

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 555 228**

51 Int. Cl.:

A61K 31/728 (2006.01)

A61K 31/722 (2006.01)

A61P 41/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.11.2009 E 09830544 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.11.2015 EP 2371371**

54 Título: **Composición para la prevención de adherencias**

30 Prioridad:

01.12.2008 KR 20080120346

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.12.2015

73 Titular/es:

SHIN POONG PHARMACEUTICAL CO. LTD.
(50.0%)

434-4 Moknae-dong Ansan-shi
Gyeonggi-do 425-100, KR y
POSTECH ACADEMY-INDUSTRY FOUNDATION
(50.0%)

72 Inventor/es:

CHO, IL HWAN;
HAHN, SEI KWANG;
HWANG, EUI JIN;
SHIN, JANG SIK y
YEOM, JUNSEOK

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 555 228 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

Composición para la prevención de adherencias

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a una composición para la prevención de adherencias que incluye un ácido hialurónico biocompatible y un compuesto polimérico. Más específicamente, la presente invención se refiere a una composición para la prevención de adherencias con una eficacia superior y que incluye un ácido hialurónico que no ha sido modificado mediante un agente de reticulación químico o un agente modificador químico, y a un método para la preparación de la misma.

Antecedentes de la técnica

15 Las adherencias son uniones entre los órganos o tejidos próximos que normalmente están separados entre sí, resultantes de una excesiva generación de tejido fibroso o de una extravasación y coagulación de sangre durante la curación de heridas, incluyendo traumatismos provocados por una inflamación, cortes, rozaduras, cirugía o similares. Las adherencias pueden aparecer después de cualquier tipo de operación quirúrgica, y pueden provocar graves secuelas clínicas debido a las uniones entre los órganos o tejidos que rodean las regiones quirúrgicas, durante la curación postoperatoria.

25 Generalmente, la incidencia de adherencias postoperatorias en órganos se ha notificado en un intervalo de entre el 55 % y el 93 % (Ann. Royal Coll. Surg. Engl., 75, 147 - 153, 1993). Un gran porcentaje de las cirugías abdominales tiene como resultado adherencias. Aunque algunas de estas adherencias pueden experimentar una descomposición espontánea, en la mayoría de los casos quedan adherencias incluso después de la curación de las heridas, lo que puede dar como resultado diversas secuelas. El tipo de secuelas muy diverso. De acuerdo con los datos estadísticos de los Estados Unidos, se sabe que las adherencias postoperatorias implican, como síntomas principales, entre el 49 % y el 74 % de enteroclisia, entre el 15 % y el 20 % de infertilidad, 20 % y el 50 % de dolor pélvico crónico, y el 19 % de enterobrosia en una terapia posterior (Eur J. Surg., Supl. 577, 32 - 39, 1997).

30 El mecanismo de formación de las adherencias intraperitoneales se describe específicamente en el artículo publicado por Granger (Infert. Reprod. Med. Clin. North Am., 5: 3, 391 - 404, 1994). De acuerdo con Granger, las adherencias son iniciadas por la fibrina resultante de los procesos de coagulación de la sangre entre los exudados generados después de las cirugías. El exudado inflamatorio es rico en fibrina, la cual forma un coágulo de sangre en las superficies de las heridas. Según se degrada la fibrina se regenera el mesotelio, lo que normalmente da como resultado la curación de las heridas. La descomposición de la fibrina, o fibrinólisis, depende de la conversión del plasminógeno en plasmina, que es una enzima fibrinolítica, y esta reacción es promovida por un activador tisular del plasminógeno (tPA) existente en el mesotelio y en el estroma subyacente. Sin embargo, si no se produce la fibrinólisis, las células inflamatorias y los fibroblastos se infiltran en la matriz de fibrina para dar como resultado unas adherencias organizadas. De esta forma, las adherencias se producen a través de una serie de mecanismos de la fibrinogénesis y mecanismos de la fibrinólisis, y la relación entre ambos mecanismos no es simple y está estrechamente relacionada con el proceso de curación de heridas.

45 Como uno de los diversos métodos para la prevención de dichas adherencias se ha enfocado una intensa investigación en un agente antiadhesión que prevenga la formación de adherencias entre los tejidos adyacentes, a través de la formación de una barrera física durante la curación de heridas en tejidos mediante el uso de una barrera, de forma similar a la acción de un tensioactivo. Las barreras antiadhesión usadas para estas barreras pueden dividirse ampliamente en dos clases según sus tipos: una es una barrera de tipo membrana que incluye un tipo de película, un tipo de no tejido y un tipo de esponja, y el otro es una solución de tipo barrera que incluye un tipo de gel.

50 Algunos ejemplos de los materiales de tipo antiadhesión incluyen celulosa oxidada regenerada, politetrafluoroetileno expandido (en lo sucesivo, denominado "ePTFE"), películas formadas por ácido hialurónico modificado, carboximetil celulosa de sodio y agentes modificadores químicos, y similares.

55 Algunos ejemplos de la solución de tipo material antiadhesión incluyen una solución de Ringer lactato, una solución de dextrano-70, una solución de heparina, una solución de carboximetil celulosa de sodio, una solución de ácido hialurónico, una solución de sulfato de condroitina, una solución de polietilenglicol, una solución de poloxámero, y similares. De entre estos tipos de materiales antiadhesión en solución, una solución de Ringer lactato, una solución de dextrano-70, una solución de heparina y similares tienen un mecanismo principal que, durante la curación de peritoneo, provoca que las fibras recubiertas por fibrina se alejen entre sí. Aunque son preparaciones que se han usado para inhibir las adherencias separando los tejidos entre sí, no se consiguen unos efectos antiadhesión satisfactorios debido a su rápida absorción en el peritoneo (Am. Surg., 63, 775 - 777, 1983). Mientras tanto, dado que el polietilenglicol y similares no son degradados *in vivo*, solamente puede usarse un material de bajo peso molecular que pueda ser eliminado a través de una ruta metabólica. Sin embargo, el uso de dicho material de bajo peso molecular da como resultado una absorción excesivamente rápida, por lo que no puede servir como una

barrera eficaz para la prevención de las adherencias durante un periodo prolongado de tiempo.

Mientras tanto, el ácido hialurónico divulgado en la Patente de Estados Unidos n.º 4.141.973 es un polisacárido lineal macromolecular que consiste en β -D-N-acetilglucosamina y en ácido β -D-glucurónico unidos alternativamente, y se sabe que muestra una excelente biocompatibilidad incluso cuando es trasplantado o infundido *in vivo*. Sin embargo, debido también a la descomposición *in vivo* y a la absorción en un periodo de tiempo relativamente corto, existe una limitación en términos de rendimiento como agente antiadhesión.

En un intento de mejorar dichos inconvenientes, la Patente de Estados Unidos n.º 6.548.081 B2 desvela una composición para la reducción de las adherencias posoperatorias en tejidos, en la que la composición comprende un derivado del ácido hialurónico - una N-acilurea formada por la reticulación de ácido hialurónico con un grupo funcional de carbodiimida - y un soporte biocompatible-biodegradable. La Patente de Estados Unidos n.º 6.387.413 B1 desvela una preparación de una composición en gel de ácido hialurónico mediante la adición de un compuesto polimérico tal como carboximetil celulosa, con el fin de complementar las propiedades del gel de ácido hialurónico con respecto a sus propiedades físicas.

Según se ha descrito anteriormente, se han realizado varias investigaciones para complementar las propiedades del gel de ácido hialurónico con respecto a sus propiedades físicas. Entre otras, con objeto de mejorar los inconvenientes del ácido hialurónico con respecto a que sea fácilmente soluble en agua tras las aplicaciones *in vivo* y un tiempo de retención *in vivo* relativamente corto, se han propuesto varias modificaciones del ácido hialurónico que es modificado por diversos agentes de reticulación químicos o por agentes de modificación químicos.

Aunque los materiales así desarrollados hasta la fecha presentan un potencial para la prevención de las adherencias, dado que se emplean ampliamente métodos de reticulación química, existen problemas relacionados con inconvenientes para eliminar los agentes de reticulación o los aditivos y complicados procesos, junto con problemas de toxicidad y de seguridad.

Como resultado de una diversidad de amplios e intensos estudios y experimentos para resolver los problemas descritos anteriormente, es decir, los problemas relacionados con una baja eficacia de la función antiadhesión, la síntesis de agentes de reticulación químicos o aditivos y la posible toxicidad residual, los inventores de la presente invención descubrieron que es posible resolver los problemas descritos anteriormente proporcionando una composición que incluye ácido hialurónico de alto peso molecular con una biocompatibilidad optimizada sin el uso de un agente de reticulación químico. La presente invención se ha completado basándose en esos hallazgos.

Además, al contrario que los productos convencionales que incluyen una mezcla simple de materiales poliméricos que sirven como barreras físicas con respecto a los efectos antiadhesión, la presente invención se basa en una nueva metodología funcional para la prevención de las adherencias en la que el uso de ácido hialurónico y de hidroxietil almidón en la presente invención no solo funciona como una barrera física, sino que también inhibe la formación de trombos, que es básicamente responsable de la aparición de las adherencias. Por lo tanto, la presente invención puede distinguirse de los productos convencionales y también se confirma como excelente con respecto a los efectos antiadhesión y a la seguridad.

>

45 **Divulgación de la invención**

Problema técnico

Por lo tanto, la presente invención pretende proporcionar una composición para la prevención de las adherencias que incluye un ácido hialurónico y un hidroxietil almidón. La composición es preferiblemente una composición de tipo gel.

Además, la presente invención pretende proporcionar el uso de una composición que incluye un ácido hialurónico y un hidroxietil almidón, para la elaboración de una preparación medicinal para la prevención de las adherencias.

Además, la presente invención pretende proporcionar un método para la prevención de una adherencia postoperatoria, que incluye la administración de una composición que incluye un ácido hialurónico y un hidroxietil almidón a un mamífero, incluyendo un ser humano.

Además, la presente invención se basa en una nueva metodología funcional de prevención de las adherencias en la que una composición que incluye un ácido hialurónico y un hidroxietil almidón proporcionada por la presente invención no solo funciona como una barrera física, sino que también inhibe la formación de trombos, que es la base de la aparición de adherencias, y por lo tanto puede distinguirse de los productos convencionales y proporciona unos efectos excelentes también con respecto a los efectos antiadhesión y a la seguridad.

Además, la presente invención reduce la aparición de adherencias al retrasar la descomposición y la absorción

tempranas del ácido hialurónico *in vivo* tal como aparecen tras el uso individual de ácido hialurónico, a través de la provisión de una composición que incluye un ácido hialurónico.

5 Además, la presente invención pretende proporcionar una composición que reduce la aparición de adherencias postoperatorias, y previene la formación de adherencias después de cirugías primarias, y cuando se ha completado la curación de las heridas, es capaz de ser descompuesta y absorbida *in vivo* y después eliminada

Solución técnica

10 La composición de la presente invención se obtiene mediante la adición de un material polimérico a ácido hialurónico. El material polimérico es hidroxietil almidón y es capaz de complementar las propiedades inherentes del gel de ácido hialurónico con respecto a las propiedades físicas requeridas de los materiales medicinales que no son fácilmente satisfechas mediante el uso individual de un gel del ácido hialurónico.

15 Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición para la prevención de las adherencias que incluye un ácido hialurónico y un hidroxietil almidón. La composición es preferiblemente una composición de tipo gel.

20 Además, la presente invención proporciona el uso de una composición que incluye un ácido hialurónico y un hidroxietil almidón, para la elaboración de una preparación medicinal para la prevención de las adherencias.

Además, la presente invención proporciona un método para la prevención de adherencias postoperatorias de órganos o tejidos próximos, que incluye la administración de una composición que incluye un ácido hialurónico y un hidroxietil almidón a un mamífero, incluyendo un ser humano.

25 En lo sucesivo se describirá con más detalle la composición para la prevención de adherencias de acuerdo con la presente invención.

1. Ácido hialurónico (en lo sucesivo, denominado "HA")

30 Como el ácido hialurónico de acuerdo con la presente invención, puede usarse cualquiera extraído a partir de tejidos animales o preparado mediante un método de fermentación, independientemente de su origen. El ácido hialurónico es descompuesto por la hialuronidasa, después absorbido y eliminado a través de una ruta metabólica.

35 Además, el ácido hialurónico de acuerdo con la presente invención es un material bioderivado que no ha sido sometido a una reticulación química y está exento de toxicidad acumulada en el cuerpo humano debido a una retención *in vivo* a largo plazo, que es el problema del ácido hialurónico reticulado convencional, y por lo tanto es superior a las preparaciones convencionales en términos de seguridad.

40 El peso molecular del ácido hialurónico de acuerdo con la presente invención está en un intervalo de desde aproximadamente $5,0 \times 10^5$ hasta aproximadamente $5,0 \times 10^6$ Da, y preferiblemente en un intervalo de desde aproximadamente $0,8 \times 10^6$ hasta aproximadamente 3×10^6 Da. El ácido hialurónico que tiene el intervalo de peso molecular especificado anteriormente tiene una semivida *in vivo* apropiada, y por lo tanto puede servir como barrera física. Por otro lado, el ácido hialurónico de bajo peso molecular convencional (menor de $5,0 \times 10^5$) puede presentar dificultades para ser mantenido como barrera física durante la curación de las heridas. El hialuron con un elevado peso molecular, mayor de 3×10^6 Da, se vuelve muy denso en términos de viscosidad, lo que puede dar como resultado problemas relacionados con los procesos de producción tales como la transferencia, la filtración, etc., siendo por lo tanto indeseable.

45 El contenido de ácido hialurónico de acuerdo con la presente invención está en un intervalo de desde aproximadamente el 0,3 hasta aproximadamente el 7,0 % en peso, y preferiblemente desde aproximadamente el 0,5 hasta aproximadamente el 5,0 % en peso, basado en el peso total de la composición de la presente invención. Si el contenido de ácido hialurónico es menor del 0,3 % en peso, los efectos antiadhesión pueden estar limitados. Por otro lado, si el contenido de ácido hialurónico es mayor del 7,0 % en peso, esto puede dar como resultado problemas con respecto a la producción debido a la viscosidad.

55 2. Hidroxietil almidón (en lo sucesivo, denominado "HES")

60 En la composición de acuerdo con la presente invención, el HES se usa como un ingrediente farmacéutico para reducir la aparición de coagulación sanguínea en el mecanismo de coagulación de la sangre, que es fundamentalmente el responsable de la aparición de las adherencias.

65 Actualmente se usan diversos hidroxietil almidones como soluciones coloidales de sustitución del volumen de sangre. Estos hidroxietil almidones se clasifican como grupos hidroxietilo y otros parámetros dependiendo principalmente de su peso molecular y/o de su eterificación. Algunos ejemplos representativos de los mismos incluyen hetaalmidón (HES 450/0,7) y pentaalmidón (PES 200/0,5).

El HES se indica según un peso molecular habitualmente abreviado como kDa sobre la base del peso medio, de una eterificación o de un grado de sustitución molar MS para los grupos hidroxietilo (por ejemplo, como 0,5 en HES 200 / 0,5; MS = proporción molar media entre los grupos hidroxietilo y las unidades de glucosa anhidra), o un grado de sustitución (por ejemplo, DS = proporción entre la glucosa mono o polihidroxietilada y las unidades de glucosa anhidra totales). El HES en las aplicaciones clínicas puede ser clasificado en preparaciones de peso molecular alto (450 kDa), de peso molecular medio (desde 200 kDa hasta 250 kDa) y de peso molecular bajo (desde 70 kDa hasta 130 kDa), dependiendo de su peso molecular.

El HES tiene unos efectos no específicos sobre la coagulación de la sangre. Estos efectos están provocados por una dilución de la sangre que se produce durante la infusión del HES en un sistema circulatorio. Dicha influencia sobre la dilución de la sangre puede dar como resultado una reducción en la coagulación de la sangre en respuesta a la dilución de los factores de coagulación. De acuerdo con una investigación reciente, se menciona que el peso molecular del HES tiene un efecto sobre la coagulación de la sangre. Sin embargo, Franz *et al.* han mencionado que los trastornos de la coagulación de la sangre no muestran ninguna diferencia significativa entre el peso molecular alto y el peso molecular bajo del HES (Anesth. Analg., 92, 1402 - 1407, 2001), y la Patente Europea n.º 2005-050877 ha mencionado que la inhibición hemostática de las soluciones de HES se ve significativamente afectada por un grado de sustitución molar más que por un peso molecular medio. Con respecto a estas menciones, se considera que las funciones de las plaquetas sanguíneas se verán significativamente afectadas por otros factores, no por el peso molecular medio del HES.

Algunos ejemplos de soluciones de HES, que han sido recientemente aprobadas por la FDA como solución de sustitución del volumen de sangre y que están actualmente disponibles comercialmente en el extranjero, incluyen Hextend (HES 670/0,75, Biotime), Hespan (HES 130/0,4, BBraun) y Voluven (HES 130/0,4, Fresenius kabi).

El peso molecular del hidroxietil almidón de acuerdo con la presente invención está en un intervalo de desde aproximadamente $2,0 \times 10^5$ hasta aproximadamente $1,0 \times 10^6$ Da, y preferiblemente desde aproximadamente $2,5 \times 10^5$ hasta aproximadamente $6,7 \times 10^5$ Da. Si el peso molecular del hidroxietil almidón es menor de $2,0 \times 10^5$ Da, este puede no ser eficaz para la prevención de las adherencias. Por otro lado, si el peso molecular del hidroxietil almidón es mayor de $1,0 \times 10^6$, esto puede dar como resultado un problema de aumento de la semivida *in vivo*. El grado de sustitución molar del hidroxietil almidón usado está en un intervalo de desde aproximadamente 0,2 hasta aproximadamente 0,8, y preferiblemente desde aproximadamente 0,75 hasta aproximadamente 0,4. Si el grado de sustitución molar del hidroxietil almidón es menor de 0,2, este puede no ser eficaz para la prevención de las adherencias. Por otro lado, si el grado de sustitución molar del hidroxietil almidón es mayor de 0,8, esto puede dar como resultado un problema relacionado con la seguridad del propio material.

Además, el contenido de hidroxietil almidón de acuerdo con la presente invención está en un intervalo de aproximadamente el 0,1 % en peso hasta aproximadamente el 2,0 % en peso, basado en el peso total de la composición de acuerdo con la presente invención. Si el contenido de hidroxietil almidón es menor del 0,05 % en peso, este puede no ser eficaz para la prevención de las adherencias. Por otro lado, si el contenido de hidroxietil almidón es mayor del 3,0 % en peso, esto puede dar como resultado una reducción de los efectos aditivos del mismo y una retención *in vivo* del mismo a largo plazo.

La composición de la presente invención puede ser formulada en diversas formas de dosificación, preferiblemente en una solución, un gel, o similares. La solución o el gel pueden ser preparados mediante la adición de excipientes, de aditivos o similares, farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, puede usarse solución salina fisiológica o agua destilada.

El producto que incluye la composición de la presente invención puede usarse de acuerdo con el siguiente método general, con el fin de prevenir las adherencias posoperatorias entre tejidos u órganos.

- 1) Confirmar que se realiza una hemostasia completa en las lesiones o en las regiones quirúrgicas.
- 2) Asegurar que el producto actual es desempacutado en un sitio estéril, se destapa una jeringa y después se fija un catéter a la misma.
- 3) La composición se aplica suficientemente en el sitio objetivo. Si fuera necesario pueden usarse medios auxiliares, tales como un pulverizador, para conseguir una aplicación eficaz de la solución.
- 4) La solución residual después de la administración se desecha.

Una cantidad típica de la composición de acuerdo con la presente invención puede estar preferiblemente en un intervalo de desde aproximadamente 0,01 hasta aproximadamente 10 ml/área unitaria (1 cm^2), y más preferiblemente de desde aproximadamente 0,1 hasta 5 ml. La cantidad eficaz de la composición puede variar dependiendo de diversos factores, tales como la profundidad, el tamaño y la ubicación de las lesiones o de las regiones quirúrgicas, la especificidad del tejido y del órgano de las regiones heridas, la dosis de la composición de la presente invención, y la opinión personal del cirujano.

Efectos ventajosos

Como se ha descrito anteriormente, la composición para la prevención de adherencias de acuerdo con la presente invención es capaz de minimizar una reacción de rechazo a través del uso de un material bioderivado que está exento de reticulación química, experimenta una retención *in vivo* durante un cierto periodo de tiempo, seguida de una descomposición y una absorción, no interfiere en la curación de las heridas después de las operaciones quirúrgicas, puede usarse convenientemente tras la aplicación del mismo y es capaz de prevenir las adherencias.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es una fotografía que muestra la administración de la composición de acuerdo con los ejemplos de la presente invención a un animal.

La Fig. 2 es una fotografía representativa que muestra los resultados de un experimento animal de acuerdo con el grupo de control de la presente invención.

La Fig. 3 es una fotografía representativa que muestra los resultados de un experimento animal de acuerdo con los ejemplos comparativos de la presente invención.

La Fig. 4 y la Fig. 10 son gráficas que muestran los resultados comparativos del índice de disminución del área de adhesión (%) en un experimento animal de la composición de acuerdo con la presente invención.

La Fig. 5 y la Fig. 6 son fotografías representativas que muestran los resultados de un experimento animal de acuerdo con los ejemplos de la presente invención.

La Fig. 7 es una gráfica que muestra los resultados comparativos del grado de adhesión en un experimento animal de la composición de acuerdo con la presente invención.

La Fig. 8 es una gráfica que muestra los resultados comparativos de la fuerza de adhesión en un experimento animal de la composición de acuerdo con la presente invención.

La Fig. 9 es una gráfica que muestra los resultados comparativos del área de adhesión en un experimento animal de la composición de acuerdo con la presente invención

Modo para la invención

Estos y otros objetos, ventajas y características de la presente invención, y los métodos para conseguir los mismos, resultarán evidentes a partir de las formas de realización detalladas proporcionadas a continuación, que se elaboran junto con los siguientes dibujos. Esta invención puede realizarse, sin embargo, de diferentes formas y no debería interpretarse que están limitadas a las formas de realización establecidas en el presente documento. Más bien, estas formas de realización se proporcionan para que esta divulgación sea rigurosa y completa, y transmitirán totalmente el ámbito de la invención a los expertos en la materia. Por lo tanto, la presente invención debería estar definida únicamente por las reivindicaciones anexas.

Ejemplos comparativos 1 a 4: preparación del grupo de control y de una composición de ácido hialurónico solo para la prevención de las adherencias

Ejemplo comparativo 1: Guardix-sol

Como agente antiadhesión formado por ácido hialurónico (HA) y carboximetil celulosa, se usó un producto disponible comercialmente (Guardix-sol, elaborado por BIORANE CO., LTD., Corea).

Ejemplo comparativo 2

Se disolvió HA con un peso molecular de entre $2,5 \times 10^6$ y 3×10^6 Da y una viscosidad de entre 30 dl/g y 35 dl/g a una concentración del 0,5 % en peso en solución salina fisiológica. La solución acuosa resultante se disolvió en una cámara fría a 4 °C durante aproximadamente 2 días, obteniendo así una composición en gel que incluye HA.

Ejemplo comparativo 3

Se obtuvo una composición en gel que incluye HA de la misma forma que en el Ejemplo 1, excepto porque el HA se disolvió a una concentración del 1 % en peso en solución salina fisiológica.

Ejemplo comparativo 4

Se disolvió hetaalmidón (HES, 670/0,75) a una concentración del 8,0 % en peso en solución salina fisiológica, obteniendo así una composición de HES solo.

Ejemplos 1 a 5: preparación de una composición para la prevención de las adherencias que incluye ácido hialurónico y hetaalmidón 450/0,7

Ejemplo 1 (Ejemplo ilustrativo)

Se disolvió una solución de HES al 6 % (450/0,7) a una concentración del 0,03 % en peso en solución salina fisiológica, y se disolvió HA con un peso molecular de entre $2,5 \times 10^6$ y 3×10^6 Da y una viscosidad de entre 30 dl/g y

35 dl/g a una concentración del 1 % en peso en la solución salina fisiológica obtenida. La solución acuosa resultante se disolvió en una cámara fría a 4 °C durante aproximadamente 2 días, obteniendo así una composición en gel que incluye HA y HES.

5 **Ejemplo 2 (Ejemplo ilustrativo)**

Se obtuvo una composición en gel que incluye HA y HES de la misma forma que en el Ejemplo 3, excepto porque el HES se disolvió a una concentración del 0,06 % en peso en solución salina fisiológica.

10 **Ejemplo 3**

Se obtuvo una composición en gel que incluye HA y HES de la misma forma que en el Ejemplo 3, excepto porque el HES se disolvió a una concentración del 0,12 % en peso en solución salina fisiológica.

15 **Ejemplo 4**

Se obtuvo una composición en gel que incluye HA y HES de la misma forma que en el Ejemplo 3, excepto porque el HES se disolvió a una concentración del 0,24 % en peso en solución salina fisiológica.

20 **Ejemplo 5**

Se obtuvo una composición en gel que incluye HA y HES de la misma forma que en el Ejemplo 3, excepto porque el HES se disolvió a una concentración del 0,5 % en peso en solución salina fisiológica.

25 **Ejemplo 6: preparación de una composición para la prevención de las adherencias que incluye ácido hialurónico y hetaalmidón 670/0,75**

30 Se obtuvo una composición en gel que incluye HA y HES de la misma forma que en el Ejemplo 1, excepto porque la solución de HES al 6 % (670/0,75) con un peso molecular y un grado de sustitución molar diferentes se disolvió a una concentración del 0,5 % en peso en solución salina fisiológica.

Ejemplo 7: preparación de una composición para la prevención de las adherencias que incluye ácido hialurónico y hetaalmidón 264/0,45

35 Se obtuvo una composición en gel que incluye HA y HES de la misma forma que en el Ejemplo 1, excepto porque la solución de HES al 10 % (264/0,45) con un peso molecular y un grado de sustitución molar diferentes se disolvió a una concentración del 0,5 % en peso en solución salina fisiológica.

40 **Ejemplo 8: preparación de una composición para la prevención de las adherencias que incluye ácido hialurónico y chitooligosacárido (Ejemplo ilustrativo)**

45 Se disolvió chitooligosacárido con un peso molecular de entre 1×10^3 y 5×10^3 Da (en lo sucesivo, denominado "COS", elaborado por KITTOLIFE CO., LTD., Corea) a una concentración del 0,5 % en peso, en solución salina fisiológica, y se disolvió el HA para que estuviera al 1 % en peso de la solución. La solución acuosa resultante se disolvió en una cámara fría a 4 °C durante aproximadamente 2 días, obteniendo así una composición en gel que incluye HA y COS.

Ejemplo experimental 1: ensayo antiadherencias en un modelo de abrasión de la pared cecal-abdominal en ratas

50 Se evaluó el comportamiento antiadherencias de tejidos de las muestras preparadas en los Ejemplos comparativos 1 hasta 4 y en los Ejemplos 1 hasta 8 mediante el uso de un modelo de abrasión de la pared cecal-abdominal en ratas. Como animales experimentales se usaron y agruparon ratas macho Sprague-Dawley de 7 semanas de edad (SLC, Japón) ($n = 5$ / grupo). Para la inducción de las adherencias, los animales experimentales fueron anestesiados mediante la administración peritoneal de HCl de ketamima (0,1 ml / 100 g), seguido de un rasurado abdominal y una desinfección con etanol al 70 %, y después se realizó una incisión de entre 4 y 5 cm sobre la línea media de la región abdominal. Se extrajo el ciego de la parte cortada, y la membrana serosa del ciego (1,2 cm x 1,2 cm) se frotó con una gasa esterilizada hasta que se produjo una hemorragia, y en el revestimiento abdominal opuesto (1,2 cm x 1,2 cm) se provocó un traumatismo mediante el uso de una cuchara de reactivos. Se fijaron dos puntos a 1 cm de las regiones lesionadas por frotamiento mediante una sutura de nailon de 5-0 de forma que las dos superficies lesionadas se pusieron en contacto, promoviendo así la formación de adherencias.

65 Un grupo de control negativo se infundió con solución salina fisiológica. En el grupo experimental se infundieron 5 ml de una solución antiadhesión en cada una de las regiones lesionadas (véase la Fig. 1). Después se suturaron el revestimiento abdominal y la piel. Una vez finalizadas las cirugías, los animales fueron alimentados con pienso y agua *ad libitum* durante una semana y fueron sacrificados, seguido de la evaluación de las adherencias. Mediante el

uso de un sistema de evaluación de las adherencias, las puntuaciones obtenidas se sumaron y se promediaron (Am. J. Obstet. Gynecol., 146, 88 - 92, 1983). Los resultados se proporcionan en la Tabla 1 hasta la Tabla 4, respectivamente.

- 5 El grado de adherencia fue evaluado de acuerdo con los siguientes criterios en una escala de 0 a 5 (0: no hay adherencias, 1: una adherencia en película fina, 2: dos o más adherencias en película fina, 3: gruesas adherencias localizadas focalmente, 4: adherencias localizadas en placas, 5: adherencias muy gruesas con la formación de vasos sanguíneos o de una o más adherencias densas en placas).
- 10 La fuerza de la adherencia fue evaluada de acuerdo con los siguientes criterios en una escala de 1 a 4 (1: adherencia en película que se elimina fácilmente con una fuerza muy pequeña, 2: adherencia que requiere una fuerza moderada para eliminar la adherencia, 3: adherencia que se elimina mediante la aplicación de una presión considerable, 4: adherencia muy fuerte difícil de eliminar o que requiere una presión muy alta para liberar la adherencia).

15

Tabla 1. Administración de una composición para la prevención de las adherencias que incluye ácido hialurónico

	Grado de adherencia	Fuerza de la adherencia	Área de la adherencia (cm ²)	Índice de disminución del área de la adherencia (%)
Control	3,88 ± 0,35	2,88 ± 0,35	1,36 ± 0,25	0
Ejemplo comparativo 1	3,20 ± 0,45	2,60 ± 0,55	0,78 ± 0,12 **	42,7
Ejemplo comparativo 2	3,2560,50 *	2,7560,50 *	0,80 ± 0,13 **	40,5
Ejemplo comparativo 3	3,10 ± 0,58 *	2,5560,50	0,66 ± 0,17 *	51,3
Ejemplo comparativo 4	3,80 ± 0,45	2,80 ± 0,45	1,20 ± 0,11	11,7

Los datos se representaron mediante la media ± D. T. (n = 5)

*: p < 0,05 frente a ninguno (control negativo), **: p < 0,05 frente a ninguno (control negativo)

- 20 Según se muestra en la Tabla 1 anterior, los Ejemplos comparativos 2 y 3 mostraron una reducción en las adherencias de tejido en comparación con el grupo de control, y el Ejemplo comparativo 3 mostró un aumento en los efectos antiadhesión en comparación con el Ejemplo comparativo 2. Por lo tanto, se demostró que la composición de HA solo tiene unos efectos antiadhesión superiores en comparación con la composición convencional disponible comercialmente.

- 25 Puede observarse que la composición del Ejemplo comparativo 4 tiene unos efectos antiadhesión muy bajos. Por lo tanto, parece que el HES solo es insuficiente para que sirva como barrera.

- 30 La fotografía representativa de los resultados del experimento animal del grupo de control se muestra en la Fig. 2; la fotografía representativa de los resultados del experimento animal del Ejemplo comparativo 1 se muestra en la Fig. 3; y un índice de disminución (%) del área de adherencias en los tejidos en los animales experimentales se muestra gráficamente en la Fig. 4.

Tabla 2. Administración de una composición para la prevención de las adherencias que incluye ácido hialurónico y hetaalmidón 450/0,7

35

	Grado de adherencia	Fuerza de la adherencia	Área de la adherencia (cm ²)	Índice de disminución del área de la adherencia (%)
Control	3,73 ± 0,46	3,00 ± 0,00	0,80 ± 0,16	0
Ejemplo 1	1,75 ± 1,26 *	1,25 ± 0,96 *	0,26 ± 0,09 **	67,5
Ejemplo 2	1,60 ± 1,14 **	1,20 ± 0,84 **	0,16 ± 0,08 *	80,0
Ejemplo 3	1,60 ± 1,14 **	1,20 ± 0,84 **	0,12 ± 0,12 **	85,0
Ejemplo 4	1,40 ± 1,14 **	1,20 ± 0,84 *	0,07 ± 0,11 **	91,1
Ejemplo 5	1,20 ± 1,30 **	0,80 ± 0,84 *	0,06 ± 0,10 *	92,5

Los datos se representaron mediante la media ± D. T. (n = 5)

*: p < 0,05 frente a ninguno (control negativo), **: p < 0,05 frente a ninguno (control negativo)

- 40 Según se muestra en la Tabla 2 anterior, se demostró que los grupos a los que se les administraron las composiciones del Ejemplo 1 hasta el Ejemplo 5 mostraban una notable reducción en las adherencias de los tejidos en comparación con el grupo de control, y cuando aumenta el contenido (con respecto al % en peso) de HES en las composiciones de los ejemplos de la presente invención, disminuye el área de la adherencia, y el comportamiento antiadherencia en los tejidos es superior.

Los resultados del experimento animal del Ejemplo 5 se muestran en la Fig. 5; en la Fig. 6 se muestra una fotografía representativa de los resultados sin la aparición de adherencias (un caso en el grupo tratado con el Ejemplo 5); y el grado de adherencia, la fuerza de la adherencia, el área de la adherencia y el índice de disminución del área de la adherencia (%) en los experimentos animales se muestran en las Figs. 7 hasta 10, respectivamente.

5

Tabla 3. Administración de una composición para la prevención de las adherencias que incluye ácido hialurónico y hetaalmidón 670/0,75 o 264/0,45

	Grado de adherencia	Fuerza de la adherencia	Área de la adherencia (cm ²)	Índice de disminución del área de la adherencia (%)
Control	3,60 ± 0,55	3,00 ± 0,00	0,73 ± 0,07	0
Ejemplo 6	2,00 ± 0,71 **	1,80 ± 0,45 **	0,11 ± 0,16 **	84,9
Ejemplo 7	1,80 ± 1,30 *	1,20 ± 0,84 **	0,18 ± 0,18**	75,4

Los datos se representaron mediante la media ± D. T. (n = 5)
*: p < 0,05 frente a ninguno (control negativo), **: p < 0,05 frente a ninguno (control negativo)

- 10 Según se muestra en la Tabla 3 anterior, se demostró que los Ejemplos 6 y 7 mostraban una reducción en las adherencias de los tejidos en comparación con el grupo de control. El Ejemplo 6, en el que se añadió un 0,5 % en peso de una solución al 10 % de HES (670/0,75) a la composición en gel, mostró una mayor reducción del área de las adherencias en comparación con el Ejemplo 7, en el que se añadió un 0,5 % en peso de una solución de HES al 6 % (264/0,45) a la composición en gel. Además, no se observó la aparición de adherencias en dos animales del
- 15 Ejemplo 6, mostrando así una inhibición superior de las adherencias.

Tabla 4. Administración de una composición para la prevención de las adherencias que incluye ácido hialurónico y chitooligosacárido

	Grado de adherencia	Fuerza de la adherencia	Área de la adherencia (cm ²)	Índice de disminución del área de la adherencia (%)
Control	3,60 ± 0,55	3,00 ± 0,00	0,72 ± 0,11	0
Ejemplo 8	2,25 ± 1,50	1,50 ± 1,00 *	0,27 ± 0,18 **	62,5

Los datos se representaron mediante la media ± D. T. (n = 5)
*: p < 0,05 frente a ninguno (control negativo), **: p < 0,05 frente a ninguno (control negativo)

20

Según se muestra en la Tabla 4 anterior, se demostró que el Ejemplo 8 con la adición de COS mostró una mayor reducción en las adherencias de los tejidos en comparación con un grupo de control.

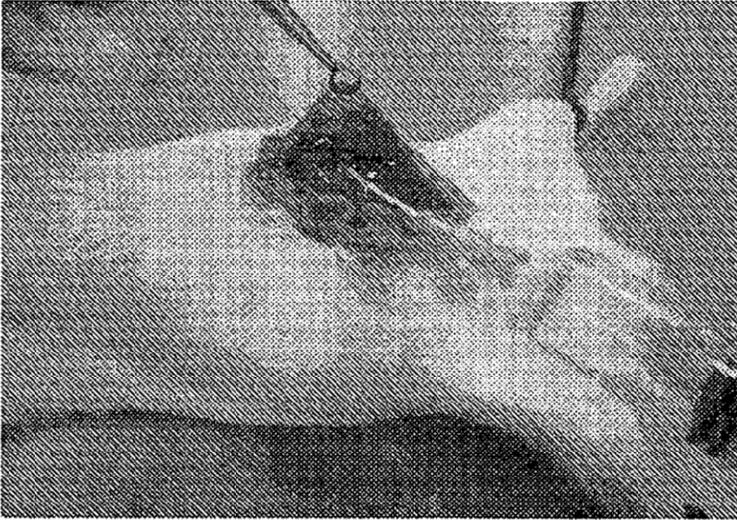
25

Cuando se trataron, ninguno de los grupos experimentales 1 hasta 8 mostró una respuesta inflamatoria en particular debida a los materiales aplicados en comparación con el grupo de control, y por lo tanto también se demostró que los materiales aplicados tenían una excelente biocompatibilidad.

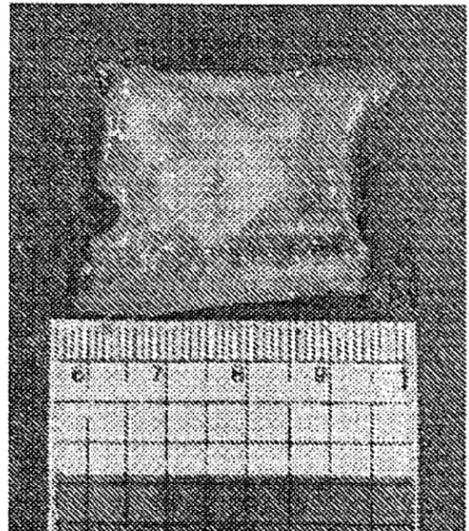
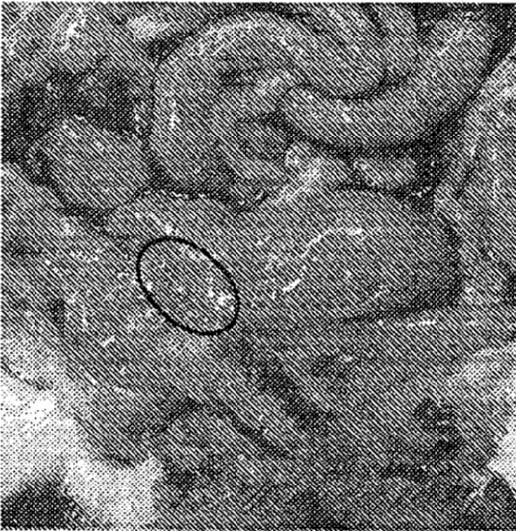
REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición para la prevención de las adherencias que comprende un ácido hialurónico y un hidroxietil almidón, en la que el contenido de hidroxietil almidón está en el intervalo de entre el 0,1 % en peso y el 2,0 % en peso, basado en el peso total de la composición.
2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el ácido hialurónico tiene un peso molecular de entre $0,8 \times 10^6$ y 3×10^6 Da.
- 10 3. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el contenido de ácido hialurónico está en el intervalo de entre el 0,5 y el 5,0 % en peso, basado en el peso total de la composición.
4. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el hidroxietil almidón tiene un peso molecular de entre $2,0 \times 10^5$ y $1,0 \times 10^6$ Da y un grado de sustitución molar de entre 0,75 y 0,4.
- 15 5. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el hidroxietil almidón tiene un peso molecular de entre $2,5 \times 10^5$ y $6,7 \times 10^5$ Da y un grado de sustitución molar de entre 0,75 y 0,4.
- 20 6. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el ácido hialurónico es uno que se extrae a partir de un tejido animal o se prepara mediante un método de fermentación.
7. Uso de una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para la elaboración de una preparación medicinal para la prevención de las adherencias.
- 25 8. Una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su uso en la prevención de las adherencias postoperatorias entre órganos o tejidos próximos en un mamífero, incluyendo un ser humano.

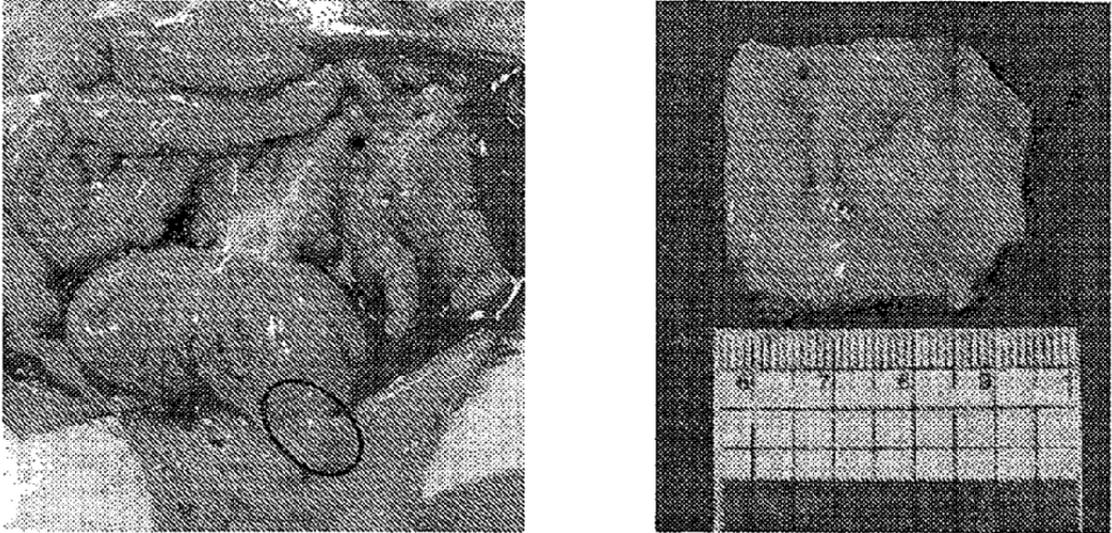
[Fig. 1]



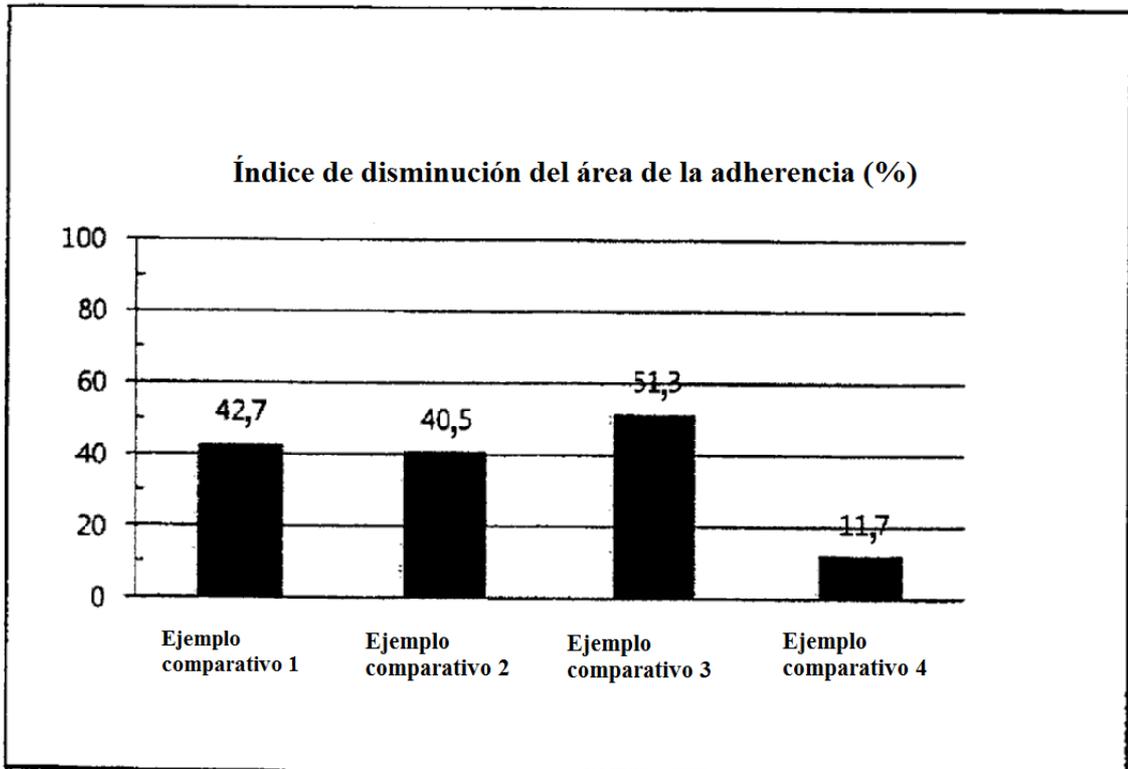
[Fig. 2]



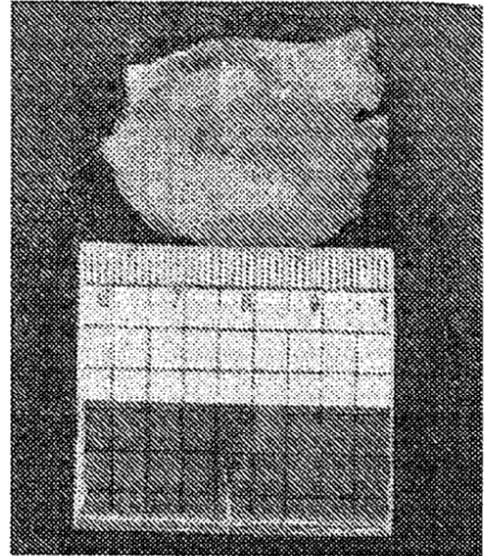
[Fig. 3]



[Fig. 4]



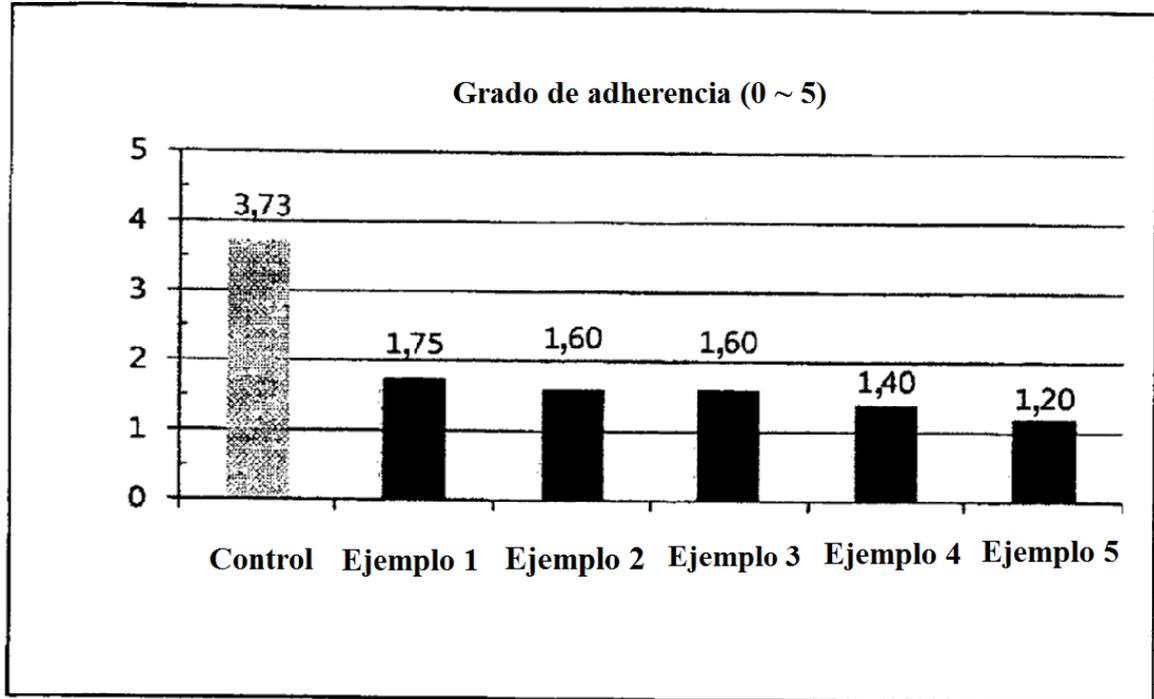
[Fig. 5]



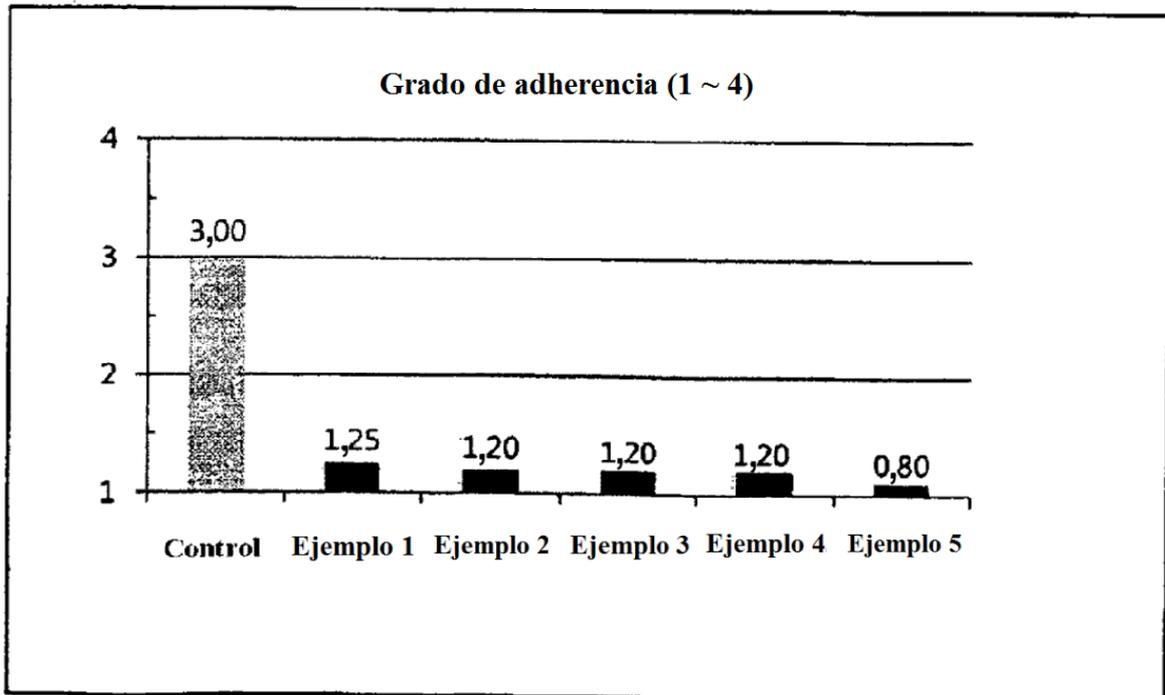
[Fig. 6]



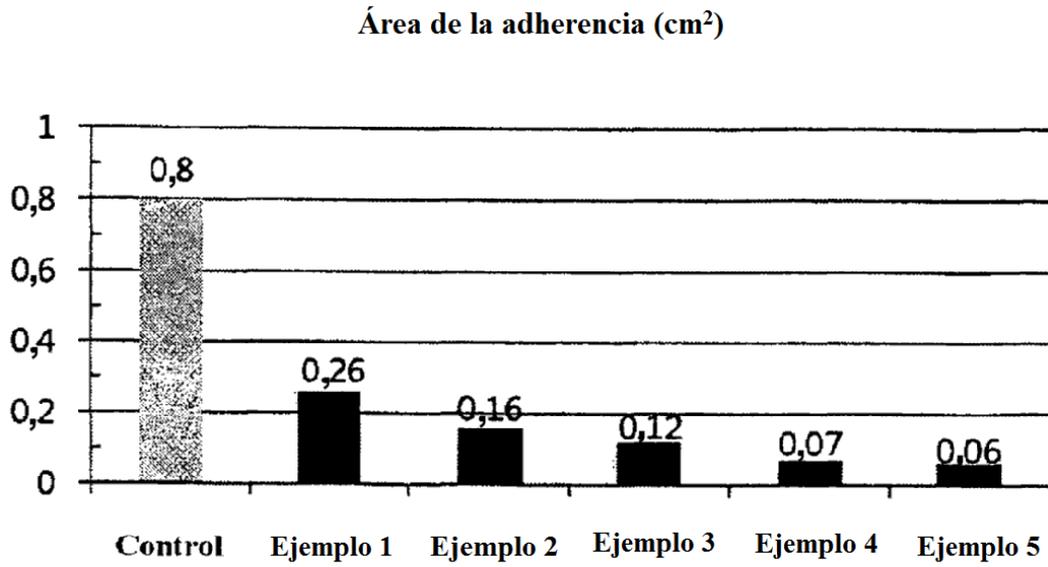
[Fig. 7]



[Fig. 8]



[Fig. 9]



[Fig. 10]

