

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 394 064**

51 Int. Cl.:

**A61K 49/00** (2006.01)

**A61M 5/178** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.12.2009 E 09801410 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **19.01.2011 EP 2274019**

54 Título: **Disolución de colorante**

30 Prioridad:

**19.12.2008 DE 102008064065**

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

**16.01.2013**

73 Titular/es:

**FLUORON GMBH (100.0%)  
Magirus-Deutz-Strasse 10  
89077 Ulm, DE**

72 Inventor/es:

**LINGENFELDER, CHRISTIAN;  
THEISINGER, BASTIAN;  
HIEBL, WILFRIED y  
HAGEDORN, NADINE**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

**ES 2 394 064 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**

Disolución de colorante

**Campo de la invención**

5 La invención se refiere a una preparación biocompatible en base agua para la tinción selectiva de la membrana limitante interna (MLI) y/o de membranas epirretinianas (MER) en el ojo humano o animal y un kit que contiene dicha preparación biocompatible en base agua según la invención.

**Antecedentes de la invención**

10 Las enfermedades oculares, tales como catarata gris (cataratas), glaucoma (catarata verde), degeneración macular asociada a la edad y retinopatía asociada a diabetes, así como alteraciones de la retina o desprendimientos de retina, aumentan debido entre otros a la mayor esperanza de vida. Para el tratamiento de estas y otras enfermedades oculares está indicada una vitrectomía. A este respecto debe garantizarse que la retina se vea dañada lo menos posible. Una medida de precaución consiste en retirar la membrana limitante interna (MLI) y dado el caso membranas epirretinianas de la retina durante la vitrectomía, para descargar la mácula de las fuerzas de tracción intravítreas esperadas. Para ello se retiran las membranas con unas pinzas de la retina. Para el cirujano es necesario poder diferenciar de la manera más precisa posible la retina de la membrana que debe retirarse. Para ello las membranas que deben retirarse deben hacerse visibles mediante una tinción lo más específica posible. Los colorantes adecuados para una tinción deben cumplir muchos criterios. Deben ser biocompatibles y no tóxicos y no pueden dañar las células, deben ser solubles en agua, deben realizar una tinción lo más específica posible y deben poder enjuagarse de nuevo fácilmente. Ya se han descrito colorantes y procedimientos para la tinción de dichas membranas, pero que aún no son completamente satisfactorios.

20 Así el documento US 7.014.991 describe un procedimiento para la tinción de estructuras oculares en el ojo humano, teniendo lugar la tinción mediante la inyección del colorante disulfato de indigotina en el tejido correspondiente. Sin embargo el disulfato de indigotina es citotóxico.

25 También se han propuesto colorantes adicionales, tales como azul brillante G, azul brillante R, azul patentado V o azul de metileno para su uso en el ojo. El documento EP 1553 984 describe colorantes de trifenilmetano, por ejemplo BBR y azul patentado V, para la tinción de membranas que deben retirarse del ojo. Ünlü et al. (2000), J. Cataract Refract. Surg. describen azul genciana para la tinción selectiva de la cámara anterior del ojo.

30 Durante la vitrectomía o la intervención quirúrgica se lava la cuenca del ojo con una disolución de lavado. Un problema de las disoluciones de colorante conocidas hasta la fecha consiste en que la disolución de colorante se distribuye, diluye y enjuaga con la disolución de lavado. Esto tiene varias desventajas. Por un lado se enturbia la visibilidad del cirujano cuando la disolución de lavado está teñida. Por otro lado es necesaria más disolución de colorante que la que sería necesaria sólo para teñir la membrana.

35 Para superar esta desventaja, ya se ha propuesto añadir a la disolución de colorante un agente espesante, tal como por ejemplo ácido hialurónico, que aumente la viscosidad de la disolución de colorante. El aumento de la viscosidad debe conducir a que el colorante, debido a una capacidad de movimiento reducida, es decir debido a impedimento estérico, no pase de manera tan intensa a la disolución de lavado y más bien llegue a las proximidades de la membrana que debe teñirse. Sin embargo, la viscosidad elevada de la disolución de colorante conduce a que el colorante ahora pueda pasar debido a la misma difícilmente a la membrana, de modo que de nuevo la demanda de disolución de colorante es mayor que la cantidad, que sería necesaria sólo para la tinción de la membrana. El documento WO 03/057259 describe una preparación de ICG a partir de alcohol o polivinilpirrolidona.

40 Por tanto, el objetivo de la invención era proporcionar una preparación, que pueda teñir las membranas de manera especial, en particular que pueda teñir de manera selectiva las membranas que deben retirarse tales como la membrana limitante interna (MLI) y/o membranas epirretinianas (MER), en el ojo humano o animal, que pueda aplicarse fácilmente, que migre directamente tras la aplicación a la membrana y se distribuya en la misma, sin teñir de manera demasiado intensa la disolución de lavado. Además se pretende proporcionar una preparación, que ni conduzca a irritaciones locales ni a daños de la retina, ni sea citotóxica, sino que se tolere bien.

45 Este objetivo se soluciona con una preparación, tal como se define en las reivindicaciones, en particular en la reivindicación 1.

Las reivindicaciones dependientes contienen perfeccionamientos ventajosos.

**50 Descripción detallada de la invención**

Sorprendentemente se encontró que una preparación, que contiene al menos azul brillante G como colorante, permite una tinción eficaz y selectiva de la MLI y/o las MER, cuando la densidad de la preparación se ajusta en un intervalo de desde 1,01 g/cm<sup>3</sup> hasta 1,5 g/cm<sup>3</sup>, preferiblemente de 1,01 g/cm<sup>3</sup> a 1,3 g/cm<sup>3</sup>.

Se encontró que una disolución de colorante con densidad aumentada con respecto al agua, cuando se inyecta en el

marco de una intervención quirúrgica en el ojo en la zona de la cuenca del ojo, desciende, con lo que se evita un mezclado rápido con la disolución de lavado, y tras descender se distribuye sobre la membrana y la tinte. De este modo se evita que el colorante se elimine mediante lavado demasiado rápido con la disolución de lavado y también que el colorante enturbie el campo de visión.

- 5 La preparación según la invención es en base agua como disolvente, pudiendo estar contenidos disolventes adicionales dado el caso en menores porcentajes, siempre que puedan mezclarse de manera homogénea con agua y sean biológicamente compatibles. En este caso se tienen en cuenta alcoholes mono y polivalentes, tal como se aplican en el campo de la medicina. En caso de que se use un disolvente adicional, éste es de manera especialmente preferible un glicol o glicerina. También se tienen en cuenta mezclas de los disolventes mencionados.
- 10 En caso de que se añada al agua un disolvente, entonces éste no debe usarse en un porcentaje superior al 20% en peso, más preferiblemente no superior al 10% en peso. Se prefiere la preparación de una disolución isotónica.

- Además del agua como disolvente y el colorante, que se explica más detalladamente más adelante, la preparación según la invención contiene como componente esencial un agente de ajuste de la densidad. El agente de ajuste de la densidad debe ser biológicamente compatible, no debe ser tóxico y debe poder mezclarse homogéneamente con el agua, dado el caso tras la adición de una cantidad reducida de un solubilizante tal como un alcohol, de modo que se genere una disolución transparente clara. Además debe ser compatible con el colorante, es decir no debe alterar la solubilidad del colorante en un grado considerable. Durante el ajuste de la preparación debe prestarse atención también a la osmolaridad, para no provocar ningún daño debido a ósmosis en el tejido. La osmolaridad debe encontrarse en un intervalo de 280-330 mosmol/l, preferiblemente a 300 mosmol/l.
- 15

- 20 Por tanto se tienen en cuenta líquidos compatibles con el agua, cuya densidad se encuentra por encima de la densidad del agua. Un agente ventajoso para aumentar la densidad es el agua pesada,  $D_2O$ , con la que puede ajustarse el valor de densidad al intervalo deseado. El agua pesada se caracteriza por una excelente compatibilidad. Los eucariotas la toleran hasta una concentración del 20% en agua y no conduce a irritaciones en la zona de aplicación. Puede mezclarse con el agua en cualquier concentración, no tiende a descender o a separarse y no presenta ninguna diferencia detectable en cuanto a la solubilidad con respecto al agua. El porcentaje de agua pesada puede ajustarse en la preparación de tal manera que se consiga el valor de densidad deseado de desde  $1,01 \text{ g/cm}^3$  hasta  $1,5 \text{ g/cm}^3$ , preferiblemente desde  $1,01 \text{ g/cm}^3$  hasta  $1,3 \text{ g/cm}^3$ . La cantidad adecuada, que depende también de las demás sustancias contenidas, puede hallarse mediante ensayos o cálculos sencillos. Cuando el agua pesada es el agente de ajuste de la densidad, se usa preferiblemente en una cantidad del 5-20%. También la producción de la preparación con agua pesada es muy sencilla y puede tener lugar simplemente mediante mezclado debido a la buena miscibilidad de ambos componentes. Por tanto, a partir de agua, agua pesada y colorante puede producirse de manera sencilla y rápida una preparación estable a la larga y muy adecuada para el propósito de la tinción selectiva de las membranas.
- 25
- 30

- Un agente adicional, con el que puede ajustarse la densidad, es un di o polisacárido. Los polisacáridos son adecuados para aumentar la densidad y están ampliamente disponibles. Además son inocuos desde el punto de vista toxicológico y son biológicamente compatibles. Por polisacáridos se entienden en este caso moléculas, que están constituidas por más de dos, preferiblemente más de 5, de manera especialmente preferible más de 10 unidades de sacárido. Aunque en general los mono y disacáridos pueden aumentar la densidad, según la invención se utilizan sólo disacáridos no reductores para aumentar la densidad. El uso de monosacáridos y disacáridos reductores puede conducir a efectos no deseados, así éstos pueden ser, por ejemplo, citotóxicos en la cantidad necesaria para aumentar la densidad. Disacáridos no reductores adecuados según la invención son la sacarosa o la trehalosa. Como polisacáridos adecuados pueden mencionarse derivados de almidón solubles, tales como hidroxietilalmidón y dextrano. Como polisacáridos son adecuados aquellos compuestos que son neutros, no tienen un efecto reductor y no se descomponen en disolución acuosa.
- 35
- 40

- 45 Agentes adicionales para ajustar la densidad son polímeros neutros tales como poliéter, poli(alcohol vinílico), poliéster, copolímero de poli(ácido acrílico), polivinilpirrolidona.

Combinaciones de los agentes mencionados son también muy adecuadas para ajustar la densidad de la preparación según la invención, por ejemplo una combinación de agua pesada y uno o varios polisacáridos.

- La cantidad de agua pesada y/o agentes de ajuste de la densidad adicionales u otros se selecciona a este respecto de tal manera que la densidad de la preparación producida final se encuentre en el intervalo necesario de desde  $1,01 \text{ g/cm}^3$  hasta  $1,5 \text{ g/cm}^3$ , preferiblemente de  $1,01 \text{ g/cm}^3$  a  $1,3 \text{ g/cm}^3$ . La densidad de la preparación puede determinarse a este respecto según cualquier método habitual, tal como lo conoce en general el experto en la técnica.
- 50

- Se ha descubierto que el aumento de la densidad hasta  $1,01 \text{ g/cm}^3$  ya provoca el efecto deseado, concretamente que la disolución de colorante tras la aplicación en la cuenca del ojo desciende rápidamente y que puede distribuirse entonces allí sobre la membrana. De este modo se consigue una tinción selectiva de la membrana, sin empeorar la visibilidad de quien opera. Una diferencia de densidad inferior a  $0,01 \text{ g/cm}^3$  con respecto al agua ya no es suficiente para dejar que la preparación de colorante descienda de manera dirigida. El descenso tiene lugar entonces tan lentamente como en las preparaciones del estado de la técnica y conduce a los problemas expuestos anteriormente.
- 55

Cuando la densidad de la preparación es superior a  $1,5 \text{ g/cm}^3$ , entonces debido a la densidad puede producirse un daño de la muy sensible retina.

Un aspecto importante adicional de la preparación según la invención es el azul brillante G como colorante. Como colorante pueden utilizarse aquellos compuestos que pueden teñir de manera específica y dirigida la MLI y/o las MER, de modo que la membrana se diferencie ópticamente de la retina. Además el colorante debe ser soluble en agua o en la mezcla de agua y un disolvente adicional. No debe ser tóxico, en particular citotóxico ni dañino para las células, ni producir daños en la retina ni desarrollar efectos tóxicos mediante reacciones con la luz tales como ICG o azul de tripano. Además debe tener una buena capacidad de tinción, para poder mantener reducida la cantidad del colorante.

Han demostrado ser ventajosos los colorantes del grupo de los colorantes de trifenilmetano, tales como azul brillante G, azul brillante R, azul brillante FCF, azul patentado V, azul de bromofenol, verde de lisamina SF, verde de lisamina G, verde rápido, verde de metilo, verde ácido brillante, violeta de Commassie R 200, rosanilina; del grupo de los colorantes azoicos o diazoicos tales como naranja G, Ponceau 2R, cromotropo 6 R, Ponceau 6 R, tartracina, azofloxina, Ponceau B, azul de Evans, azul Chicago; del grupo de los colorantes de cianina tales como yoduro de 3,3'-dietiltiacianina, yoduro de 3,3'-dietiltiacarbocianina, yoduro de 3,3'-dietil-9-metiltiacarbocianina, yoduro de 1,1'-dietil-4,4'-cianina y/o del grupo de los colorantes naturales tales como orceína, lawsona, indigotina, cantaxantina, hematxilina, índigo carmín y/o antocianos y antocianidinas así como sus mezclas, es decir mezclas de varios miembros de un grupo mencionado así como de miembros de diferentes grupos.

Como colorantes adicionales pueden usarse azul brillante R, azul brillante FCF, azul patentado V, verde de metilo, violeta de Commassie R 200, azul de bromofenol y/o azul Chicago. De los colorantes de trifenilmetano pueden usarse de manera especialmente preferible violeta de Commassie R 200 y azul Chicago. De los colorantes de azul brillante se prefiere el azul brillante G debido a su capacidad de tinción especialmente buena. Puede utilizarse en una concentración inferior a  $0,3 \text{ g/l}$ . Esta concentración reducida conduce ya a una tinción selectiva suficiente de MLI y/o MER. Colorantes adecuados adicionales son verde de lisamina SF, verde de lisamina G, verde rápido, verde ácido brillante, naranja G, Ponceau 2R, cromotropo 6 R, Ponceau 6 R, tartracina, azofloxina, Ponceau B, azul Chicago, azul de Evans, yoduro de 3,3'-dietiltiacianina, yoduro de 3,3'-dietiltiacarbocianina, yoduro de 3,3'-dietil-9-metiltiacarbocianina, yoduro de 1,1'-dietil-4,4'-cianina, orceína, lawsona, indigotina, cantaxantina, hematxilina, índigo carmín y diferentes antocianos.

Para mejorar adicionalmente las propiedades ventajosas de la preparación según la invención, puede añadirse a la preparación adicionalmente además un agente de ajuste de la viscosidad. Se ha demostrado que la adición de un agente de aumento de la viscosidad de la preparación según la invención puede provocar una mejora de la cohesividad, de modo que se amplifiquen más las ventajas obtenidas con la preparación según la invención. La preparación aplicada, que debido a la mayor densidad desciende rápidamente, se distribuye aún menos en la disolución de lavado, puesto que debido a la viscosidad aumentada se mantiene unida hasta llegar a la membrana. Sin embargo, puesto que ya se consigue un efecto ventajoso mediante el ajuste de la densidad, no debe aumentarse tanto la viscosidad, como para que conduzca a problemas tal como existen en el estado de la técnica. Ya un aumento reducido de la viscosidad conduce a que las gotas que salen del aparato de aplicación formen una unidad más estable y por consiguiente puedan diluirse con menor facilidad, lo que impide que el colorante incluido en la preparación se disgregue. De este modo el colorante no se libera hasta el sitio de aplicación mediante efectos de capilaridad sobre la membrana, que de este modo se tiñe. De esta manera el colorante puede llevarse de manera dirigida hasta la membrana.

Como agentes biocompatibles de regulación de la viscosidad, es decir agentes que ajustan la viscosidad, pueden utilizarse uno o varios del siguiente grupo: poliéter, poli(alcohol vinílico), poliéster, copolímero de poli(ácido acrílico), polivinilpirrolidona y otros polímeros, alcoholes polivalentes tales como glicerina, propilenglicol, butilenglicol, derivados de celulosa solubles en agua tales como metilcelulosa, goma xantana, almidón, ácido hialurónico y sus respectivos derivados, sulfato de condroitina y sulfato de sodio. Como agentes de regulación de la viscosidad pueden usarse también aquéllos que no sólo aumenten la viscosidad, sino al mismo tiempo también la densidad. En este caso es importante tener en cuenta que ambos parámetros, es decir tanto la viscosidad como la densidad, se encuentren en el intervalo deseado. Dicho de otro modo, un agente de regulación de la viscosidad y que influye en la densidad no puede utilizarse en una cantidad tal, que la preparación acabada presente entonces una densidad superior a  $1,5 \text{ g/cm}^3$ . Sin embargo, el experto en la técnica puede establecer fácilmente las cantidades adecuadas, dado el caso con ensayos rutinarios y ajustarse los valores correspondientes en la preparación.

Como agentes de regulación de la viscosidad son especialmente adecuados aquéllos que presentan una cierta afinidad por el colorante usado según la invención y que se caracterizan por una elevada capacidad de dispersión. Sorprendentemente se encontró que el butilenglicol es un agente con el que puede regularse la viscosidad y que conduce a una buena capacidad de dispersión. Por tanto, una adición de butilenglicol puede hacer que la preparación aplicada descienda y, en cuanto haya alcanzado la membrana, se disperse en la misma y tiña rápidamente la membrana. Esto se explica, sin restringirse a una teoría, porque por un lado el butilenglicol tiene una afinidad por las membranas y por otro lado adsorbe bien el colorante debido a grupos lipófilos. Cuando la preparación que contiene butilenglicol y colorante alcanza la membrana, el butilenglicol hace que el colorante pueda distribuirse rápidamente sobre la membrana.

La viscosidad de la preparación según la invención se ajusta preferiblemente de tal manera que la viscosidad de cizallamiento a 25°C y una velocidad de cizallamiento de  $10 \text{ s}^{-1}$  se encuentre en un intervalo de desde 1 hasta 500 mPas. Preferiblemente la viscosidad de cizallamiento a 25 °C y una velocidad de cizallamiento de  $10 \text{ s}^{-1}$  se ajusta a un intervalo de desde 50 hasta 275 mPas. El ajuste de la viscosidad puede conseguirse con los agentes de regulación de la viscosidad ya mencionados. Si la viscosidad, en las condiciones de medición indicadas, se encuentra en un intervalo de desde 1 hasta 500 mPas, entonces los efectos conseguidos con la preparación según la invención se amplifican considerablemente. La preparación que contiene el colorante de tinción selectiva desciende rápidamente, sin que el colorante se elimine mediante enjuague en una medida significativa con la disolución de lavado. Por consiguiente, el colorante no se libera hasta llegar al sitio de aplicación mediante efectos de capilaridad sobre la membrana, que de este modo se tiñe. Si la viscosidad, en las condiciones de medición indicadas, es inferior a 1 mPas, entonces no puede amplificarse adicionalmente el efecto del descenso rápido de la preparación según la invención. Existe la posibilidad de que al menos una parte del colorante antes de la tinción de la membrana se evacue con la disolución de lavado y por consiguiente ya no esté disponible para la tinción de la membrana. Si la viscosidad dinámica a 25°C y una velocidad de cizallamiento de  $10 \text{ s}^{-1}$  se encuentra por encima de 500 mPas, entonces la viscosidad de la preparación es tan alta que el colorante no puede liberarse de manera óptima de las gotitas que se forman. La capacidad de la preparación de colorante para dispersarse, lo que provoca una tinción rápida y homogénea de la membrana, se reduce de este modo considerablemente. La membrana no se humecta de manera óptima con la preparación de colorante y con ello tampoco se tiñe de una manera tan considerable. Se consigue un resultado de tinción especialmente bueno, cuando la viscosidad dinámica a 25°C y una velocidad de cizallamiento de  $10 \text{ s}^{-1}$  se encuentra en un intervalo de desde 50 hasta 275 mPas.

Se encontró que en el caso de administrar disoluciones de colorante en el ojo pueden aparecer problemas. Cuando la disolución de colorante se administra con las jeringuillas usadas habitualmente, la presión, que se consigue durante la inyección, se vuelve demasiado elevada, de modo que el colorante puede llegar detrás de la retina.

El problema se soluciona según la invención, usando jeringuillas en las que el diámetro de cánula, la relación de diámetro de cilindro con respecto a diámetro de cánula y la relación de aspecto estén adaptados de tal manera que se eviten daños. Según la invención se usan preferiblemente jeringuillas, en las que el diámetro de cánula es muy pequeño, para mantener el daño en el ojo lo más reducido posible. Además, el diámetro de cilindro se adapta al diámetro de cánula de tal manera que la aparición de un efecto Venturi se evite en su mayor parte. Dicho de otro modo, en la jeringuilla prevista para la administración el diámetro del cilindro también debe ser lo más pequeño posible, de modo que la relación de diámetro de cilindro con respecto a diámetro de cánula se encuentre en el intervalo de 10 a 2 con respecto a de 1 a 0,2, preferiblemente de 20 con respecto a 1 a 4 con respecto a 1, de manera especialmente preferible de 16 con respecto a 1 a 8 con respecto a 1. Además los cilindros de jeringuilla deben tener una relación de aspecto, es decir una relación de longitud de cilindro con respecto a diámetro de cilindro, en un intervalo de 15 a 5 con respecto a 1.

Por tanto, un objeto adicional de la invención es un kit, que comprende una jeringuilla con cilindro y cánula que contiene una preparación de colorante según la invención para la tinción selectiva de la membrana limitante interna y/o de membranas epirretinianas en el ojo humano o animal, encontrándose la relación de diámetro de cilindro con respecto a diámetro de cánula en el intervalo de 10 - 2 con respecto a 1 - 0,2, preferiblemente de 20:1 a 4:1, de manera especialmente preferible de 16:1 a 8:1. Preferiblemente la relación de longitud de cilindro con respecto a diámetro de cilindro está en un intervalo de 15 a 5 con respecto a 1. Por consiguiente, como componente esencial según la invención, el kit presenta una jeringuilla, cuyo diámetro de cilindro está adaptado al diámetro de la cánula. Se encontró que en el caso de una relación menor de los diámetros en el espacio interno de la cánula no puede crearse ninguna presión, de modo que se garantiza una aplicación uniforme, es decir una aplicación con presión uniforme y velocidad constante de la preparación según la invención. El kit una preparación de colorante según la invención tal como se describió anteriormente.

Para el kit, o su jeringuilla, se usa preferiblemente una cánula con un calibre de 19 a 27, de manera especialmente preferible un calibre de 23 ó 25. Las cánulas con un calibre de 19 a 27 son adecuadas para inyecciones en el ojo. Su abertura de salida es tan pequeña que no produce ningún daño significativo en el sitio de inyección, sin embargo suficientemente grande para aplicar la preparación según la invención en el ojo con una velocidad suficiente. Cuando el diámetro del cilindro de la jeringuilla está adaptado de manera correspondiente, se evita que en el interior de la jeringuilla o de la cánula se cree una presión, que durante la inyección introduzca la preparación con una presión demasiado intensa en el ojo, de modo que la preparación se distribuya más allá del sitio de aplicación, por ejemplo detrás de la retina. Han demostrado ser especialmente buenas con respecto a la aplicación deseada, las cánulas con un calibre de 20, 23, 25 ó 27, en particular aquéllas con un calibre de 23 ó 25. En una forma de realización preferida se utiliza una cánula de este tipo junto con una jeringuilla con un diámetro de cilindro de desde 3 hasta 10 mm. Se prefieren especialmente cánulas con un calibre de 23 ó 25, cuando la viscosidad dinámica de la preparación a 25°C y una velocidad de cizallamiento de  $10^{-1}$  se encuentra en un intervalo de desde 1 hasta 500 mPas. Precisamente entonces la interacción entre la cánula y la preparación es tan buena que puede hacerse descender a una velocidad suficientemente rápida de manera uniforme una cantidad suficientemente grande de la preparación según la invención en el sitio de aplicación, sin que se produzca una salida explosiva de la preparación desde la cánula por la creación de presión. Por consiguiente se evita que la preparación se inyecte detrás del sitio de aplicación deseado, con lo que puede conseguirse una tinción óptima de la membrana.

5 La preparaciones según la invención descritas anteriormente y las jeringuillas proporcionadas para su administración permiten teñir membranas (MLI y/O MER) en el ojo de manera dirigida. Según el colorante utilizado es posible o bien teñir sólo un tipo de membrana, es decir sólo MLI o sólo MER, o bien teñir ambos tipos. En una forma de realización, la preparación según la invención puede usarse para provocar una tinción negativa de las membranas epirretinianas, para poder retirarlas entonces. En esta forma de realización se utiliza una disolución del colorante azul brillante G, que tiñe de manera selectiva la MLI, pero no las MER. De esta manera puede diferenciarse la membrana no teñida (MER) de la membrana teñida (MLI) y por tanto puede retirarse bien.

La invención se explica adicionalmente mediante los siguientes ejemplos, que describen disoluciones de colorante con densidad aumentada y su producción, sin limitarse a los mismos.

10 **Ejemplo 1**

Se pesan de manera exacta 0,025 g de azul brillante G, 5 g de sacarosa, 0,19 g de hidrogenofosfato de disodio, 0,03 g de dihidrogenofosfato de sodio y 0,82 g de cloruro de sodio y se completa con agua destilada hasta 100 g. Se tratan los materiales de partida en un frasco de cristal durante 1 h a como máximo 60°C, generándose una disolución homogénea con una concentración de colorante de 0,25 g/l y una densidad de 1,023 g/cm<sup>3</sup>.

15 **Ejemplo 2**

Se pesan de manera exacta 0,025 g de azul brillante G, 5 g de trehalosa, 0,19 g de hidrogenofosfato de disodio, 0,03 g de dihidrogenofosfato de sodio y 0,82 g de cloruro de sodio y se completa con agua destilada hasta 100 g. Se tratan los materiales de partida en un frasco de cristal durante 1 h a como máximo 60°C, generándose una disolución homogénea con una concentración de colorante de 0,25 g/l y una densidad de 1,023 g/cm<sup>3</sup>.

20 **Ejemplo 3**

25 Se pesan de manera exacta 0,025 g de azul brillante G, 0,19 g de hidrogenofosfato de disodio, 0,03 g de dihidrogenofosfato de sodio y 0,82 g de cloruro de sodio y se completa con una mezcla de agua destilada y D<sub>2</sub>O hasta 100 g. Se tratan los materiales de partida en un frasco de cristal durante 1 h a como máximo 60°C, generándose una disolución homogénea con una concentración de colorante de 0,25 g/l, una densidad de 1,018 g/cm<sup>3</sup>.

**Ejemplo 4**

Colorante+glicerina

30 Se pesan de manera exacta 0,025 g de azul brillante G, 0,19 g de hidrogenofosfato de disodio, 0,03 g de dihidrogenofosfato de sodio y 0,82 g de cloruro de sodio y se completa con una mezcla de agua destilada y glicerina al 10%. Se tratan los materiales de partida en un frasco de cristal durante 1 h a como máximo 60°C, generándose una disolución homogénea con una concentración de colorante de 0,25 g/l, una densidad de 1,027 g/cm<sup>3</sup>.

**Ejemplo 5**

Con el procedimiento descrito en los ejemplos 1 a 4 se produjo una disolución de colorante con la siguiente composición

35

<u>Sustancia</u>	<u>Pesaje teórico en g</u>	<u>Pesaje real en g</u>
Polivinilpirrolidona	6	6,0067
Azul brillante G	0,0125	0,0125
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> *2H <sub>2</sub> O	0,095	0,0950
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> *2H <sub>2</sub> O	0,015	0,0159
NaCl	0,41	0,4100
Agua	hasta 50 g	hasta 50 g

Se obtuvo una disolución homogénea con una densidad de 1,028 g/cm<sup>3</sup> y una viscosidad de 7,38 mPas.

**Ejemplo 6**

Con el procedimiento descrito en los ejemplos 1 a 4 se produjo una disolución de colorante con la siguiente

composición

<u>Sustancia</u>	<u>Pesaje teórico en g</u>	<u>Pesaje real en g</u>
Metilcelulosa E 10 M (2% en peso)	25	24,9986
Azul brillante G	0,0125	0,0125
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> *2H <sub>2</sub> O	0,095	0,0956
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> *2H <sub>2</sub> O	0,015	0,0151
NaCl	0,41	0,4099
Agua	hasta 50 g	hasta 50 g

Se obtuvo una disolución homogénea con una densidad de 1,007 g/cm<sup>3</sup> y una viscosidad de 142,79 mPas.

- 5 Las disoluciones de colorante producidas en los ejemplos 1 a 6 se usaron para la tinción de la membrana limitante interna en el ojo humano o animal. Se encontró que las seis disoluciones podían aplicarse muy bien y tras la aplicación descendían inmediatamente y teñían la MLI. La tinción era, con la misma cantidad de colorante, aún más intensa que con una disolución de azul brillante G aplicada en comparación, tal como se conoce por el documento DE 10255601.

10

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Preparación biocompatible en base agua para la tinción selectiva de la membrana limitante interna (MLI) y/o de membranas epirretinianas (MER) en el ojo humano o animal, que contiene al menos azul brillante G como colorante, presentando la preparación una densidad en el intervalo de desde 1,01 g/cm<sup>3</sup> hasta 1,5 g/cm<sup>3</sup>.
2. Preparación según la reivindicación 1, que contiene además un colorante seleccionado de los grupos compuestos por colorantes azoicos, colorantes de cianina y/o colorantes naturales o sus mezclas.
3. Preparación según la reivindicación 1 ó 2, presentando la preparación una densidad en el intervalo de desde 1,01 g/cm<sup>3</sup> hasta 1,3 g/cm<sup>3</sup>.
- 10 4. Preparación según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada porque la concentración del azul brillante G en la preparación acabada asciende a hasta 0,3 g/l, preferiblemente 0,25 g/l.
5. Preparación según una de las reivindicaciones anteriores para su uso como colorante para una representación negativa de membranas epirretinianas.
- 15 6. Preparación según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque como agente de ajuste de la densidad de la preparación contiene agua pesada, un polímero seleccionado de poliéter, poli(alcohol vinílico), poliéster, copolímero de poli(ácido acrílico), polivinilpirrolidona, un polisacárido, seleccionado de hidroxietilalmidón o dextrano, o mezclas de los mismos.
7. Preparación según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada porque como agente de ajuste de la densidad de la preparación contiene un poliéter.
- 20 8. Preparación según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque contiene además al menos un agente de ajuste de la viscosidad, seleccionado de: poliéter, poli(alcohol vinílico), poliéster, copolímero de poli(ácido acrílico), polivinilpirrolidona, y otros polímeros, alcoholes polivalentes tales como glicerina, etilenglicol, propilenglicol, butilenglicol, celulosa, goma xantana, almidón, ácido hialurónico y sus respectivos derivados, sulfato de condroitina y sulfato de sodio.
- 25 9. Preparación según una de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizada porque la preparación presenta a 25°C y una velocidad de cizallamiento de 10 s<sup>-1</sup> una viscosidad dinámica en el intervalo de desde 1 hasta 500 mPas, preferiblemente en un intervalo de desde 50 hasta 275 mPas.
10. Preparación según la reivindicación 1 a 9 caracterizada porque la osmolaridad de las disoluciones producidas se encuentra en el intervalo de 280-330 mosmol/l, preferiblemente 300 mosmol/l.
- 30 11. Kit que comprende una jeringuilla con cilindro y cánula y una preparación en base agua según una de las reivindicaciones 1 a 10 para la tinción selectiva de la membrana limitante interna (MLI) y/o de membranas epirretinianas (MER) en el ojo humano o animal, ascendiendo la relación de diámetro de cilindro con respecto a diámetro de cánula a de 10 a 2 con respecto a de 1 a 0,2, preferiblemente de 20 con respecto a 1 a 4 con respecto a 1.
- 35 12. Kit según la reivindicación 11, caracterizado porque la relación de longitud de cilindro con respecto a diámetro de cilindro se encuentra en un intervalo de 15 a 5 con respecto a 1.
13. Kit según la reivindicación 11 ó 12, caracterizado porque la jeringuilla presenta una cánula con un calibre de 19 a 27, preferiblemente un calibre de 23 ó 25.
14. Kit según la reivindicación 13, caracterizado porque la jeringuilla tiene un diámetro de cilindro de 3 a 10 mm.
- 40 15. Preparación según una de las reivindicaciones 1 a 10 o kit según una de las reivindicaciones 11 a 14 para su uso en una intervención quirúrgica en el ojo, que comprende la tinción selectiva de la membrana limitante interna (MLI) y/o de membranas epirretinianas (MER) en el ojo humano o animal.