

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 544 962**

51 Int. Cl.:

A61L 24/10 (2006.01)

A61L 31/04 (2006.01)

A61L 24/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.12.2008** **E 08856256 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.07.2015** **EP 2219555**

54 Título: **Composiciones proteicas biocompatibles de fase invertible**

30 Prioridad:

03.12.2007 US 991867 P

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

07.09.2015

73 Titular/es:

TENAXIS MEDICAL, INC. (100.0%)
835 MAUDE AVENUE
MOUNTAIN VIEW, CA 94043, US

72 Inventor/es:

DIECK, RONALD;
HANDLEY, IAN J.;
WINTERBOTTOM, NEIL y
WANG, JOANNA

74 Agente/Representante:

PONTI SALES, Adelaida

ES 2 544 962 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

Composiciones proteicas biocompatibles de fase invertible

5 INTRODUCCIÓN

[0001] Un número de composiciones sellantes han pasado a estar disponibles para controlar la fuga de fluido en un lugar quirúrgico, así como para otras aplicaciones. Sin embargo, las composiciones sellantes actualmente disponibles pueden sufrir serias limitaciones con respecto al campo en el que se pueden usar, así como su biocompatibilidad y sus propiedades físicas. Efectos secundarios, como la inflamación, la formación fibrosa aguda en el lugar de la herida, la toxicidad, la incapacidad de usarse en un campo ensangrentado, las malas propiedades físicas del sellante, y la mala adhesión al lugar quirúrgico, pueden tener un serio impacto en el paciente y como resultado pueden jugar un papel significativo en la eficacia a largo plazo de la reparación. Asimismo, los sellantes útiles tienen propiedades que pueden hacerles más efectivos para la aplicación quirúrgica. Características, como la capacidad de estar localizado en una ubicación específica, los tiempos de polimerización adecuadamente largos o cortos, y las características de resorción in vivo adecuadas, son vitales para una finalización exitosa del procedimiento de sellado.

[0002] La patente FR-2-754-268 da a conocer una composición adhesiva biocompatible que comprende colágeno o gelatina disuelta y al menos un polialdehído macromolecular biodegradable. Robert y col., "Chemistry for peptide and rotein PEGylation", ADVANCED DRUG DELIVERY REVIEWS vol. 54, núm. 4, 2002 proporciona una revisión de las químicas de PEGilación de primera y segunda generación.

[0003] Así pues, hay una necesidad continuada del desarrollo de nuevas composiciones biocompatibles para el uso como sellantes, así como del uso en otras aplicaciones.

RESUMEN

[0004] Se proporcionan composiciones proteicas biocompatibles de fase invertible y procedimientos para hacer y usar las mismas. Las composiciones de fase invertible de acuerdo con aspectos de la invención se preparan combinando un sustrato proteico líquido y un componente de reticulación líquido, donde el componente de reticulación líquido incluye un agente de reticulación macromolecular; y en las que dicho agente de reticulación macromolecular es un producto reactivo de un exceso de un agente de reticulación y un polímero fisiológicamente aceptable seleccionado de un glicosoaminoglicano; y en las que la composición experimenta una transición de fase de un primer estado líquido a un segundo estado sólido.

El agente de reticulación macromolecular se produce combinando un exceso de un agente de reticulación, por ejemplo, un aldehído tratado térmicamente, con una cantidad de un polímero fisiológicamente aceptable, como un glicosoaminoglicano. El exceso de agente de reticulación y el polímero fisiológicamente aceptable reaccionan para producir un agente de reticulación macromolecular. Al combinarse el agente de reticulación macromolecular con el sustrato proteico, el agente de reticulación macromolecular reacciona con las proteínas en el componente del sustrato para producir una composición final caracterizada por la presencia de una red interpenetrante.

[0005] También se proporcionan equipos para el uso en la preparación de las composiciones en cuestión. Las composiciones en cuestión, los equipos y los sistemas encuentran uso en una variedad de aplicaciones diferentes.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA FIGURA

[0006] La FIG. 1 proporciona una tabla de resultados observados con diferentes composiciones sellantes, como se describe en la Sección experimental, más adelante.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0007] Se proporcionan composiciones proteicas biocompatibles de fase invertible y procedimientos para hacer y usar las mismas. Las composiciones de fase invertible en cuestión se preparan combinando un sustrato proteico líquido y una composición de reticulación líquida, donde la composición de reticulación líquida incluye un agente de reticulación macromolecular; y en las que dicho agente de reticulación macromolecular es un producto reactivo de un exceso de un agente de reticulación y un polímero fisiológicamente aceptable seleccionado de un glicosoaminoglicano; y en las que la composición experimenta una transición de fase de un primer estado líquido a un segundo estado sólido.

[0008] También se proporcionan equipos para el uso en la preparación de las composiciones en cuestión. Las composiciones en cuestión, los equipos y los sistemas encuentran uso en una variedad de aplicaciones diferentes.

- 5 **[0009]** Antes de que la presente invención se describa en mayor detalle, se debe entender que esta invención no está limitada a formas de realización particulares descritas, así pues puede, por supuesto, variar. También se debe entender que la terminología usada en este documento sólo tiene el fin de describir formas de realización particulares, y no está destinada a ser limitadora, ya que el ámbito de la presente invención estará limitado sólo por las reivindicaciones anexas.
- 10 Donde se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, hasta la décima parte de la unidad del límite inferior a menos que el contexto claramente dicte lo contrario, terminología como "únicamente", "sólo" y similares en conexión con la mención de los elementos de las reivindicaciones, o el uso de una limitación "negativa".

- 15 **[0010]** Como será evidente para los expertos en la materia al leer esta divulgación, cada una de las formas de realización individuales descritas e ilustradas en este documento tienen componentes separados y características que se pueden separar fácilmente de o combinar con las características de cualquiera de las otras diversas formas de realización sin desviarse del ámbito de la presente invención. Cualquier procedimiento mencionado se puede llevar a cabo en el orden de eventos mencionados o en cualquier otro orden que sea lógicamente posible.

20

[0011] Al describirse aún más la invención en cuestión, las composiciones de fase invertible de acuerdo con la invención se describen primero en mayor detalle, seguido de una revisión de aplicaciones en las que las composiciones encuentran uso, así como una revisión de los equipos y los sistemas que encuentran uso al hacerse o usarse las composiciones de fase invertible en cuestión.

25

COMPOSICIÓN PROTEICA BIOCOMPATIBLE DE FASE INVERTIBLE

- [0012]** Como se resume anteriormente, la invención en cuestión proporciona una composición proteica biocompatible de fase invertible. La composición, con el paso del tiempo, experimenta una inversión de fase de un primer estado líquido a un segundo estado sólido. En el primer estado líquido, la composición de fase invertible tiene una viscosidad suficiente de tal manera que se le puede hacer que fluya a través de una cánula médica o rociar sobre un lugar de tejido objetivo. Las composiciones de fase invertible están caracterizadas por ser capaces de unir tejido en entornos tanto mojados (por ejemplo, sangre) como secos, donde la adhesión de la composición al tejido es excepcionalmente fuerte. Un aspecto de las composiciones es que, una vez que se aplican a una ubicación de tejido objetivo, permanecen en la ubicación de tejido objetivo. Un aspecto adicional de las composiciones en cuestión es que son bien toleradas por el cuerpo y no provocan una respuesta inflamatoria sustancial, si es que la hay.

- [0013]** Las composiciones proteicas de fase invertible en cuestión se preparan combinando o mezclando un sustrato proteico líquido con una composición de reticulación líquida como se da a conocer en la reivindicación 1.

- [0014]** Cada uno de estos componentes o composiciones precursoras se revisa ahora por separado en mayor detalle.

45 *Composición de agente reticulante*

- [0015]** Como se indica anteriormente, la composición de fase invertible se produce combinando un sustrato proteico líquido, como se describe anteriormente, con una composición de agente reticulante líquida que incluye un agente de reticulación macromolecular. Mientras que la viscosidad del componente de reticulación puede variar, en ciertas formas de realización se aproxima a la viscosidad del componente proteico, expresada en centistokes (cSt) a 25°C aproximadamente, oscilando entre 10 cSt y 150 cSt, como de 30 cSt a 70 cSt. El componente de reticulación se puede esterilizar de acuerdo con cualquier protocolo conveniente, donde los protocolos de esterilización de interés incluyen, pero no están limitados a: gamma, rayo de electrones, y similares. El componente de reticulación líquido es estable durante el almacenamiento. Por estable durante el almacenamiento se quiere decir que el sustrato se puede mantener bajo condiciones de almacenamiento, como a temperatura ambiente durante un periodo de tiempo de al menos 1 año o más, como 3 años o más, sin que experimente ningún cambio sustancial que impacte negativamente en la función del sustrato de tal manera que ya no sea adecuado para el uso en la preparación de una composición biocompatible de fase invertible de la invención.

[0016] El componente de reticulación se produce combinando un exceso de un agente de reticulación con una cantidad de un polímero fisiológicamente aceptable. Ejemplos de agentes de reticulación incluyen, pero no están limitados a: moléculas foto-oxidativas; carbodiimidias; compuestos que contienen carbonilo, por ejemplo, mono- y dicarbonilos, incluyendo ácidos carboxílicos, por ejemplo, ácidos dicarboxílicos, como ácido adípico, ácido glutárico y similares, y aldehídos, incluyendo mono- y dialdehídos, por ejemplo glutaraldehído; etc. En ciertas formas de realización, el agente reticulante empleado es un agente reticulante aldehído. En ciertas de estas formas de realización, el agente reticulante aldehído es pretratado para producir un agente reticulante aldehído estabilizado, por ejemplo, un agente reticulante glutaraldehído estabilizado, por ejemplo, donde el agente reticulante es aldehído estabilizado térmicamente, como glutaraldehído estabilizado térmicamente (como se describe en la Patente estadounidense núm. 7.303.757).

[0017] Mientras que la cantidad de agente de reticulación en la composición puede variar, en ciertas formas de realización la cantidad de agente de reticulación oscila entre el 0,1 y el 20% (v/v), como del 0,5 al 15% (v/v) e incluyendo del 1 al 10% (v/v).

[0018] Además del agente de reticulación, la composición de reticulación incluye además una cantidad de un polímero fisiológicamente aceptable. El polímero fisiológicamente aceptable puede ser cualquier polímero que sea tolerado por el cuerpo y reaccione con el agente de reticulación para producir un producto de reticulación macromolecular prepolimérico. El producto prepolimérico es un producto reactivo entre el agente de reticulación y el polímero, e incluye un esqueleto polimérico con una o más moléculas de reticulación unidas de forma covalente al mismo de tal manera que el esqueleto polimérico incluye uno o más grupos funcionales de reticulación, donde los grupos funcionales de reticulación incluyen al menos una mitad reactiva, por ejemplo, una mitad de aldehído, que se puede unir de forma covalente al componente de proteínas del sustrato proteico. Así pues, el producto prepolimérico conserva la capacidad de reticularse al entrar en contacto con el sustrato proteico. El producto prepolimérico de ciertas formas de realización es una macromolécula soluble que comprende una molécula del esqueleto polimérico unida a moléculas del agente de reticulación, donde al menos una porción de las moléculas del agente de reticulación unidas conservan una mitad de reticulación libre que puede unir proteínas en el sustrato proteico. Este agente de reticulación "macromolecular" del producto prepolimérico puede variar de peso molecular medio, y en ciertas formas de realización puede oscilar en peso entre 10.000 y 4 millones de Daltons, como de 500.000 a 2 millones de Daltons.

[0019] En ciertas formas de realización, el polímero fisiológicamente aceptable es un glicosoaminoglicano (es decir, un mucopolisacárido). Glicosoaminoglicanos específicos de interés incluyen, pero no están limitados a: sulfato de condroitina; sulfato de dermatán; sulfato de queratán; heparina; sulfato de heparán; e hialuronano (es decir, ácido hialurónico). En ciertas formas de realización, el componente de glicosoaminoglicano es hialuronano.

[0020] El agente de reticulación está presente en la composición de reticulación en exceso con respecto a la cantidad de polímero fisiológicamente aceptable. En ciertas formas de realización, la cantidad de polímero fisiológicamente aceptable constituye hasta del 0,01 al 5% (w/v), como del 0,05 al 3% (w/v) incluyendo del 0,1 al 1% (w/v) de la composición de reticulación.

[0021] En ciertas formas de realización, la composición de agente reticulante puede incluir además una cantidad de un agente modificador de la viscosidad. Agentes modificadores de la viscosidad de interés incluyen, pero no están limitados a: polímeros de polioxietileno o de polioxipropileno o copolímeros de los mismos, como polietilenglicol y polipropilenglicol; éteres de celulosa no iónicos como metilcelulosa, etilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa, carboxietilcelulosa e hidroxipropilcelulosa; celulosas adicionales, como carboximetilcelulosa sódica, carboximetilcelulosa cálcica, carboximetilalmidón; y similares. En ciertas formas de realización de particular interés, el agente emulsionante es un éter de celulosa, particularmente un éter de celulosa no iónico, como carboximetilcelulosa. La carboximetilcelulosa está disponible en una variedad de fuentes comerciales, incluyendo pero no estando limitadas a Sigma, Hercules, Fluka y Noviant. En ciertas formas de realización, el peso molecular medio del éter de celulosa es de al menos 1000 Daltons aproximadamente, como de al menos 5000 Daltons aproximadamente, donde el peso molecular medio puede ser tan elevado como de 10.000 Daltons o mayor, por ejemplo, de 50.000 Daltons o mayor, de 100.000 Daltons o mayor, y oscila en ciertas formas de realización entre aproximadamente 5.000 y aproximadamente 100.000 Daltons, como de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 50.000 Daltons. La proporción del agente modificador de la viscosidad en el sellante en ciertas formas de realización oscila entre el 0,01 y el 10% (v/v), como del 0,1 al 4% (v/v) incluyendo del 0,5 al 2% (v/v).

Sustrato proteico

[0022] El sustrato proteico líquido a partir del cual se preparan las composiciones de fase invertible en cuestión es una composición líquida, por ejemplo, una composición acuosa, que está compuesta de al menos un componente proteico y, en ciertas formas de realización, un modificador de adhesión, donde el sustrato puede incluir uno o más componentes adicionales, incluyendo, pero no estando limitado a: un plastificante; un carbohidrato; y similares.

5

[0023] El sustrato se puede esterilizar de acuerdo con cualquier protocolo conveniente, donde los protocolos de esterilización de interés incluyen, pero no están limitados a: radiación gamma, rayo de electrones y similares.

[0024] El sustrato proteico líquido es estable durante el almacenamiento. Por estable durante el almacenamiento se quiere decir que el sustrato se puede mantener bajo condiciones de almacenamiento, como a temperatura ambiente durante un periodo de tiempo de al menos 1 año o más, como 3 años o más, sin que experimente ningún cambio sustancial que impacte negativamente en la función del sustrato de tal manera que ya no sea adecuado para el uso en la preparación de una composición biocompatible de fase invertible de la invención.

15 Componente proteico

[0025] El componente proteico (es decir, material proteico) del sustrato está compuesto de una o más proteínas distintas. Las proteínas de este componente pueden ser proteínas sintéticas o bien que se produzcan de forma natural, donde las proteínas se pueden obtener/preparar usando cualquier protocolo conveniente, por ejemplo, purificación a partir de fuentes que se produzcan de forma natural, producción recombinante, producción sintética, y similares, donde en ciertas formas de realización las proteínas se obtienen a partir de fuentes que se produzcan de forma natural, por ejemplo, bovina, porcina o humana. Proteínas específicas de interés incluyen, pero no están limitadas a: albúminas, colágenos, elastinas, fibrinas, y similares.

[0026] La cantidad de proteína en la composición de sustrato puede variar, donde la selección de concentración específica depende de la aplicación deseada y de los parámetros del producto deseados por lo tanto, como las características de tenacidad, dureza, elasticidad, resorción y los efectos de la agregación plaquetaria. En ciertas formas de realización, la concentración total de proteínas totales en las composiciones de sustrato oscila entre el 1 y el 75% (w/w) aproximadamente, como del 1-50% (w/w), incluyendo del 5 al 40% (w/w).

30

[0027] En ciertas formas de realización, la proteína primaria de la composición de sustrato de esta forma de realización es albúmina, donde la albúmina puede ser una albúmina que se produzca de forma natural, por ejemplo, albúmina humana, albúmina bovina, albúmina porcina etc., o una variante de las mismas. Como se conoce en la técnica, la albúmina se puede comprar en polvo y después disolver en una suspensión acuosa, o de forma alternativa, se puede comprar en forma acuosa. La albúmina purificada se puede derivar de una cualquiera de un número de fuentes diferentes incluyendo, bovina, ovina, equina, humana, o aviar de acuerdo con procedimientos bien conocidos (ref.: Cohn y col, J. Amer. Chem. Soc. 69:1753) o se puede comprar en forma purificada de un proveedor, como Aldrich Chemical (St. Louis, Missouri), en forma liofilizada o acuosa. La albúmina se puede derivatizar para que actúe como un portador para fármacos, como sulfato de heparina, factores de crecimiento, antibióticos, o se puede modificar en un esfuerzo por moderar la viscosidad, o la hidrofilia. La derivatización usando agentes acetilantes, como, pero no estando limitado a, anhídrido succínico, y cloruros de laurilo, son útiles para la producción de lugares de unión para la adición de moléculas útiles. En estas formas de realización donde el componente proteico incluye albúmina, la albúmina puede estar presente en concentraciones que oscilen entre aproximadamente el 10 y aproximadamente el 50% (w/w), como de aproximadamente el 30 a aproximadamente el 45 40% (w/w).

[0028] En ciertas formas de realización, el componente proteico también incluye un colágeno, por ejemplo, un colágeno que se produzca de forma natural (humano, bovino, porcino) o una variante sintética del mismo. De acuerdo con la invención, el colágeno puede ser en las formas seca o acuosa cuando se mezcla con la albúmina. El colágeno se puede derivatizar para aumentar su utilidad. Se ha comprobado que agentes acetilantes, como anhídridos o cloruros ácidos, producen lugares útiles para la unión de moléculas como factores de crecimiento, y antibióticos. Cuando está presente, el colágeno a veces oscila entre aproximadamente el 1 y aproximadamente el 20% (w/w), incluyendo de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 10% (w/w), como de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 4% (w/w), incluyendo del 2 al 4% (w/w) aproximadamente.

55

[0029] El componente proteico en cuestión, como se describe anteriormente, puede o no incluir uno o más agentes activos, por ejemplo, fármacos, presentes en él, como se desee. Cuando está presente, el/los agente/s se puede/n unir a los polímeros, como se desee.

Agente adherente

[0030] También presente puede haber uno o más agentes adherentes. Los agentes adherentes mejoran la adherencia del sellante a la superficie biológica. En muchas formas de realización, los modificadores de adhesión son compuestos poliméricos que tienen funciones cargadas, por ejemplo, aminas, etc. Mientras que se pueden usar numerosos agentes adherentes, uno de particular aplicabilidad es polietilenimina (PEI). PEI es un polímero de alquilo ramificado, de larga cadena que contiene aminas primarias, secundarias y terciarias. La presencia de estos grupos altamente iónicos da como resultado un acoplamiento significativo a través de interacciones iónicas con la superficie subyacente. Además, la presencia de PEI en el sustrato aumenta significativamente la presencia de aminos terminales adecuados para producir reticulados con el agente de reticulación. Agentes adherentes adicionales de interés incluyen, pero no están limitados a: gelatina, carboximetilcelulosa, butilhidroxitolueno, quitosano, etc.

[0031] En ciertas formas de realización de la invención, se usan agentes adherentes para modificar la adhesión al sustrato biológico mientras que simultáneamente se crea un procoagulante. En ciertas formas de realización, los agentes adherentes están presentes en concentraciones de desde aproximadamente el 0,1 hasta aproximadamente el 10% (w/w), como desde aproximadamente el 0,1 hasta aproximadamente el 4% (w/w).

Componentes opcionales

[0032] El componente del sustrato descrito anteriormente de las composiciones en cuestión puede, en ciertas formas de realización, incluir uno o más componentes opcionales que modifiquen las propiedades de la composición de fase invertible producida a partir del sustrato y el agente reticulante. Componentes opcionales representativos de interés se analizan ahora en mayor detalle a continuación.

Agentes plastificantes

[0033] De acuerdo con la invención, un agente plastificante puede estar presente en el sustrato. El agente plastificante proporciona un número de funciones, incluyendo el humedecimiento de una superficie, o de forma alternativa, aumentar el módulo elástico del material, o más aún, ayudar en la mezcla y aplicación del material. Existen numerosos agentes plastificantes, incluyendo ácidos grasos, por ejemplo, ácido oleico, ácido palmítico, etc., ftalato de dioctilo, fosfolípidos, y ácido fosfatídico. Puesto que los plastificantes son habitualmente sustancias orgánicas no solubles en agua y no fácilmente miscibles con agua, a veces es ventajoso modificar su miscibilidad con agua, mezclando previamente el plastificante apropiado con un alcohol para reducir la tensión superficial asociada con la solución. Para este fin, se puede usar cualquier alcohol. En una forma de realización representativa de esta invención, se mezcla ácido oleico con etanol para formar una solución al 50% (w/w) y esta solución se usa entonces para plastificar el sustrato proteico durante el proceso de formulación. Mientras que el tipo y la concentración del agente plastificante dependen de la aplicación, en ciertas formas de realización la concentración final del agente plastificante es de aproximadamente el ,01 al 10% (w/w), incluyendo de aproximadamente el 2 a aproximadamente el 4% (w/w). Otros agentes plastificantes de interés incluyen, pero no se limitan a: polietilenglicol, glicerina, butilhidroxitolueno, etc.

Carbohidrato procoagulante

[0034] En ciertas formas de realización, los sustratos incluyen un carbohidrato procoagulante. El quitosano y los derivados del quitosano son potentes coaguladores de sangre y, por lo tanto, son beneficiosos en la formulación de materiales sellantes capaces de sellar lesiones vasculares. Mientras que se ha demostrado que prácticamente todos los materiales de quitina tienen cierta actividad procoagulante, de acuerdo con la invención, el uso de quitina acetilada se emplea como un aditivo para la formulación de sellante destinado al control sanguíneo. La acetilación de la molécula se puede conseguir en un número de modos diferentes, pero un procedimiento común es el tratamiento de mezclas de quitosano / ácido acético con anhídridos de ácido, como succínico. Esta reacción se lleva a cabo fácilmente a temperatura ambiente. De acuerdo con la invención, los geles creados de esta manera combinados con sustratos proteicos y reticulados in situ son beneficiosos para la creación de un miembro estructural biocompuesto. Así pues, el carbohidrato procoagulante puede ser quitosano, quitosano de bajo peso molecular, quitina, oligosacáridos de quitosano, y derivados de quitosano de los mismos. De acuerdo con las enseñanzas de esta invención el componente de carbohidrato, por ejemplo, quitosano, puede estar presente en concentraciones que oscilen entre aproximadamente el 0 y aproximadamente el 20%, como de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 5% (w/w).

Rellenos

[0035] Rellenos de interés incluyen rellenos tanto reforzantes como no reforzantes. Se pueden incluir rellenos reforzantes, como seda fibrosa picada, poliéster, PTFE, NAILON, fibras de carbono, polipropileno, poliuretano, vidrio, etc. Las fibras se pueden modificar, por ejemplo, como se describe anteriormente para los otros componentes, como se desee, por ejemplo, para aumentar la humectabilidad, la miscibilidad, etc. Los rellenos reforzantes pueden estar presentes del 0 al 40% aproximadamente, como de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 30%. También se pueden incluir rellenos no reforzantes, por ejemplo, arcilla, mica, hidroxiapatita, sulfato de calcio, astillas óseas, etc. Donde se desee, estos rellenos también se pueden modificar, por ejemplo, como se describe anteriormente. Los rellenos no reforzantes pueden estar presentes del 0 al 40% aproximadamente, como de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 30%.

Agentes biológicamente activos

[0036] Se pueden incluir agentes biológicamente activos, por ejemplo, factores de crecimiento óseo, activadores tisulares, activadores de crecimiento de cartílago, agentes activos de moléculas pequeñas, etc. De ese modo, los agentes biológicamente activos pueden incluir, péptidos, polipéptidos, proteínas, sacáridos, polisacáridos y carbohidratos, ácidos nucleicos, y materiales orgánicos e inorgánicos de moléculas pequeñas. Agentes biológicamente activos específicos incluyen antibióticos, antivirales, antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos, antineoplásicos, antiespasmódicos incluyendo bloqueadores de los canales, moduladores de interacciones de las células con la matriz extracelular incluyendo inhibidores de crecimiento celular y moléculas anti-adhesión, encimas e inhibidores de encimas, anticoagulantes, factores de crecimiento, ADN, ARN e inhibidores de síntesis de proteínas, agentes contra la migración celular, vasodilatadores, y otros fármacos usados para el tratamiento de lesión en el tejido. Ejemplos de estos compuestos incluyen inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, agentes antitrombóticos, prostaciclina, heparina, salicilatos, agentes trombocíticos, agentes antiproliferativos, nitratos, fármacos bloqueadores de los canales de calcio, estreptoquinasa, uroquinasa, activador tisular del plasminógeno (TPA) y activador del plasminógeno acilado (PA) y complejo activador estreptoquinasa-plasminógeno acilado (APSAC), colchicina, y agentes alquilantes, factores moduladores de crecimiento como interleucinas, factor de crecimiento de transformación P y congéneres de factor de crecimiento derivado de las plaquetas, anticuerpos monoclonales dirigidos contra factores de crecimiento, componentes de la matriz extracelular modificados o sus receptores, secuestrantes de lípidos y colesterol y otros agentes que puedan modular el tono vascular, la función, la arteriosclerosis, y la respuesta cicatrizante para la lesión del vaso o del órgano después de la intervención.

Agente espumante

[0037] En ciertas formas de realización, el sustrato puede incluir un agente espumante que, al combinarse con la composición de agente reticulante, dé como resultado una composición espumada, por ejemplo, una composición que incluya burbujas de aire gaseosas intercaladas por todas partes. Puede estar presente cualquier agente espumante conveniente, donde el agente espumante puede ser un agente que, al entrar en contacto con la composición de reticulación, produzca un gas que proporcione una generación de burbujas y, por tanto, las características de espumado deseadas de la composición. Por ejemplo, una sal como bicarbonato de sodio en una cantidad que oscile entre aproximadamente el 2 y aproximadamente el 5% w/w puede estar presente en el sustrato. Al combinarse el sustrato con una composición de agente reticulante ácida, por ejemplo, que tenga un pH de 5 aproximadamente, se produce una composición espumada.

Modificadores adicionales

[0038] También puede haber presentes modificadores adicionales. Por ejemplo, puede haber presentes mezclas de uno o más polímeros (por ejemplo, polimezclas), como Teflón, PET, NAILON, hidrogeles, polipropileno, etc. Las polimezclas se pueden modificar, por ejemplo, como se describe anteriormente, para garantizar las propiedades deseadas. Estos modificadores adicionales pueden estar presentes en cantidades que oscilen entre el 0 y el 50% aproximadamente, incluyendo de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 30%.

Amortiguador

[0039] Al mezclarse el sustrato proteico y el agente reticulante para producir la composición de fase invertible en cuestión, se emplea la amortiguación de la composición de fase invertible en ciertas formas de realización por un número de razones, por ejemplo, para optimizar la resistencia de unión de la composición a la superficie de acoplamiento, para optimizar las condiciones necesarias para que se produzca la reticulación interna, etc. Por

ejemplo, la reticulación óptima para proteínas usando agentes reticulantes glutaraldehídos se produce en un intervalo de pH de 6 aproximadamente a 8 aproximadamente. Los amortiguadores capaces de mantener este intervalo son útiles en esta invención, siempre y cuando no interfieran con el carbonilo terminal del agente reticulante o modifiquen el extremo amino de los aminoácidos. Por ejemplo, los amortiguadores de fosfato tienen un valor pKa en el intervalo de pH 7.0 y no interfieren con el proceso de reticulación puesto que no contienen funciones carboxílicas o amínicas. El amortiguador de fosfato de una resistencia de hasta 1 M es adecuado para el uso como un amortiguador en la presente invención, donde en ciertas formas de realización el amortiguador de fosfato tiene una resistencia de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,3M. Mientras que la amortiguación de fosfato de las soluciones es ideal para la estabilidad del sustrato de proteínas en aplicaciones en las que se requiere una adhesión aumentada, también se puede usar un amortiguador ácido. Se ha comprobado que los amortiguadores de citrato 0,1-1 M y que tienen un intervalo de pH de 4.5 aproximadamente a 6.5 aproximadamente son útiles para esta invención.

[0040] El amortiguador puede estar presente en el componente del agente reticulante inicial o bien en el componente del sustrato proteico inicial, o presente en ambos componentes, como se desee.

Combinación de sustrato y agente reticulante para producir la composición de fase invertible

[0041] Como se resume anteriormente, las composiciones de fase invertible en cuestión se preparan combinando un sustrato proteico líquido y un agente reticulante líquido en cantidades apropiadas y bajo condiciones suficientes para que se produzca la composición de fase invertible. En ciertas formas de realización, el sustrato y el agente reticulante se combinan en una relación (v/v) que oscila entre 1/5 aproximadamente y 5/1 aproximadamente; de manera que se produzca una composición de fase invertible resultante en la que la concentración total de proteínas oscile entre aproximadamente el 10 y aproximadamente el 60%, como de aproximadamente el 20% a aproximadamente el 50%, incluyendo de aproximadamente el 30 a aproximadamente el 40% y la composición de agente reticulante total oscile entre aproximadamente el 0,1 y aproximadamente el 20%, como de aproximadamente el 0,5 a aproximadamente el 15%, incluyendo de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 10%.

[0042] La combinación del sustrato y el agente reticulante se produce habitualmente bajo condiciones de mezcla, de tal manera que los dos componentes líquidos se combinan o se mezclan completamente el uno con el otro. La combinación o la mezcla se puede llevar a cabo usando cualquier protocolo conveniente, por ejemplo, combinando manualmente dos componentes, empleando un dispositivo que combine los dos componentes, etc. La combinación o la mezcla se lleva a cabo habitualmente a una temperatura que oscila entre aproximadamente los 20 y aproximadamente los 40°C, como a temperatura ambiente.

[0043] La combinación del sustrato proteico y el agente reticulante como se describe anteriormente da como resultado la producción de una composición de fase invertible. Por composición de fase invertible se quiere decir una composición que va de un primer estado líquido a un segundo estado sólido. En el segundo estado sólido, la composición es sustancialmente, si no completamente, incapaz del flujo de fluido. La composición de fase invertible permanece habitualmente en un estado sólido, después de la combinación de los componentes del sustrato y del agente reticulante, durante un periodo de tiempo que oscila entre 10 segundos aproximadamente y 10 minutos aproximadamente, como de 20 segundos aproximadamente a 5 minutos aproximadamente, incluyendo de 30 segundos aproximadamente a 120 segundos aproximadamente, cuando se mantiene a una temperatura que oscila entre los 15°C aproximadamente y los 40°C aproximadamente, como de los 20°C aproximadamente a los 30°C aproximadamente.

[0044] Formulaciones de fase invertible específicas incluyen como componentes: (i) una primera composición que comprende una composición de sustrato proteico que tiene albúmina al 30%-50% aproximadamente, y cloruro de quitosano al 0,1%-0,3% aproximadamente; y (ii) una segunda composición que comprende una composición de reticulación que tiene glutaraldehído tratado térmicamente al 3%-10% aproximadamente, ácido hialurónico al 0,1%-1% aproximadamente, y opcionalmente, sal sódica al 0%-1,5% aproximadamente de carboximetilcelulosa alta viscosidad. Tales formulaciones de fase invertible tienen generalmente un tiempo de curación medio de 5-60 segundos aproximadamente al añadirse y mezclarse las composiciones primera y segunda, y una rotura media de 125-1000 mmHg aproximadamente, y más habitualmente, un tiempo de curación medio de 10-30 segundos aproximadamente, y una rotura media de 200-850 mmHg aproximadamente, según se mida a temperatura ambiente aproximadamente.

[0045] En una forma de realización particular, se proporciona una formulación de fase invertible que incluye como componentes: (i) una primera composición que comprende una composición de sustrato proteico que tiene albúmina

al 40% aproximadamente, y cloruro de quitosano al 0,2% aproximadamente; y (ii) una segunda composición que comprende una composición de reticulación que tiene glutaraldehído tratado térmicamente al 4,4%-7,5% aproximadamente, ácido hialurónico al 0,2% aproximadamente, y opcionalmente, sal sódica al 0%-0,75% aproximadamente de carboximetilcelulosa alta viscosidad. Tales formulaciones de fase invertible tienen generalmente un tiempo de curación medio de 10-30 segundos aproximadamente al añadirse y mezclarse las composiciones primera y segunda, y una rotura media de 250-800 mmHg aproximadamente, y más habitualmente, un tiempo de curación medio de 10-15 segundos aproximadamente, y una rotura media de 350-700 mmHg aproximadamente, según se mida a temperatura ambiente aproximadamente.

10 **[0046]** Como también se describe anteriormente, se pueden incorporar diversos materiales adicionales a las composiciones de fase invertible para servir a cualquiera de los diversos propósitos, como para modificar las características físicas de la composición, y/o ayudar en la reparación de un tejido o material biológico objetivo al que se aplique la composición. Por ejemplo, se pueden incorporar agentes biológicamente activos como péptidos, proteínas, ácidos nucleicos, moléculas de carbohidratos, moléculas pequeñas y similares para atraer y unir tipos de
15 células específicos, como glóbulos blancos y plaquetas, o materiales como fibronectina, vimentina, y colágeno, se pueden usar para aumentar la cicatrización mediante una unión no específica. También se puede incluir material de rastreo, como bario, yodo o sales de tántalo, para permitir la visualización y/o la monitorización de la composición de fase invertible. En ciertas formas de realización, se pueden usar diferentes agentes biológicamente activos en diferentes aplicaciones o capas cuando una o más composiciones de fase invertible se apliquen de forma diferencial.

20 **[0047]** En ciertas formas de realización, también se pueden incorporar células a o aplicar en conexión con las composiciones de fase invertible antes, durante y/o después de la aplicación de la composición. Cuando se emplean, las células generalmente se incluyen en la composición de sustrato proteico, o se aplican en conjunción con o por separado de la composición de fase invertible de una manera que permite su adherencia en el lugar de
25 aplicación. Las células pueden ser células vivas, artificiales, fantasmas de células (es decir, fantasmas de glóbulos rojos o plaquetas), o pseudoviriones, dependiendo de un uso final dado. Por ejemplo, las células se pueden seleccionar para producir agentes específicos como factores de crecimiento en el lugar de aplicación. También se pueden incluir agentes biológicamente activos que modulen la viabilidad, la diferenciación, y/o el crecimiento celular. En algunas formas de realización, las células pueden ser células madre, o en otras formas de realización, células
30 progenitoras que correspondan al tipo de tejido en la ubicación del tratamiento u otras células, que proporcionen ventajas terapéuticas. Por ejemplo, células hepáticas incorporadas a la composición de fase invertible y aplicadas a una herida o superficie del hígado de un paciente pueden ayudar a su regeneración y reparación. Esto puede ser particularmente útil en casos en los que enfermedades como la cirrosis, la fibrosis, la enfermedad quística o el cáncer da como resultado un tejido no funcional, la formación de cicatrices o el reemplazo de tejido con células
35 cancerosas. Se pueden aplicar procedimientos similares a otros órganos y tejidos también.

[0048] Los agentes biológicamente activos se pueden incorporar físicamente y/o mediante acoplamiento químico. La incorporación física se lleva a cabo mezclando el agente biológicamente activo con el material de fase invertible antes de y/o durante la aplicación a la superficie objetivo y la curación. El material normalmente se mezcla en la
40 solución de sustrato proteico para formar una solución, suspensión o dispersión. En una forma de realización, el agente biológicamente activo se puede encapsular dentro de dispositivos de administración como microesferas, microcápsulas, liposomas, fantasmas de células o pseudoviriones, que en sí mismos afectan a las tasas de liberación y a la absorción por las células. La incorporación química del agente biológicamente activo se lleva a cabo acoplando químicamente el agente a un material polimérico del sustrato proteico o bien de la composición de
45 reticulación, normalmente del sustrato proteico, antes o en el momento de la polimerización (por ejemplo, mediante la conjugación a través de grupos funcionales reactivos, como aminos, hidróxilos, tioles, y similares). Para garantizar que se mantengan los tiempos de curación y las propiedades de rotura deseadas de la composición de fase invertible, la incorporación física y/o química de un agente biológicamente activo tiene en consideración las cantidades relativas de sustrato proteico y agente reticulante presentes en la composición final, y se puede ajustar
50 como corresponda.

PROCEDIMIENTOS

[0049] Las composiciones biocompatibles de fase invertible en cuestión se emplean en procedimientos en los que
55 una cantidad de la composición de fase invertible se administra a un lugar o ubicación particular de un sujeto, paciente o huésped con necesidad de la misma. El sujeto, paciente o huésped es habitualmente un "mamífero" o "Mammalia", donde éstos términos se usan ampliamente para describir organismos que se encuentran dentro de la clase Mammalia, incluyendo, pero no estando limitada a, las órdenes carnívora (por ejemplo, perros y gatos), roedores (por ejemplo, ratones, conejillos de indias, y ratas), lagomorfos (por ejemplo conejos) y primates (por

ejemplo, humanos, chimpancés, y monos). En muchas formas de realización, los animales o huéspedes, es decir, los sujetos (también denominados en este documento pacientes) serán humanos.

5 **[0050]** La cantidad que se administra al sujeto en cualquier aplicación dada variará necesariamente dependiendo de la naturaleza de la aplicación y el uso de la composición, pero en ciertas formas de realización representativas oscila entre aproximadamente 1 y aproximadamente 50 ml, como de aproximadamente 1 a aproximadamente 25 ml, incluyendo de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml, por ejemplo, 3 ml aproximadamente.

10 **[0051]** Mientras que depende necesariamente de la aplicación particular en la que la composición en cuestión se está empleando, la composición en cuestión, en muchas formas de realización, se administra localmente a una región, lugar o ubicación particular del huésped, donde el lugar o ubicación puede, por supuesto, variar. Lugares o ubicaciones representativas incluyen, pero no están limitadas a: vasos, órganos, y similares. Dependiendo de la aplicación particular, la composición se puede administrar al lugar de interés manualmente o con un dispositivo de administración, por ejemplo, el dispositivo de administración empleado para administrar la composición en
15 aplicaciones de implantación de estent, descrito en mayor detalle más adelante.

UTILIDAD

20 **[0052]** Las composiciones biocompatibles de fase invertible en cuestión encuentran uso en una variedad de aplicaciones diferentes. Aplicaciones representativas de las composiciones de fase invertible en cuestión incluyen las descritas en las Patentes estadounidenses núms. 3.438.374; 5.092.841; 5.292.362; 5.385.606; 5.575.815; 5.583.114; 5.843.156; 6.162.241; 6.290.729; 6.302.898; 6.310.036; 6.329.337; 6.371.975; 6.372.229; 6.423.333; 6.458.147; 6.475.182; 6.547.806; y 7.303.757; así como las Solicitudes estadounidenses núms. 2002/0015724; 2002/0022588; 2002/0133193; 2002/0173770; 2002/0183244; 2002/019490; 2002/0032143.

SISTEMAS

30 **[0053]** También se proporcionan sistemas para el uso en la práctica de los procedimientos en cuestión. Los sistemas pueden incluir elementos de administración de fluido para la administración de la composición de sustrato y de reticulación al lugar de administración, elementos de mezcla, etc. Ejemplos de tales sistemas incluyen los descritos en la Patente estadounidense núm. 7.303.757.

EQUIPOS

35 **[0054]** También se proporcionan equipos para el uso en la práctica de los procedimientos en cuestión, donde los equipos incluyen habitualmente componentes de una composición distinta de sustrato líquido y de reticulación líquida de una composición de fluido de fase invertible, como se describe anteriormente. Las composiciones de sustrato y de reticulación pueden estar presentes en contenedores separados en el equipo, por ejemplo, donde el sustrato está presente en un primer contenedor y el agente de reticulación está presente en un segundo contenedor,
40 donde los contenedores pueden o no estar presentes en una configuración combinada.

[0055] Los equipos en cuestión también pueden incluir un dispositivo de mezcla, para mezclar el sustrato y el agente reticulante entre sí para producir la composición de fase invertible. Los equipos también pueden incluir un dispositivo de administración (que puede o no incluir un elemento de mezcla), como una jeringa de doble cilindro,
45 dispositivos de catéter, y similares, como se describe anteriormente.

[0056] El equipo puede incluir además otros componentes, por ejemplo, alambres de guía, cables sensores, etc., que puedan encontrar uso en la práctica de los procedimientos en cuestión.

50 **[0057]** Además de los componentes antes mencionados, los equipos en cuestión habitualmente incluyen además instrucciones para usar los componentes del equipo para poner en práctica los procedimientos en cuestión. Las instrucciones para poner en práctica los procedimientos en cuestión generalmente se registran en un medio de registro adecuado. Por ejemplo, las instrucciones se pueden imprimir en un sustrato, como papel o plástico, etc. Así pues, las instrucciones pueden estar presentes en los equipos como un prospecto, en el etiquetado del contenedor
55 del equipo o los componentes del mismo (es decir, asociadas con el envase o envase más pequeño incluido en él) etc. En otras formas de realización, las instrucciones están presentes como un archivo de datos de almacenamiento electrónico presente en un medio de almacenamiento legible por ordenador adecuado, por ejemplo, CD-ROM, disquete, etc. En otras formas de realización más, las instrucciones propiamente dichas no están presentes en el equipo, sino que se proporcionan medios para obtener las instrucciones de una fuente remota, por ejemplo a través

de internet. Un ejemplo de esta forma de realización es un equipo que incluye una dirección de internet en la que las instrucciones se pueden ver y/o desde la que las instrucciones se pueden descargar. Al igual que con las instrucciones, este medio para obtener las instrucciones se registra en un sustrato adecuado.

- 5 **[0058]** Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración y no a modo de limitación.

EXPERIMENTAL

- 10 **[0059]** Se prepararon diversas formulaciones de composiciones de fase invertible en las que la sal sódica de ácido hialurónico (AH) se incluyó en el componente de proteínas y el componente de reticulación. Las formulaciones ilustrativas se probaron como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1

Lote#	Formulación de proteínas			Formulación de reticulación		
	Alb	AH	Cl Quit 213	GATT	AH	CMC alta vis
004-49	40%	0,0%	0,2%	7,5%	0,2%	0,00%
004-42-1	40%	0,2%	0,2%	4,4%	0,0%	0,75%
004-42-2	40%	0,2%	0,2%	7,5%	0,0%	0,75%
004-42-3	40%	0,2%	0,2%	4,4%	0,0%	0,00%
003-118-2	40%	0,0%	0,2%	7,5%	0,2%	0,75%

Abreviaturas: Alb=Albúmina; AH= Ácido hialurónico; Cl Quit 213 = Cloruro de quitosano; GATT= glutaraldehído tratado térmicamente; y CMC alta vis=la sal sódica de carboximetilcelulosa alta viscosidad

- 15 La solución de proteínas se prepara en una solución de amortiguador de fosfato 10mM, pH 6.2. La solución de agente reticulante se prepara en una solución de amortiguador de fosfato 10mM, pH 7.
Se usó un sistema de prueba in vitro para determinar la resistencia a la rotura de cada formulación. Una porción cuadrada de una pulgada de pared aórtica porcina se asegura a un recipiente a presión sobre un orificio con un diámetro de 5 mm. Un orificio se perfora a través de la aorta usando una aguja de calibre 14. El sellante se aplica a la aorta sobre el orificio de la aguja de calibre 14 y se deja que se cure. Se aplica una presión de aire al interior del recipiente a presión hasta que se rompa el sellante. La presión de aire requerida para causar la ruptura se mide usando un manómetro.

- 20 **[0060]** Las propiedades observadas de estas formulaciones se muestran en forma tabular en la FIG. 1, y en la Tabla 2, para el sistema de prueba de la aorta.

Tabla 2

Lote#	Tiempo de curación medio (seg) n=2	Rotura media (mmHg) n=2
004-49	19,50	565,20
004-42-1	22,00	353,70
004-42-2	13,50	566,20
004-42-3	33,50	246,20
003-118-2	11,50	499,20

- 30 **[0061]** Los resultados en la FIG. 1 y la Tabla 2 demuestran que cuando se proporciona ácido hialurónico (AH) en el componente de reticulación y no en el componente de proteínas, se eliminan las interacciones no deseadas con el componente de proteínas y se aumenta la viscosidad del componente de reticulación, lo cual da como resultado una composición sellante global de 2 componentes mejorada.
- 35 **[0062]** Aunque la invención precedente se ha descrito con cierto detalle a modo de ilustración y ejemplo a efectos de claridad de entendimiento, es fácilmente evidente para aquellos con conocimientos básicos en la materia a tenor de las enseñanzas de esta invención que se pueden hacer ciertos cambios y modificaciones a la misma sin desviarse del espíritu o ámbito de las reivindicaciones anexas.
- 40 **[0063]** Así pues, lo anterior simplemente ilustra los principios de la invención. Se apreciará que los expertos en la materia podrán concebir diversas disposiciones que, aunque no se describan o se muestren explícitamente en este documento, plasmen los principios de la invención y estén incluidas dentro de su ámbito. Asimismo, todos los ejemplos y el lenguaje condicional mencionados en este documento están destinados principalmente a ayudar al

lector a entender los principios de la invención y los conceptos aportados por los inventores para promover la técnica, y se debe interpretar que son sin limitación para tales ejemplos y condiciones específicamente mencionados.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de fase invertible producida combinando:
- 5 (a) un sustrato proteico líquido, y
- (b) una composición de reticulación líquida que comprende un agente de reticulación macromolecular; y
- en la que dicho agente de reticulación macromolecular es un producto reactivo de un exceso de un agente de
- 10 reticulación y un polímero fisiológicamente aceptable seleccionado de un glicosaminoglicano; y
- en la que la composición experimenta una transición de fase de un primer estado líquido a un segundo estado sólido.
- 15 2. La composición de fase invertible de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho glicosaminoglicano es hialuronano.
3. La composición de fase invertible de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que dicho sustrato proteico líquido comprende un material proteico seleccionado del grupo que consiste en:
- 20 albúmina, elastina, fibrina y formas de colágeno solubles e insolubles y combinaciones de los mismos.
4. La composición de fase invertible de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que dicho sustrato proteico comprende además al menos uno de un agente adherente, un plastificante, y un carbohidrato.
- 25 5. La composición de fase invertible de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que dicho agente de reticulación comprende un aldehído, como glutaraldehído, en la que dicho glutaraldehído opcionalmente se estabiliza térmicamente.
- 30 6. Un procedimiento de producir una composición de fase invertible, combinando dicho procedimiento:
- (a) un sustrato proteico líquido; y
- (b) una composición de reticulación líquida que comprende un agente de reticulación macromolecular;
- 35 para producir dicha composición de fase invertible; y
- en el que dicho agente de reticulación macromolecular es un producto reactivo de un exceso de un agente de reticulación y un polímero fisiológicamente aceptable seleccionado de un glicosaminoglicano; y
- 40 en el que la composición experimenta una transición de fase de un primer estado líquido a un segundo estado sólido.
7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6, en el que dicho glicosaminoglicano es
- 45 hialuronano.
8. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 ó 7, en el que dicho sustrato proteico comprende un material proteico seleccionado del grupo que consiste en: albúmina, elastina, fibrina y formas de colágeno solubles e insolubles y combinaciones de los mismos.
- 50 9. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en el que dicho agente de reticulación comprende un aldehído, como glutaraldehído, en el que dicho glutaraldehído opcionalmente se estabiliza térmicamente.
- 55 10. Una composición de fase sólida producida mediante el procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9.
11. Un equipo para producir una composición de fase invertible, comprendiendo dicho equipo:

(a) un sustrato proteico; y

(b) una composición de reticulación que comprende un agente de reticulación macromolecular; y

5 (c) un dispositivo de administración de fluido de fase invertible; y

en el que dicho agente de reticulación macromolecular es un producto reactivo de un exceso de un agente de reticulación y un polímero fisiológicamente aceptable seleccionado de un glicosaminoglicano; y

10 en el que la composición experimenta una transición de fase de un primer estado líquido a un segundo estado sólido.

12. El equipo de acuerdo con la reivindicación 11, en el que dicho glicosaminoglicano es hialuronano.

FIG. 1

Lote#	Tiempo de curación	Viscosidad (cm)	Índice de viscosidad	Adhesión	Desprendimiento	Rotura (mmHg)	Elasticidad	Distancia de elasticidad (cm)	Flexibilidad
004-49	19	19,5	1,00	Muy buena +	Muy difícil +	549,0	1,0-2,1	1,1	Excelente
004-49	20	18,7	0,96	Muy buena +	Muy difícil +	581,4	1,0-2,0	1,0	Excelente
Promedio	19,50	19,1	0,98			565,2		1,1	
004-42-1	21	21,0	0,95	Media	Difícil	363,1	1,0-3,1	2,1	Excelente
004-42-1	23	23,6	1,07	Muy buena +	Muy difícil +	364,3	1,0-2,5	1,5	Excelente
Promedio	22,00	22,3	1,01			353,7		1,8	
004-42-2	13	14,1	1,04	Buena	Difícil	538,1	1,0-1,8	0,8	Excelente
004-42-2	14	14,8	1,10	Muy buena	Difícil	594,3	1,0-1,9	0,9	Buena
Promedio	13,50	14,5	1,07			566,2		0,9	
004-42-3	36	>42	>1,22	Media	Difícil	270,5	1,0-2,0	1,0	Excelente
004-42-3	31	>42	>1,22	Buena	Difícil	221,9	1,0-1,8	0,8	Excelente
Promedio	33,50					246,2		0,9	
003-118-2	11	21,8	1,90	Muy buena	Muy difícil	432,6	1,0-1,9	0,9	Excelente
003-118-2	12	20,1	1,76	Buena	Muy difícil	565,8	1,0-1,8	0,8	Excelente
Promedio	11,50	21,0	1,82			499,2		0,9	
Lote#	Comentarios								
004-49	Amarillo								
004-49	Amarillo								
004-42-1	Amarillo crema; película fina sobre la aorta								
004-42-1	Amarillo crema								
004-42-2	Amarillo crema; no se produce rotura								
004-42-2	Amarillo crema								
004-42-3	Amarillo claro; dejar curar durante 2 min; película fina sobre la aorta								
004-42-3	Amarillo claro; dejar curar durante 2 min; película fina sobre la aorta; la muestra se desplazó por debajo del anillo, muy poco sobre la aorta								
003-118-2	Lechoso								
003-118-2	Lechoso								