una película que tenía una estructura de nido de abeja. Los poros individuales que constituyen la estructura de nido de abeja obtenida de este modo presentaron un tamaño de diámetro interno de hueco de aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  y un espesor de película de 13  $\mu\text{m}$ , y la película fue una  
10 película no penetrante. La película fue opaca. Aunque la película de poli(ácido láctico) preparada por medio del procedimiento de colada general es incolora y transparente, cuando presenta la estructura de nido de abeja de la invención la película es opaca debido a la dispersión de la luz. La Figura 2 muestra una fotografía SEM.

**(Ejemplo 5)**

15 Se mezcló una solución de cloroformo de poli(ácido láctico) (peso molecular: 100.000) (5 g/l) con fosfatidiletanolamina-dioleilo, como tensioactivo, en una proporción de 200/1, se sometió la mezcla a colada sobre un sustrato de vidrio y se dejó reposar en condiciones de temperatura ambiente y una humedad de 70 %, y se evaporó gradualmente el disolvente para preparar una película que tenía una estructura de nido de abeja. Los poros individuales que constituyen la estructura de nido de abeja obtenida de este modo presentaron un tamaño de diámetro interno de hueco de aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  y un espesor de película de 13  $\mu\text{m}$ , y la película fue una  
20 película no penetrante. La película fue opaca. Nótese a partir de esta cuestión que la estructura de nido de abeja se genera como en el Ejemplo 4. La Figura 3 muestra una fotografía SEM.

**(Ejemplo 6)**

25 Se mezcló una solución de cloroformo de poli(ácido láctico) (peso molecular: 100.000) (5 g/l) con fosfatidiletanolamina-dioleilo, como tensioactivo, en una proporción de 800/1, se sometió la mezcla a colada sobre un sustrato de vidrio y se dejó reposar en condiciones de temperatura ambiente y una humedad de 70 %, y se evaporó gradualmente el disolvente para preparar una película que tenía una estructura de nido de abeja. Los poros individuales que constituyen la estructura de nido de abeja obtenida de este modo presentaron un tamaño de diámetro interno de hueco de aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  y un espesor de película de 13  $\mu\text{m}$ , y la película fue una  
30 película no penetrante. La película fue opaca. Nótese a partir de esta cuestión que la estructura de nido de abeja se genera como en el Ejemplo 4. La Figura 4 muestra una fotografía de microscopio óptico.

**(Ejemplo 7)**

35 Se mezcló una solución de cloroformo de copolímero de ácido láctico-ácido glucólico (peso molecular: 101.000) (5 g/l) con fosfatidiletanolamina-dioleilo, como tensioactivo, en una proporción de 10/1, se sometió la mezcla a colada sobre un sustrato de vidrio y se dejó reposar en condiciones de temperatura ambiente y una humedad de 70 %, y se evaporó gradualmente el disolvente para preparar una película que tenía una estructura de nido de abeja. Los poros individuales que constituyen la estructura de nido de abeja obtenida de este modo presentaron un tamaño de diámetro interno de hueco de aproximadamente 3  $\mu\text{m}$  y un espesor de película de 10  $\mu\text{m}$ , y la película fue una  
40 película no penetrante. La película fue opaca. Aunque la película de copolímero de ácido láctico-ácido glucólico preparada por medio del procedimiento de colada general es incolora y transparente, cuando presenta la estructura de nido de abeja de la invención la película es opaca debido a la dispersión de la luz. La Figura 5 muestra una fotografía de microscopio óptico.

**(Ejemplo 8)**

5 Se mezcló una solución de cloroformo de copolímero de ácido láctico-ácido glucólico (peso molecular: 101.000) (5 g/l) con fosfatidiletanolamina-dioleilo, como tensioactivo, en una proporción de 200/1, se sometió la mezcla a colada sobre un sustrato de vidrio y se dejó reposar en condiciones de temperatura ambiente y una humedad de 70 %, y se evaporó gradualmente el disolvente para preparar una película que tenía una estructura de nido de abeja. Los poros individuales que constituyen la estructura de nido de abeja obtenida de este modo presentaron un tamaño de diámetro interno de hueco de aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  y un espesor de película de 10  $\mu\text{m}$ , y la película fue una película no penetrante. La película fue opaca. Nótese a partir de esta cuestión que la estructura de nido de abeja se genera como en el Ejemplo 7. La Figura 6 muestra una fotografía de microscopio óptico.

10 **(Ejemplo comparativo 3)**

Se intentó preparar una película que tenía una estructura de nido de abeja en la misma forma que en el Ejemplo 4 mediante el uso de una solución de cloroformo de poli(ácido láctico) (peso molecular: 100.000) (5 g/l). No obstante, no se formó la estructura de nido de abeja, pero se preparó una película no uniforme.

**(Ejemplo comparativo 4)**

15 Se intentó preparar una estructura de nido de abeja de la misma forma que en el Ejemplo de referencia 1 mediante el uso de una solución de cloroformo de fosfatidiletanolamina-dioleilo (5 g/l). No obstante, no se pudo preparar la película y no se apreciaron propiedades autoportantes.

Con el fin de confirmar el efecto preventivo de adhesión en organismos vivos de acuerdo con la invención de la presente solicitud, se llevaron a cabo experimentos usando el modelo de adhesión intraperitoneal en ratas.

20 Con respecto al modelo de adhesión intraperitoneal se colocó la rata en posición de decúbito supino bajo anestesia por medio de administración intraperitoneal de pentobarbital sódico (inyección de Nembutal de 30 mg/kg, disponible en Dainippon Pharmaceutical Co. Ltd) y se afeitó la región abdominal y posteriormente se desinfectó con etanol. Además, la zona de intervención se desinfectó con desinfectante de isodina, y posteriormente se cortaron de 3 a 4 cm de la región abdominal a lo largo de la línea media para exponer el ciego. Se raspó una determinada zona (de 1 a 2  $\text{cm}^2$ ) del ciego expuesto usando una gasa absorbente estéril hasta que se generó una hemorragia petequiral. Tras devolver el ciego a la cavidad intraperitoneal, se adhirió la membrana anti-adhesión sobre el mismo, se suturaron de forma continua los músculos de la túnica de la zona cortada, y se suturó el cutis con 4 ó 5 puntos. Se desinfectó la parte de la herida con un desinfectante de isodina y posteriormente se devolvió la rata a la jaula.

30 Siete días después de la operación, se sometió la rata a una intervención en el abdomen con anestesia de pentobarbital sódico, y se observó el grado de adhesión intraperitoneal a simple vista y se evaluó de acuerdo con los siguientes criterios.

(Clasificación de grado)

Grado 0 (puntuación 0): No se encontró adhesión

35 Grado 1 (puntuación 1 ): Se encontró adhesión hasta un grado tal que la adhesión es fina y se puede separar fácilmente.

Grado 2 (puntuación 2): Se encontró adhesión hasta un grado tal que la adhesión se generó dentro de un intervalo estrecho pero resulta duradera frente a un ligero grado de tracción.

Grado 3 (puntuación 3): Se encontró adhesión considerablemente firme o se encontró adhesión en al menos dos puntos.

40 Grado 4 (puntuación 4): Se encontró adhesión en tres o más lugares.

A continuación se describen el Ejemplo y los Ejemplos comparativos.

**(Ejemplo 9).**

Se confirmó un efecto de prevención de la adhesión en organismos vivos mediante el uso de la película obtenida en el Ejemplo 5.

45 **(Ejemplo Comparativo 5)**

Se suturó la rata de acuerdo con los mismos procedimientos que en el anterior modelo de adhesión intraperitoneal sin usar una membrana anti-adhesión.

**(Ejemplo Comparativo 6)**

Se llevó a cabo un modelo de adhesión intraperitoneal por medio de película Sepra (TM) (hialuronato de sodio y

carboximetil celulosa, espesor: aproximadamente 55  $\mu\text{m}$ , disponible en Kaken Pharmaceutical Co., Ltd.).

Se clasificó el grado de adhesión intraperitoneal sobre cada animal de acuerdo con la clasificación de grado y los resultados, expresados en términos de  $\{(\text{valor medio}) \pm (\text{desviación estándar})\}$  (media  $\pm$  D.E.), se muestran en la Tabla 2.

- 5 La puntuación media de adhesión del Ejemplo Comparativo 5 (sin película) fue de  $3,0 \pm 0,3$ . Por otra parte, la puntuación media de adhesión del Ejemplo 7 fue de  $1,6 \pm 0,5$ , y se observó una reducción de la puntuación de adhesión en comparación con el Ejemplo Comparativo 5. De manera similar, se observó también una reducción de la puntuación de adhesión en comparación con la puntuación de adhesión ( $1,8 \pm 0,7$ ) del Ejemplo Comparativo 6 (con Cefrafilm).
- 10 La membrana anti-adhesión de la invención de esta solicitud proporciona un efecto explícito en comparación con el caso de que no se use membrana anti-adhesión. Además, no solo resulta eficaz para evitar la adhesión en comparación con la película del Ejemplo Comparativo 6 que actualmente se lleva a cabo en uso práctico, sino que también es fácil de manipular ya que no presenta propiedades de unión como en el caso de la película del Ejemplo Comparativo 6.

15 Tabla 2

Resultados de evaluación del modelo de adhesión intraperitoneal

Fármaco	Nº. de animal	Puntuación
<b>Ejemplo 9:</b>		
	301	0
	302	2
	303	1
Película de nido de abeja PLA/PE = 200/1	304	3
	305	2
	Media	1,6
	$\pm$ D.E.	0,5
<b>Ejemplo Comparativo 5:</b>		
	101	4
	102	2
	103	3
Grupo de Control (sin película)	104	3
	105	3
	Media	3,0
	$\pm$ D.E.	0,3
<b>Ejemplo Comparativo 6:</b>		
	201	1
	202	4
	203	1
	204	3
Grupo de control positivo (con Cefrafilm)	205	0
	Media	1,8
	$\pm$ D.E.	0,7

**Aplicación industrial**

Se puede aplicar la película biodegradable que presenta la estructura de nido de abeja de la invención de la presente solicitud como membrana anti-adhesión a un organismo vivo.

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Una membrana para su uso en la prevención de adhesión pos-operatorias, que comprende una película biodegradable de un poliéster alifático biodegradable y/o un policarbonato alifático biodegradable, presentando dicha película estructura de nido de abeja, y en la que dicha película comprende un tensioactivo, que se **caracteriza porque** dicho tensioactivo es un fosfolípido.
2. La membrana de acuerdo con la reivindicación 1, que se **caracteriza porque** la estructura de nido de abeja presenta un diámetro medio interno de hueco de no más que 20  $\mu\text{m}$ .
3. La membrana de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, que se **caracteriza porque** únicamente una superficie de la película presenta estructura de nido de abeja.
- 10 4. La membrana que presenta una estructura de nido de abeja de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en la que dicho poliéster alifático biodegradable es al menos un polímero que se selecciona entre el grupo que consiste en poli(ácido láctico), un copolímero de poli(ácido láctico)-poli(ácido glucólico), poli(ácido hidroxibutírico), policaprolactona, poli(adipato de etileno) y poli(adipato de butileno).
- 15 5. La membrana que presenta una estructura de nido de abeja de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en la que dicho policarbonato alifático biodegradable es al menos un polímero seleccionado entre el grupo que consiste en poli(carbonato de butileno) y poli(carbonato de etileno).
6. La membrana de acuerdo con una estructura de nido de abeja de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que se **caracteriza porque** dicho polímero biodegradable es poli(ácido láctico) o un copolímero de ácido láctico-ácido glucólico.
- 20 7. La membrana que presenta una estructura de nido de abeja de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en la que dicho fosfolípido se selecciona entre el grupo que consiste en fosfatidil etanolamina, fosfatidil colina, fosfatidil serina, fosfatidil glicerol y sus derivados.
8. La membrana que presenta una estructura de nido de abeja de acuerdo con la reivindicación 7, que se **caracteriza porque** dicho fosfolípido es L- $\alpha$ -fosfatidil etanolamina.
- 25 9. La membrana que presenta una estructura de nido de abeja de acuerdo con la reivindicación 8, que se **caracteriza porque** dicho fosfolípido es L- $\alpha$ -fosfatidil etanolamina dioleilo.
10. La membrana que presenta una estructura de nido de abeja de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que se caracteriza porque la proporción de la composición de dicho polímero biodegradable con respecto a dicho fosfolípido es de 1/1 a 1.000/1.
- 30 11. Un procedimiento de producción de una membrana anti-adhesión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 que comprende colar una solución de disolvente orgánico de un polímero biodegradable sobre un sustrato en atmósfera de humedad relativa de 50 a 95 %, transpirar de forma gradual dicho disolvente orgánico, condensar el mismo de manera simultánea sobre la superficie de dicho líquido colado y evaporar las gotitas pequeñas de agua a medida que se generan por medio de dicha condensación.

FIG. 1

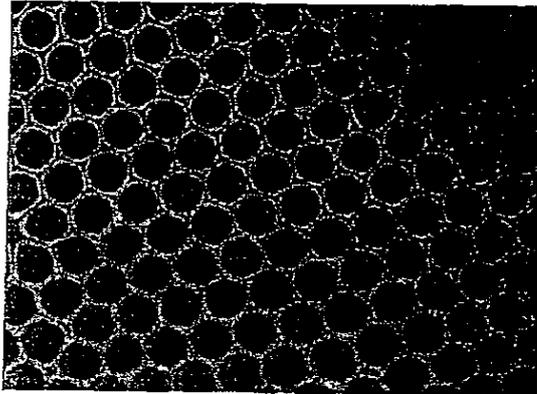


FIG. 2

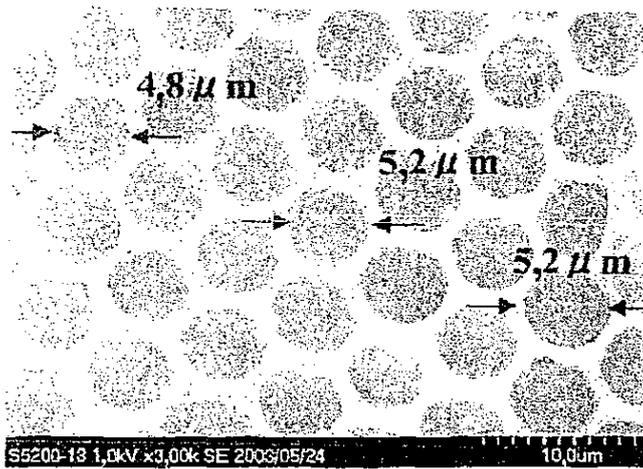


FIG. 3

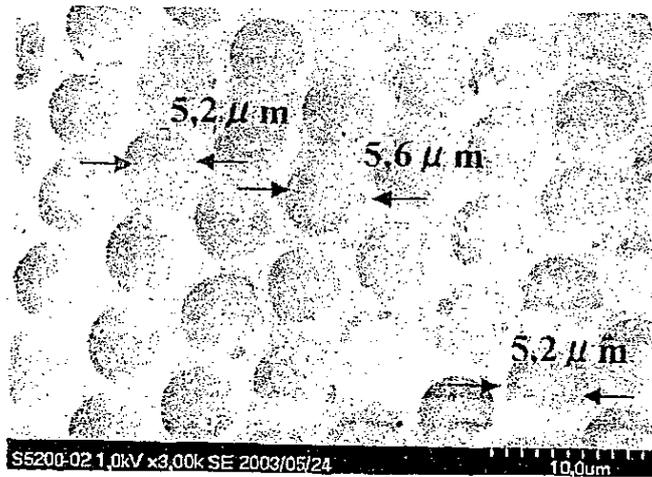


FIG. 4

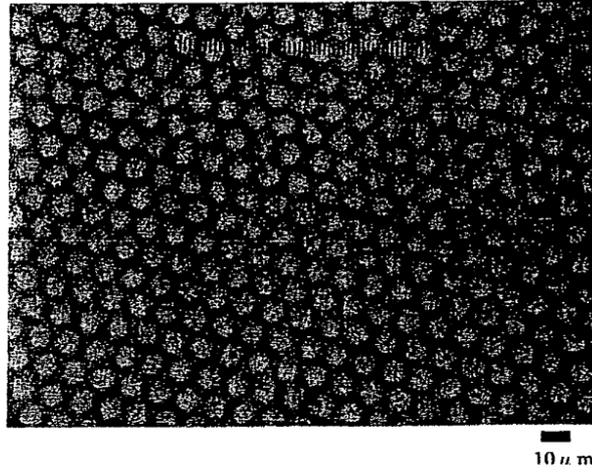


FIG. 5

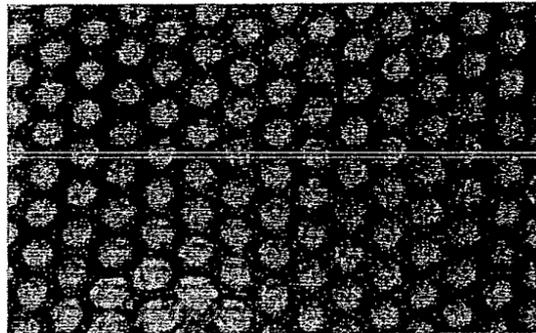


FIG. 6

