

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 570 760**

51 Int. Cl.:

**A61L 24/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.11.2007 E 07824729 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.02.2016 EP 2099505**

54 Título: **Biogel**

30 Prioridad:

**27.11.2006 GB 0623607**

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

**20.05.2016**

73 Titular/es:

**HAEMOSTATIX LIMITED (100.0%)  
BioCity Nottingham Pennyfoot Street  
Nottingham NG1 1GF, GB**

72 Inventor/es:

**WALKER, GREG**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**ES 2 570 760 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

## Biogel

5 La presente invención se refiere a un biogel y a kits, agentes y métodos para la formación del biogel. En un aspecto preferido, el biogel es un adhesivo tisular. El biogel o adhesivo tisular se puede ser para diversas aplicaciones, incluyendo hemostasia, sellado de heridas, ingeniería tisular o liberación localizada de fármacos.

10 Durante el proceso de coagulación, el fibrinógeno se convierte en fibrina por acción de la trombina. El fibrinógeno comprende dos conjuntos de tres cadenas diferentes ( $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ ) unidas entre sí por puentes disulfuro. En conjunto, estas cadenas forman un dominio globular central (el dominio E) conectado a dos dominios globulares distales (los dominios D). La trombina escinde cuatro enlaces peptídicos arginina-glicina en el dominio E central del fibrinógeno y libera un péptido A de a cada una de las dos cadenas  $\alpha$  y un péptido B de cada una de las dos cadenas  $\beta$ . Los péptidos A y B se denominan fibrinopéptidos. Una molécula de fibrinógeno desprovista de estos fibrinopéptidos se denomina monómero de fibrina. Los monómeros de fibrina se ensamblan espontáneamente en matrices fibrosas ordenadas denominadas fibrina. La fibrina se estabiliza mediante la formación de reticulaciones covalentes entre las cadenas laterales de diferentes moléculas en la fibra de fibrina. Los enlaces peptídicos se forman entre las cadenas laterales de lisina y glutamina específicas en una reacción de transamidación que está catalizada por el Factor XIIIa.

20 Una vez activadas, las plaquetas también forman una parte esencial de un coágulo de sangre. Las plaquetas se adhieren a la superficie expuesta de una herida y se activan. La glicoproteína GPIIb / IIIa de la membrana de las plaquetas se somete a un cambio de la conformación, que le permite unirse al fibrinógeno. El fibrinógeno se puede unir a más de una de las plaquetas y, de este modo, las plaquetas se agregan. Los agregados de plaquetas forman la arquitectura básica del coágulo, formado dentro de una malla de fibrina.

25 El adhesivo tisular de fibrina (ATF) es el nombre dado a los productos formados mediante la imitación de la última etapa de la cascada de la coagulación para formar un coágulo de fibrina. Los kits del ATF disponibles comercialmente producen rápidamente geles fuertes y biodegradables que se utilizan para la hemostasia, la administración de fármacos y como colas quirúrgicas y selladores de tejidos. El fibrinógeno, el factor XIII, la trombina y los iones de calcio y normalmente se administran a través de un dispositivo de jeringa que separa el fibrinógeno y el factor XIII de los iones de calcio y la trombina durante el almacenamiento. La mezcla de los componentes durante la liberación de la jeringa da lugar a la trombolisis del fibrinógeno para crear fibrina, que se autoensambla en un gel que después se reticula mediante el factor XIII activado por iones de calcio. Sin embargo, muchos ATF utilizan trombina bovina, que puede inducir respuestas anafilácticas y autoinmunes en los pacientes.

30 Zhang et al. (Bioconjugate Chem. 2002 (13): 640-646) describen la formación de hidrogeles a base de fibrinógeno mediante la liberación fotoactivada de iones de calcio a partir de liposomas y la posterior activación de la reticulación del fibrinógeno catalizada por transglutaminasa. Sin embargo, la formación de estos hidrogeles es complicada, y se requiere la formulación especializada de liposoma y de factor XIII.

40 Hidas et al. (Urology 67(4), 2006: 697-700) describen el uso de adhesivo tisular de glutaraldehído albúmina en la cirugía conservadora de nefronas sin sutura. La seroalbúmina bovina y el glutaraldehído se mezclaron. La exposición a glutaraldehído hace que las moléculas de lisina de la seroalbúmina bovina, las proteínas de la matriz extracelular y las superficies de las células se unan entre sí, creando un enlace covalente fuerte. No obstante, una desventaja de este adhesivo es que el glutaraldehído es tóxico y existe el riesgo de que la seroalbúmina bovina pueda inducir una reacción alérgica en los pacientes.

50 Por consiguiente, existe la necesidad de proporcionar un gel o adhesivo tisular que no requiera el uso de agentes tóxicos, lo que minimiza el riesgo de que se produzcan reacciones alérgicas, y que sea fácil de producir a partir de componentes que se puedan almacenar fácilmente en condiciones estables,

De acuerdo con la invención, se proporciona un kit de biogel (es decir, un kit para la formación de un biogel), que comprende: una pluralidad de vehículos, una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno inmovilizados para cada vehículo; y fibrinógeno; donde cada molécula de fibrinógeno se puede unir al menos dos restos de unión a fibrinógeno.

60 El término "biogel" se usa en el presente documento para incluir un gel que comprende uno o más componentes que son moléculas biológicas naturales o recombinantes (o moléculas biológicas sintetizadas químicamente), o que derivan de moléculas biológicas (por ejemplo derivados que retienen una o más funciones de una molécula biológica).

65 Se puede formar un biogel poniendo en contacto el fibrinógeno y los vehículos. Debido a que una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno está inmovilizada en cada vehículo y dado que cada molécula de fibrinógeno se puede unir al menos a dos de los restos de unión a fibrinógeno, las moléculas de fibrinógeno se unen entre sí a través de los vehículos. Entre las moléculas de fibrinógeno y los restos de unión a fibrinógeno se forman enlaces no covalentes.

En consecuencia, también se proporciona, de acuerdo con la invención, un método de formación de un biogel, que comprende poner en contacto las moléculas de fibrinógeno con una pluralidad de vehículos, donde cada vehículo tiene una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo, y cada molécula de fibrinógeno pueden unirse al menos a dos restos de unión a fibrinógeno, de modo que las moléculas de fibrinógeno se unen entre sí a través de los vehículos mediante la formación de enlaces no covalentes entre los restos de unión a fibrinógeno y las moléculas de fibrinógeno.

Se proporciona adicionalmente, de acuerdo con la invención, un método de formación de un biogel, que comprende moléculas de fibrinógeno y una pluralidad de vehículos, donde cada vehículo tiene una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo, y cada molécula de fibrinógeno se une al menos a dos restos de unión a fibrinógeno, de modo que las moléculas de fibrinógeno se unen entre sí a través de los vehículos mediante enlaces no covalentes entre los restos de unión a fibrinógeno y las moléculas de fibrinógeno.

En lugar de restos de unión a fibrinógeno, los vehículos pueden tener una pluralidad de precursores de unión a fibrinógeno inmovilizados en cada vehículo, donde cada precursor de unión a fibrinógeno se puede convertir en un resto de unión a fibrinógeno. Para formar un Biogel usando tales vehículos, es necesario convertir los precursores de unión a fibrinógeno en restos de unión a fibrinógeno, de modo que dichos restos de unión a fibrinógeno se pueden unir a las moléculas de fibrinógeno.

De acuerdo con lo anterior, también se puede proporcionar un kit de biogel (es decir, un kit para la formación de un biogel), que comprende: una pluralidad de vehículos, una pluralidad de precursores de unión a fibrinógeno inmovilizados en cada vehículo, donde cada precursor de unión a fibrinógeno se puede convertir en un resto de unión a fibrinógeno; y fibrinógeno, donde cada molécula de fibrinógeno se puede unir al menos a dos restos de unión a fibrinógeno.

También puede proporcionarse un método de formación de un biogel, que comprende: proporcionar una pluralidad de vehículos, comprendiendo cada vehículo una pluralidad de precursores de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo; convertir los precursores de unión a fibrinógeno en restos de unión a fibrinógeno; y poner en contacto las moléculas de fibrinógeno con los restos de unión a fibrinógeno, donde cada molécula de fibrinógeno se puede unir al menos a dos restos de unión a fibrinógeno, de modo que las moléculas de fibrinógeno se unen entre sí a través de los vehículos mediante la formación de enlaces no covalentes entre los restos de unión a fibrinógeno y las moléculas de fibrinógeno.

Un biogel de la invención no necesita ser capaz de adherirse a un sustrato de tejido. Sin embargo, en aspectos preferidos, un biogel de la invención es un adhesivo tisular. El término "adhesivo tisular" se usa en el presente documento para querer decir una sustancia que puede adherirse a un sustrato de tejido, por ejemplo piel o una superficie mucosa. Los biogeles o adhesivos tisulares de la invención se pueden usar en la hemostasia, como selladores, para ingeniería de tejidos (por ejemplo, como soporte), o para la liberación localizada de fármacos.

El vehículo es un vehículo soluble. El vehículo debe ser adecuado para la administración tópica en un sitio de tejido de un sujeto, por ejemplo un sitio punto de herida con sangrado o un lugar de una mucosa. Vehículo. El vehículo soluble puede ser adecuado para administración intravenosa en lugar de tópica. El vehículo puede comprender una proteína soluble, un fármaco terapéutico, un polímero (por ejemplo un polímero biocompatible, tal como polietilenglicol), o una combinación de cualquiera de estos.

Los ejemplos de vehículos proteicos son una enzima o una proteína que no es una enzima, tal como seroalbúmina humana.

El término "fibrinógeno" se usa en el presente documento para incluir fibrinógeno natural, fibrinógeno recombinante o un derivado del fibrinógeno que se puede convertir mediante la acción de la trombina para formar fibrina (por ejemplo, monómero de fibrina natural o recombinante, o un derivado de monómero de fibrina que puede o no ser capaz de un ensamblaje espontáneo). El fibrinógeno debe ser capaz de unirse al menos a dos restos de unión a fibrinógeno. El fibrinógeno se puede obtener de cualquier fuente y de cualquier especie (incluyendo fibrinógeno bovino), pero es, preferiblemente, fibrinógeno humano. El fibrinógeno humano se puede obtener a partir de sangre autóloga o donante. Se prefiere el fibrinógeno autólogo porque esto reduce el riesgo de infección cuando el biogel (o adhesivo) de la invención se administra a un sujeto.

Preferiblemente, el resto de unión a fibrinógeno se une a fibrinógeno con una constante de disociación ( $K_D$ ) de entre  $10^{-9}$  a  $10^{-6}$  M, por ejemplo de aproximadamente 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 200, 250, 300, 350, 400 o nM o más. Se prefiere una  $K_D$  de aproximadamente 100 nM. La constante de disociación se puede medir en el equilibrio. Por ejemplo, el fibrinógeno radiomarcado de concentración conocida se puede incubar con microesferas a laS que el resto de unión a fibrinógeno se ha reticulado. Típicamente, el péptido de 5  $\mu$ M está reticulado a microesferas de 1 g, o 15-40  $\mu$ moles de péptido se reticulan con 1 g de microesferas. Las microesferas unidas a péptidos se diluyen hasta 0,5 mg / ml y se incuban en tampón isotónico a pH 7,4 (por ejemplo, tampón Hepes 0,01 M que contiene NaCl 0,15M) con fibrinógeno radiomarcado a concentraciones de entre 0,05 y 0,5 mg / ml durante hasta 1 hora a 20 °C. El fibrinógeno unido al resto de unión a fibrinógeno sobre las microesferas puede

separarse del fibrinógeno libre mediante centrifugación y se puede medir la cantidad de fibrinógeno libre y unido. A continuación, la constante de disociación se puede calcular mediante análisis de Scatchard representando la concentración de fibrinógeno unido contra la relación de las concentraciones de fibrinógeno unido: libre, donde la pendiente de la curva representa la  $K_D$ .

5 En algunas realizaciones de la invención, se prefiere que el resto de unión a fibrinógeno se una selectivamente a fibrinógeno. En otras realizaciones, se prefiere que el resto de unión a fibrinógeno pueda unirse al fibrinógeno y, por separado, al monómero de fibrina y / o a fibrina. La unión a fibrinógeno y al monómero de fibrina y / o a fibrina es, preferiblemente, selectiva.

10 Preferiblemente, el resto de unión a fibrinógeno es un péptido o un análogo peptídico de unión a fibrinógeno. Se puede usar cualquier péptido de unión a fibrinógeno adecuado. Por ejemplo, el péptido puede ser capaz de unirse a una región de fibrinógeno que se une naturalmente a la fibrina o mediante las glicoproteínas de la membrana de las plaquetas GPIIb-IIIa. La unión de la fibrina a fibrinógeno se trata en Mosesson et al. 2001, Ann. N.Y. Acad. Sci., 936, 11-30. La unión de GPIIb-IIIa a fibrinógeno se trata en Bennett, 2001, Annals of NY Acad. Sci., 936, 340-354.

15 El péptido puede ser capaz de unirse al dominio carboxi y / o amino terminal de la cadena  $\alpha$  de fibrinógeno. En particular, el péptido puede ser capaz de unirse a un motivo que contiene RGD en uno o ambos de estos dominios (tales como RGDF (SEQ ID NO: 1) en los aminoácidos 95-98, o RGDS (SEQ ID NO: 2) en los aminoácidos 572-575). El péptido puede ser capaz de unirse al dominio carboxi terminal de la cadena  $\gamma$  de fibrinógeno, preferentemente a los últimos 12 aminoácidos de este dominio (secuencia HHLGGAKQAGDV (SEQ ID NO: 3)). El péptido puede ser capaz de unirse al dominio D de la cadena  $\gamma$  de fibrinógeno, tal como el segmento de la cadena  $\beta$  del dominio D.

25 El péptido de unión a fibrinógeno puede comprender una secuencia derivada de una región de unión a fibrinógeno de GPIIb o GPIIIa. Por ejemplo, el péptido puede comprender la secuencia AVTDVNGDGRHDLVGGAPLYM (SEQ ID NO: 4) que corresponde a la secuencia de restos de aminoácidos 294-314 de GPIIb, o un fragmento o derivado de la misma que retiene la actividad de unión a fibrinógeno. Los fragmentos que se sabe que retienen la actividad de unión a fibrinógeno son TDVNGDGRHDL (296-306) (SEQ ID NO: 5), GDGRHDLVGGAPL (300-312) (SEQ ID NO: 6) y GAPL (SEQ ID NO: 7). Los derivados adecuados de TDVNGDGRHDL incluyen: T(D,E)VNG(D,E)GRH(D,E)L (SEQ ID NO: 8); TD(V,L)NGDGRHDL (SEQ ID NO: 9); TDV(N,Q)GDGRHDL (SEQ ID NO: 10); TDVNGDG(R,K)HDL (SEQ ID NO: 11).

30 El péptido de unión a fibrinógeno puede comprender la secuencia de restos 95-223 de GPIIIa, o un fragmento o derivado de la misma que retenga la actividad de unión a fibrinógeno. Por ejemplo, se cree que los restos 211 a 222, que comprenden la secuencia SVSRNRDAPEGG (SEQ ID NO: 12), que son un importante dominio de unión a fibrinógeno en GPIIIa. Otras regiones adecuadas de GPIIIa incluyen los restos 109-171 y 164-202.

35 El péptido de unión a fibrinógeno comprende la secuencia de restos que queda expuesta sobre el fibrinógeno por la acción de la trombina y que se une al fibrinógeno como la primera etapa en la reacción de polimerización para producir fibrina.

40 La trombina escinde péptidos (que liberan los fibrinopéptidos A y B) de los extremos N de las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  del fibrinógeno para exponer las secuencias  $\text{NH}_2$ -GPR-(SEQ ID NO: 13) y  $\text{NH}_2$ -GHR- (SEQ ID NO: 14), respectivamente. Por tanto, el péptido de unión a fibrinógeno comprende la secuencia de aminoácidos  $\text{NH}_2$ -G(P,H)RX-(SEQ ID NO: 15) en su extremo amino terminal, donde X es cualquier aminoácido y (P, H) significa que o prolina o histidina está presente en esa posición. Preferiblemente, el péptido comprende la secuencia  $\text{NH}_2$ -GPRP-(SEQ ID NO: 16) en su extremo amino terminal.

45 Preferiblemente, el péptido de unión a fibrinógeno es 4-30, más preferiblemente 4-10, restos de aminoácidos de longitud.

50 El precursor de unión a fibrinógeno no debe unirse al fibrinógeno de tal manera que las moléculas de fibrinógeno se unen entre sí a través de vehículos que tienen precursores de unión a fibrinógeno inmovilizados cuando los vehículos están en contacto con el fibrinógeno. Preferiblemente, la constante de disociación del precursor de unión a fibrinógeno para el fibrinógeno es superior a  $1 \times 10^6$  M. El precursor de unión a fibrinógeno puede ser un péptido o un análogo peptídico, pero es preferiblemente un péptido. El precursor de unión a fibrinógeno no debe ser fibrinógeno ni comprender fibrinógeno.

55 En algunos aspectos, el precursor de unión a fibrinógeno comprende un péptido de unión a fibrinógeno unido en su extremo amino terminal a un componente de bloqueo (preferentemente, un péptido) que bloquea o inhibe (es decir, reduce) la unión del fibrinógeno al péptido de unión a fibrinógeno. La escisión del precursor de unión a fibrinógeno mediante un agente de conversión (preferiblemente, un factor de coagulación tal como trombina) expone el péptido de unión a fibrinógeno unido al vehículo, convirtiendo de este modo el precursor de unión a fibrinógeno a un resto de unión a fibrinógeno. En tales formas de realización, el componente de bloqueo bloquea o inhibe la capacidad del péptido de unión a fibrinógeno de unirse al fibrinógeno hasta que se produce la escisión. Preferiblemente, el

componente de bloqueo es un péptido de 1-30 restos de aminoácidos de longitud.

Se apreciará que en tales aspectos el precursor de unión a fibrinógeno debe comprender un sitio de escisión que es reconocido específicamente por el agente de conversión y que se encuentra entre el péptido de unión a fibrinógeno y el componente de bloqueo. La trombina es un agente de conversión preferido. Sin embargo, se pueden usar otras serín proteasas o factores de coagulación para escindir el precursor de unión a fibrinógeno. Se sabe que la trombina es escinde enlaces peptídicos del extremo carboxi a los restos de arginina, y habitualmente entre los residuos de arginina y glicina.

10 En algunos aspectos, el precursor de unión a fibrinógeno es un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos NH<sub>2</sub>-ZYXR/GPRP- (SEQ ID NO: 17) en su extremo amino terminal, donde "/" representa un sitio de escisión de la trombina, y X es cualquier aminoácido, pero es, preferiblemente, prolina, Y es cualquier aminoácido, pero es, preferiblemente, ácido aspártico o alanina, y Z es al menos un aminoácido que es, preferiblemente, leucina o prolina. Son ejemplos: NH<sub>2</sub>-LVPR/GPRP- (SEQ ID NO: 18), NH<sub>2</sub>-ADPR/GPRP- (SEQ ID NO: 19), NH<sub>2</sub>-LDPR/GPRP- (SEQ ID NO: 20), o NH<sub>2</sub>-LVPR/GPRV- (SEQ ID NO: 21).

Los restos o precursores de unión a fibrinógeno se pueden unir al vehículo mediante cualquier medio adecuado, pero típicamente están unidos covalentemente. Los ejemplos de enlaces covalentes preferidos son un enlace disulfuro, un enlace tioéter, o un enlace amida. Un enlace covalente adecuado se puede formar cuando los restos o precursores de unión a fibrinógeno son péptidos que comprenden una cisteína y el vehículo comprende un grupo reactivo tiol. Esto permite que el péptido se una al vehículo a través de la unión del grupo -SH de la cisteína al grupo reactivo tiol sobre el vehículo. Preferiblemente, un grupo de cisteína terminal se incorpora en el péptido o péptido precursor de unión a fibrinógeno para reticular el péptido con un grupo reactivo tiol sobre el vehículo. Como alternativa, se puede formar un enlace covalente cuando el resto o precursor de unión a fibrinógeno es un péptido que comprende un grupo maleimida (preferiblemente en su extremo carboxi, por ejemplo unido a una lisina en el extremo carboxi del péptido), y el vehículo comprende un grupo sulfhidrilo. Después, el péptido puede unirse al vehículo mediante la reacción del grupo maleimida del péptido con el grupo sulfhidrilo del vehículo.

Normalmente se requerirá un espaciador entre los restos o precursores de unión a fibrinógeno y el vehículo para asegurar que la actividad de unión a fibrinógeno de los restos de unión a fibrinógeno (si es necesario, una vez convertidos a partir de los precursores de unión a fibrinógeno) no se ve afectada negativamente por el vehículo. Los espaciadores adecuados son péptidos o no péptidos, tales como polietilenglicol.

Cuando los restos o precursores de unión a fibrinógeno son péptidos que comprenden un péptido de unión a fibrinógeno, y los restos o precursores están unidos al vehículo insoluble mediante un resto de aminoácido terminal, una secuencia espaciadora está presente, preferiblemente, entre el resto de aminoácido terminal y el péptido de unión a fibrinógeno de los restos o precursores. La secuencia espaciadora puede tener, por ejemplo, 1-20, preferiblemente 5-20, restos de aminoácidos de longitud. Se prefiere la secuencia espaciadora GGGGGG (SEQ ID NO: 22) o GGGGG (SEQ ID NO: 23).

Se apreciará que el número de restos o precursores de unión a fibrinógeno por vehículo y las cantidades relativas de vehículo (con una pluralidad de restos o precursores de unión a fibrinógeno por vehículo) y el fibrinógeno necesario para la formación de un biogel (o adhesivo tisular) óptimo puede variar con diferentes preparaciones de vehículo y fibrinógeno. En consecuencia, puede ser necesario o deseable analizar cada nuevo lote de vehículo o fibrinógeno para determinar las cantidades relativas óptimas de vehículo y fibrinógeno que se va a utilizar para la formación de biogel.

Preferiblemente, cada vehículo tiene, de media, al menos cinco restos o precursores de unión a fibrinógeno por vehículo. En teoría, no hay límite superior para el número de restos o precursores de unión a fibrinógeno por vehículo. Es probable que el número óptimo dependa de muchos factores, tales como la naturaleza del vehículo, y el número de grupos reactivos en cada vehículo para la unión de restos o precursores de unión a fibrinógeno. Sin embargo, se prefiere que cada vehículo tenga, de media, hasta 100 restos o precursores de unión a fibrinógeno por vehículo. Un intervalo preferido es de 10-20 restos o precursores de unión a vehículo por vehículo.

Preferiblemente, la cantidad de fibrinógeno utilizada es tal que hay al menos un cuarto (preferiblemente al menos la mitad) del número de moles de fibrinógeno presentes en comparación con el número de moles de resto o precursor de unión a fibrinógeno. Preferiblemente, el número de moles de fibrinógeno con respecto al número de moles de resto o precursor de unión a fibrinógeno está en el intervalo 1: 4 a 4: 1.

Se pueden usar mediciones oscilatorias dinámicas para evaluar las propiedades viscoelásticas de un biogel formado de acuerdo con la invención. El almacenamiento (G') y el módulo de pérdida (G'') en los sólidos viscoelásticos miden la energía almacenada, lo que representa la parte elástica, y la energía disipada en forma de calor, que representa la parte viscosa. Tan delta es la relación entre el módulo de pérdida (G'') y el módulo de almacenamiento (G'). Por lo tanto, es una cuantificación de las contribuciones elásticas y viscosas, donde un valor por encima de 1 es indicativo de comportamiento viscoso similar a un líquido, y un valor inferior a 1 significa comportamiento elástico. Los biogeles de la invención tienen, preferiblemente, un valor de tan delta de menos de 1. Esto proporciona una indicación de que

los componentes del gel están reticulados. Tan delta se puede determinar con una frecuencia de 1 Hz y una deformación constante de 1 %. Los métodos adecuados para la medición de la tan delta se describen con más detalle en los ejemplos siguientes.

5 Los componentes de un kit de la invención se pueden almacenar por separado unos de otros, o algunos o todos los componentes del kit se pueden almacenar juntos a condición de que los componentes almacenados juntos no reaccionen entre sí. Para las realizaciones de la invención donde el kit comprende vehículos con restos de unión a fibrinógeno inmovilizados, se apreciará que el fibrinógeno se debe almacenar por separado de los vehículos de modo que no reaccione con los vehículos. Una ventaja importante de los kits que comprenden fibrinógeno y  
10 vehículos con precursores de unión a fibrinógeno inmovilizados que no se unen a fibrinógeno es que los vehículos y el fibrinógeno se pueden almacenar juntos.

Los componentes de un kit de la invención se pueden almacenar por separado unos de otros en un dispositivo (por ejemplo, una jeringa) para la liberación de los componentes en un tejido u otro sitio. El dispositivo puede disponerse de una manera tal que los componentes entran en contacto entre sí a medida que se liberan en el tejido o en otro sitio.  
15

Un kit de la invención puede incluir instrucciones sobre cómo usar los componentes del kit para producir un biogel o adhesivo tisular.  
20

Los kits de la invención tienen las ventajas de que no se requieren agentes tóxicos, el biogel (o adhesivo tisular) es fácil de producir utilizando los componentes de los kits y los componentes pueden almacenarse fácilmente en una condición estable. Se apreciará también que no hay ningún requisito de presencia de trombina (u otras enzimas) para la formación de un biogel o adhesivo tisular usando un kit de la invención. Los kits de la invención que no incluyen la trombina son particularmente ventajosos porque el riesgo de reacción alérgica a un biogel o adhesivo tisular formado utilizando tales kits es reducido en comparación con un biogel o adhesivo tisular formado usando trombina exógena. Una ventaja adicional de los kits de la invención que no incluyen trombina (u otras enzimas) es que no hay ningún requisito para almacenar los componentes del kit en condiciones que preserven la actividad enzimática.  
25

De acuerdo con algunos aspectos, los precursores de unión a fibrinógeno se pueden convertir en restos de unión a fibrinógeno mediante un agente de conversión que está presente en un sitio donde se administran los vehículos que tienen precursores de unión a fibrinógeno inmovilizados. Esto tiene la ventaja de que no es necesario que el agente de conversión sea parte del kit. En consecuencia, no es necesario almacenar los componentes del kit en condiciones que preserven la actividad del agente de conversión.  
30

Preferiblemente, el agente de conversión es un agente en el sitio de la herida. La expresión "agente en el sitio de la herida" se usa en el presente documento para querer decir un agente que está presente en un sitio de herida. En una realización preferida, el agente en el sitio de la herida es un factor de coagulación. Los ejemplos de factores de coagulación adecuados incluyen trombina, factor VIIa, factor Xa o factor XIa. Preferiblemente, el factor de coagulación es trombina.  
35

De acuerdo con otros aspectos, un kit puede comprender además un agente de conversión para convertir los precursores de unión a fibrinógeno a restos de unión a fibrinógeno. El agente de conversión debe separarse del vehículo. En tales realizaciones, el agente de conversión puede ser un agente que no se espera que esté presente en un sitio donde se han de administrar los vehículos. Como alternativa, el agente de conversión puede ser un agente que está presente en un sitio donde se administran los vehículos. El agente de conversión puede ser un factor de coagulación, tal como trombina, factor VIIa, factor Xa o factor XIa.  
40

Un kit de la invención que comprende vehículos con restos de unión a fibrinógeno inmovilizados puede comprender, además, un factor de coagulación. Un kit que comprende precursores de unión a fibrinógeno que se puede convertir en restos de unión a fibrinógeno mediante un factor de coagulación puede comprender un factor de coagulación que no convierte los precursores de unión a fibrinógeno en restos de unión a fibrinógeno. En tales realizaciones, el factor de coagulación (que no convierte los precursores de unión a fibrinógeno) puede proporcionarse como un componente separado del kit, o con el vehículo y / o fibrinógeno. El factor de coagulación puede estar inmovilizado en el vehículo, por ejemplo acoplado a cada precursor de unión a fibrinógeno.  
45

Cuando un kit de la invención comprende un factor de coagulación (por ejemplo, trombina), este es preferiblemente un factor de coagulación que es de secuencia humana, en lugar de no humana (tal como un factor de coagulación bovino) para reducir el riesgo de reacción alérgica al factor de coagulación.  
50

Un biogel o adhesivo tisular de la invención puede formarse antes de administrarse en un sitio del tejido, o *in situ* en un sitio de tejido, por ejemplo en un sitio de herida. El biogel o adhesivo tisular en un sitio de tejido comprende, preferentemente, vehículo administrado por vía tópica.  
55

65

Se apreciará que la trombina puede estar presente en un sitio de tejido donde se administra o se forma un biogel o adhesivo tisular de la invención. Por ejemplo, si el sitio del tejido es un sitio de herida con sangrado, es probable que haya trombina del huésped en el sitio de la herida. Por supuesto, la trombina puede estar presente, como alternativa o adicionalmente, si está provisto de un kit de la invención.

5 El uso de restos de unión a fibrinógeno que son capaces de unirse al fibrinógeno y, por separado, al monómero de fibrina y / o a la fibrina puede ser ventajoso si el biogel o adhesivo de la invención se forma en presencia de trombina o entra en contacto con la trombina una vez que se ha formado. Si hay trombina presente con fibrinógeno y vehículos que tienen restos de unión a fibrinógeno inmovilizados, la trombina convertirá al menos algunos del  
10 fibrinógeno en monómero de fibrina. Se apreciará que, en estas condiciones, se prefiere que los restos de unión a fibrinógeno también se unan a monómeros de fibrina de forma que los monómeros de fibrina formados por la trombina puedan unirse entre sí por los vehículos.

15 Si el biogel o adhesivo de la invención entra en contacto con la trombina una vez formado, puede ser ventajoso que el fibrinógeno unido a los restos de unión a fibrinógeno sea capaz de convertirse en monómero de fibrina y los restos de unión a fibrinógeno permanezcan unidos al monómero de fibrina. En estas circunstancias, los enlaces no covalentes formados entre el fibrinógeno y los restos de unión a fibrinógeno no serán alterados por la conversión del fibrinógeno en monómero de fibrina. También puede ser ventajoso que al menos algunos de los monómeros de fibrina unidos a restos de unión a fibrinógeno sean capaces de ensamblarse para formar fibrina al tiempo que  
20 permanecen unidos a los restos de unión a fibrinógeno. En estas circunstancias, el biogel o adhesivo tisular puede estar reforzado mediante la formación de fibrina.

25 Si hay trombina presente (por ejemplo, de un kit de la invención, o trombina del huésped en un sitio de herida), se prefiere que los vehículos y el fibrinógeno entren en contacto entre sí antes de contactar con la trombina, o que los vehículos, el fibrinógeno y la trombina entren en contacto entre sí sustancialmente al mismo tiempo

30 Si bien es posible que un biogel o adhesivo tisular puede formarse si la trombina y el fibrinógeno entran en contacto entre sí antes de entrar en contacto con los vehículos, se espera que esto sea menos útil que un biogel o adhesivo tisular formado poniendo en contacto los vehículos y el fibrinógeno entre sí antes que la trombina, o poniendo en contacto los vehículos, el fibrinógeno y la trombina entre sí sustancialmente al mismo tiempo. Esto es porque se espera que la trombina convierta las moléculas de fibrinógeno en monómeros de fibrina que a su vez se agregan para formar fibrina insoluble antes del contacto con los vehículos. Sin embargo, en algunas circunstancias puede ser adecuado formar un biogel o adhesivo tisular poniendo en contacto la trombina y el fibrinógeno antes que los  
35 vehículos, por ejemplo, si la trombina es inactiva hasta o después del contacto con los vehículos.

También se proporciona, de acuerdo con la invención, un método de formación de un biogel, que comprende poner en contacto una pluralidad de vehículos con moléculas de fibrinógeno y trombina, donde una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno están inmovilizados en el vehículo, y cada molécula de fibrinógeno puede unirse al menos a dos  
40 restos de unión a fibrinógeno, para formar un biogel donde los monómeros de fibrina están unidos a través de los vehículos mediante enlaces no covalentes entre los restos de unión a fibrinógeno y los monómeros de fibrinógeno.

45 También se proporciona, de acuerdo con la invención, un biogel que comprende monómeros de fibrina y una pluralidad de vehículos, teniendo cada vehículo una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno inmovilizados en cada vehículo, donde los monómeros de fibrina están unidos a través de los vehículos mediante enlaces no covalentes entre los restos de unión a fibrinógeno y los monómeros de fibrina.

50 Adicionalmente se proporciona, de acuerdo con la invención, un biogel que comprende monómeros de fibrina y una pluralidad de vehículos, teniendo cada vehículo una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno inmovilizados en cada vehículo, donde los monómeros de fibrina de la fibrina están unidos a través de los vehículos mediante enlaces no covalentes entre los restos de unión a fibrinógeno y los monómeros de fibrina.

En un aspecto preferido, el biogel es un adhesivo tisular.

55 Un kit de la invención puede comprender el factor XIII y, opcionalmente, iones de calcio y trombina para la activación del factor XIII en el factor XIIIa (si es así, los iones de calcio y la trombina deben estar separados del factor XIII). Como alternativa o adicionalmente, el factor XIIa puede estar presente en un sitio de tejido donde se administra o se forma un biogel o adhesivo tisular de la invención. Por ejemplo, si el sitio del tejido es un sitio de herida con sangrado, es probable que haya factor XIIIa del huésped en el sitio de la herida.

60 Si el factor XIIIa está en contacto con un biogel o adhesivo tisular de la invención que comprende fibrina, el biogel o adhesivo tisular puede reforzarse adicionalmente mediante la reacción del factor XIIIa con la fibrina para reticular covalentemente la fibrina.

65 También se proporciona según la invención un método para formar un biogel, que comprende: poner en contacto una pluralidad de vehículos con moléculas de fibrinógeno y trombina, donde una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno se inmovilizan en cada vehículo, y cada molécula de fibrinógeno se pueden unir al menos a dos restos

de unión, para formar un biogel que comprende fibrina donde los monómeros de fibrina de la fibrina están unidos entre sí a través de los vehículos mediante enlaces no covalentes entre los restos de unión a fibrinógeno y los monómeros de fibrina; y poner en contacto el biogel con el factor XIIIa de manera que los monómeros de fibrina de la fibrina se unen covalentemente mediante enlaces peptídicos.

5 Adicionalmente se proporciona, de acuerdo con la invención, un biogel que comprende monómeros de fibrina y una pluralidad de vehículos, teniendo cada vehículo una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno inmovilizados en cada vehículo, donde los monómeros de fibrina de la fibrina están unidos covalentemente mediante enlaces peptídicos y los monómeros de fibrina de la fibrina están unidos a través de los vehículos mediante enlaces no  
10 covalentes entre los restos de unión a fibrinógeno y los monómeros de fibrina.

En un aspecto preferido, el biogel es un adhesivo tisular.

15 Un kit de la invención puede comprender adicionalmente un promotor de la cicatrización de heridas. Los ejemplos adecuados incluyen factores de crecimiento, tales como el factor de crecimiento derivado de plaquetas. El promotor puede ser un componente separado del kit, o está inmovilizado en el vehículo.

20 Un kit de la invención puede comprender adicionalmente un agente antimicrobiano, por ejemplo un antibiótico. El agente antimicrobiano puede ser un componente separado del kit, o está inmovilizado en el vehículo.

25 Se apreciará que si los vehículos que tienen una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno inmovilizados en cada portadora se administran en un sitio del tejido donde hay fibrinógeno del huésped presente (por ejemplo, en un sitio de herida con sangrado), los vehículos reaccionarán con el fibrinógeno del huésped para formar un biogel o adhesivo tisular *in situ* en el sitio del tejido.

30 Del mismo modo, si los vehículos que tienen una pluralidad de precursores de unión a fibrinógeno inmovilizados en cada vehículo se administran en un sitio del tejido donde hay presentes un agente de conversión para convertir los precursores de unión a fibrinógeno a los restos de unión a fibrinógeno y el fibrinógeno del huésped (por ejemplo, en un sitio de herida con sangrado), los precursores de unión a fibrinógeno se convertirán en restos de unión a fibrinógeno, y, después, los vehículos reaccionarán con el fibrinógeno del huésped para formar un biogel o adhesivo tisular *in situ* en el lugar del tejido. Por ejemplo, los precursores de unión a fibrinógeno pueden convertirse en restos de unión a fibrinógeno mediante la trombina del huésped u otro factor de coagulación.

35 De acuerdo con lo anterior, se proporciona adicionalmente, de acuerdo con la invención, un biogel que comprende vehículos administrados por vía tópica, teniendo cada vehículo una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo y fibrinógeno endógeno, donde cada molécula de fibrinógeno endógeno se une al menos a dos restos de unión a fibrinógeno, de modo que las moléculas de fibrinógeno se unen entre sí a través de los vehículos mediante enlaces no covalentes entre los restos de unión a fibrinógeno y las moléculas de fibrinógeno endógeno.

40 La expresión "fibrinógeno endógeno" se usa en el presente documento para querer decir que el fibrinógeno del huésped, que está presente en un sitio donde se administran los vehículos. Normalmente, el fibrinógeno del huésped estará presente ya que la sangre del huésped está presente en el sitio de la herida.

45 También se proporciona, de acuerdo con la invención, el uso de un vehículo para la formación de un biogel, teniendo el vehículo una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo.

El biogel es, preferiblemente, un adhesivo tisular.

50 El vehículo puede usarse para la formación de un biogel o adhesivo tisular para la hemostasia, como sellador, para la liberación localizada de fármacos, o para ingeniería tisular.

55 La administración de un vehículo para formar un biogel o adhesivo tisular tiene la ventaja de que el riesgo de reacción alérgica del huésped se minimiza porque no hay ningún requisito de fibrinógeno o trombina exógenos, no se requieren agentes tóxicos, y el vehículo puede almacenarse fácilmente en una condición estable.

60 También se proporciona, de acuerdo con la invención, un método para controlar el sangrado en un sitio en el cual el fibrinógeno del huésped está presente, que comprende administrar tópicamente una pluralidad de vehículos en el sitio, donde cada vehículo tiene una pluralidad de de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo y las moléculas de fibrinógeno del huésped en el sitio se pueden unir al menos a dos de los restos de unión a fibrinógeno.

65 También se proporciona, de acuerdo con la invención, un método para controlar el sangrado en un sitio donde hay presentes fibrinógeno y factor de coagulación del huésped, que comprende administrar tópicamente una pluralidad de vehículos en el sitio, donde cada vehículo tiene una pluralidad de precursores de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo y los precursores de unión a fibrinógeno se pueden convertir en restos de unión a fibrinógeno mediante el factor de coagulación del huésped y las moléculas de fibrinógeno del huésped en el sitio se



pueden unir al menos a dos de los restos de unión a fibrinógeno.

5 Se proporciona adicionalmente de acuerdo con la invención el uso de una pluralidad de vehículos en la fabricación de un medicamento (por ejemplo, un biogel o adhesivo tisular) para controlar el sangrado, o para tratar o sellar una herida, donde cada vehículo tiene una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo.

También se proporciona, de acuerdo con la invención, el uso de una pluralidad de vehículos, teniendo cada vehículo una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo, para la formación de un biogel.

10 Se proporciona adicionalmente de acuerdo con la invención una pluralidad de vehículos para su uso (por ejemplo, como un biogel o adhesivo tisular) en el control del sangrado, o para tratar o sellar una herida, donde cada vehículo tiene una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo.

15 Los vehículos son solubles. Los vehículos pueden administrarse por vía tópica.

Una formulación tópica preferida del vehículo que tiene inmovilizados restos de unión a fibrinógeno o precursores de unión a fibrinógeno es una formulación líquida, preferiblemente en un tampón isotónico a pH fisiológico.

20 De acuerdo con la invención, se proporciona un agente para la formación de un biogel, comprendiendo el agente vehículo soluble, donde una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno están inmovilizados en cada vehículo.

25 Preferiblemente, el agente es adecuado para la administración tópica. Si el agente comprende vehículo soluble con una pluralidad de precursores de unión a fibrinógeno inmovilizados en cada vehículo, el agente puede ser adecuado para administración intravenosa.

30 El vehículo o el agente se pueden proporcionar como un componente de un kit. El kit puede comprender, además, un factor de coagulación, un promotor de la cicatrización de heridas, o un agente antimicrobiano. El factor de coagulación, el promotor de la cicatrización de heridas o el agente antimicrobiano pueden ser un componente separado del kit, o están inmovilizados en el vehículo. En algunas realizaciones preferidas, el factor de coagulación, el promotor de la cicatrización de heridas, o el agente antimicrobiano pueden ser parte del precursor de unión a fibrinógeno de tal manera que se liberan cuando el precursor de unión a fibrinógeno se convierte en un resto de unión a fibrinógeno.

35 Un kit de la invención puede ser un kit compartimentalizado, donde los componentes del kit que se desean mantener separados el uno del otro están contenidos en compartimientos o recipientes separados. Un kit de la invención puede incluir instrucciones para usar los componentes del kit para llevar a cabo un método de la invención.

40 El biogel o adhesivo tisular de la invención se puede administrar por vía tópica a un sitio de tejido, por ejemplo a la piel o al tejido mucoso. El biogel o adhesivo tisular de la invención puede usarse para hemostasia, como sellador, para la liberación localizada de fármacos o para ingeniería tisular.

45 El biogel o adhesivo tisular de la invención puede administrarse mediante la formación del gel o del adhesivo antes de contactar el gel o el adhesivo con el sitio de administración, o mediante la formación del gel o del adhesivo tisular en el sitio de administración.

50 También se ha apreciado que un agente que comprende vehículo soluble, donde una pluralidad de precursores de unión a fibrinógeno, cada uno de los cuales se puede convertir a un resto de unión a fibrinógeno, se inmovilizan en cada vehículo, puede administrarse por vía intravenosa, por ejemplo, para controlar el sangrado o para la administración de fármacos. Una formulación intravenosa preferida es una solución isotónica acuosa al 20 %. En una realización preferida, los precursores de unión a fibrinógeno pueden convertirse por acción de la trombina.

55 Se proporciona además un método de control de la hemorragia, que comprende administrar por vía intravenosa un agente que comprende vehículo soluble, donde una pluralidad de precursores de unión a fibrinógeno cada uno de los cuales se puede convertir a un resto de unión a fibrinógeno, se inmovilizan en cada vehículo.

60 Se proporciona además un método de administración de un fármaco a un sujeto, que comprende administrar por vía intravenosa un agente que comprende vehículo soluble al sujeto, donde una pluralidad de precursores de unión a fibrinógeno cada uno de los cuales se puede convertir en un resto de unión a fibrinógeno, se inmovilizan en cada vehículo y donde el vehículo comprende un fármaco o un fármaco está inmovilizado en el vehículo.

Por supuesto, las formulaciones tópicas o intravenosas deben ser estériles.

65 El biogel o adhesivo tisular de la invención pueden comprender además un promotor de la cicatrización de heridas o un agente antimicrobiano.

También se proporciona, de acuerdo con la invención, un método de control de la hemorragia, que comprende administrar tópicamente biogel o adhesivo tisular de la invención a un sitio de hemorragia.

5 También se proporciona, de acuerdo con la invención, un método de tratar o sellar una herida, que comprende administrar (preferentemente por vía tópica) biogel o adhesivo tisular de la invención a un sitio de herida.

También se proporciona, de acuerdo con la invención, un biogel o adhesivo tisular de la invención para su uso como medicamento.

10 Se proporciona adicionalmente, de acuerdo con la invención, el uso de un biogel o adhesivo tisular de la invención en la fabricación de un medicamento para controlar el sangrado, o para tratar o sellar una herida.

También se proporciona, de acuerdo con la invención, un biogel o adhesivo tisular de la invención para su uso en el control del sangrado o para su uso en el tratamiento o sellado de una herida.

15 Uso de un biogel o adhesivo tisular de la invención puede ser el uso tópico. Cuando el biogel o adhesivo tisular se forma con vehículo y restos de unión a fibrinógeno convertidos a partir de precursores de unión a fibrinógeno, el uso puede ser intravenoso.

20 Las realizaciones de la invención se describen ahora únicamente a modo de ejemplo.

De acuerdo con una primera realización preferida de la invención, una pluralidad de péptidos, comprendiendo cada uno una secuencia de unión a fibrinógeno del extremo amino terminal (por ejemplo, péptidos de secuencia GPRPGGGGGGC (SEQ ID NO: 24)) están unidos en sus extremos carboxi terminal a un vehículo, que es una proteína soluble (tal como albúmina). Un biogel se forma poniendo en contacto el vehículo unido a péptido con fibrinógeno. El biogel puede administrarse después por vía tópica como vendaje en una herida.

De acuerdo con una segunda realización preferida de la invención, el vehículo unido a péptido de la primera realización preferida y el fibrinógeno se mezclan a un sitio de herida para formar un biogel *in situ*.

De acuerdo con una segunda realización preferida de la invención, el vehículo unido a péptido de la primera realización preferida y el fibrinógeno se mezclan a un sitio de herida para formar un biogel *in situ*.

De acuerdo con una cuarta realización preferida (no de acuerdo con la invención), una pluralidad de péptidos, comprendiendo cada uno una secuencia de unión a fibrinógeno acoplada en su extremo amino terminal a una secuencia peptídica de bloqueo (por ejemplo, péptidos de secuencia LVPRGPRPGGGGGGC (SEQ ID NO: 25)) están unidos en sus extremos carboxi terminales a un vehículo, que es una proteína soluble (tal como albúmina). El vehículo unido al péptido se puede combinar con el fibrinógeno y luego se aplica a una herida como una sola mezcla. La trombina del huésped presente en el sitio de la herida escinde los péptidos para liberar los péptidos de bloqueo y exponer la secuencia de unión a fibrinógeno. El vehículo con la secuencia de unión a fibrinógeno expuesta reacciona con el fibrinógeno para formar un biogel *in situ*.

Como alternativa, el vehículo unido al péptido de la cuarta realización preferida se puede administrar por vía intravenosa. La trombina del huésped en el sitio de una herida escinde los péptidos para liberar los péptidos de bloqueo y exponer la secuencia de unión a fibrinógeno. El vehículo con secuencias de unión a fibrinógeno expuestas reacciona con el fibrinógeno del huésped para controlar el sangrado en el lugar de la herida.

El biogel de las cuatro realizaciones preferidas descritas anteriormente puede ser un adhesivo tisular.

50 Puede usarse polietilenglicol (PEG) ramificado o cualquier otro polímero biocompatible en lugar del vehículo proteico soluble en cualquiera de las realizaciones preferidas anteriores.

Un factor de coagulación se puede inmovilizar en el vehículo en cualquiera de las realizaciones preferidas anteriores, siempre que cuando los precursores de unión a fibrinógeno están inmovilizados en el vehículo, el factor de coagulación no convertirá los precursores de unión a fibrinógeno en restos de unión a fibrinógeno.

El vehículo puede comprender además un promotor de la cicatrización de heridas (por ejemplo, un factor de crecimiento, tal como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas) en cualquiera de las realizaciones preferidas anteriores.

60 Los aspectos se definen en los párrafos numerados siguientes.

1. Un kit para la formación de un biogel, que comprende: una pluralidad de vehículos, teniendo cada vehículo una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo; y, por separado, fibrinógeno, donde cada molécula de fibrinógeno se puede unir al menos dos restos de unión a fibrinógeno.

- 5
2. Un kit para la formación de un biogel, que comprende una pluralidad de vehículos, teniendo cada vehículo una pluralidad de precursores de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo, donde cada precursor de unión a fibrinógeno se puede convertir en un resto de unión a fibrinógeno; y fibrinógeno, donde cada molécula de fibrinógeno se puede unir al menos a dos restos de unión a fibrinógeno.
- 10
3. Un kit de acuerdo con el párrafo 2, donde los precursores de unión a fibrinógeno pueden convertirse mediante un agente de sitio de herida a los restos de unión a fibrinógeno.
4. Un kit de acuerdo con el párrafo 3, donde el agente del sitio de la herida es un factor de coagulación.
5. Un kit de acuerdo con el párrafo 4, que comprende, además, un factor de coagulación que no convierte los precursores de la unión a fibrinógeno en restos de unión del fibrinógeno.
- 15
6. Un kit de acuerdo con el párrafo 5, donde cada precursor de unión a fibrinógeno está acoplado al factor de coagulación.
7. Un kit de acuerdo con el párrafo 2, que además comprende un agente de conversión para convertir los precursores de unión a fibrinógeno a restos de unión a fibrinógeno.
- 20
8. Un kit de acuerdo con el párrafo 7, donde el agente de conversión es un agente del sitio de la herida.
9. Un kit de acuerdo con el párrafo 8, donde el agente del sitio de la herida es un factor de coagulación.
- 25
10. Un kit de acuerdo con el párrafo 9, que comprende, además, un factor de coagulación que no convierte los precursores de la unión a fibrinógeno en restos de unión del fibrinógeno.
11. Un kit de acuerdo con el párrafo 1, que comprende además un factor de coagulación.
- 30
12. Un kit de acuerdo con cualquier párrafo numerado anterior, que comprende además un promotor de la cicatrización de heridas o un agente antimicrobiano.
13. Un kit de acuerdo con cualquier párrafo numerado anterior, donde el vehículo es un vehículo soluble.
- 35
14. Un kit de acuerdo con cualquier párrafo numerado anterior, donde el vehículo comprende un polímero biocompatible.
15. Un kit de acuerdo con cualquier párrafo numerado anterior para la formación de un adhesivo tisular.
- 40
16. Un agente para la formación de un biogel, comprendiendo el agente vehículo soluble, donde una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno, o una pluralidad de precursores de unión a fibrinógeno de cada uno de los cuales se puede convertir en un resto de unión a fibrinógeno, están inmovilizados en cada vehículo.
- 45
17. Un agente para la formación de un biogel, comprendiendo el agente vehículo insoluble que tiene una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno, o una pluralidad de precursores de unión a fibrinógeno de cada uno de los cuales se puede convertir en un resto de unión a fibrinógeno, están inmovilizados en cada vehículo, donde el agente está en forma de un polvo formado de una forma distinta a liofilización.
- 50
18. Un agente de acuerdo con el párrafo 16 o 17, donde los precursores de unión a fibrinógeno pueden convertirse mediante un agente del sitio de herida a los restos de unión a fibrinógeno.
19. Un agente de acuerdo con el párrafo 18, donde el agente del sitio de la herida es un factor de coagulación.
20. Un agente de acuerdo con cualquiera de los párrafos 16 a 19 para la formación de un adhesivo tisular.
- 55
21. Un biogel, que comprende moléculas de fibrinógeno y una pluralidad de vehículos, donde cada vehículo tiene una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo, y cada molécula de fibrinógeno se une al menos a dos restos de unión a fibrinógeno, de modo que las moléculas de fibrinógeno se unen entre sí a través de los vehículos mediante enlaces no covalentes entre los restos de unión a fibrinógeno y las moléculas de fibrinógeno.
- 60
22. Un biogel que comprende monómeros de fibrina y una pluralidad de vehículos, donde cada vehículo tiene una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo y los monómeros de fibrina están unidos a través de los vehículos mediante enlaces no covalentes entre los restos de unión a fibrinógeno y los monómeros de fibrina.
- 65
23. Un biogel que comprende monómeros de fibrina y una pluralidad de vehículos, teniendo cada vehículo una

pluralidad de restos de unión a fibrinógeno inmovilizados en cada vehículo, donde los monómeros de fibrina de la fibrina están unidos covalentemente mediante enlaces peptídicos y los monómeros de fibrina de la fibrina están unidos a través de los vehículos mediante enlaces no covalentes entre los restos de unión a fibrinógeno y los monómeros de fibrina.

5

24. Un biogel de acuerdo con cualquiera de los párrafos 21 a 23 que es un adhesivo tisular.

10

25. Un método de formación de un biogel, que comprende poner en contacto las moléculas de fibrinógeno con una pluralidad de vehículos, donde cada vehículo tiene una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo, y cada molécula de fibrinógeno pueden unirse al menos a dos restos de unión a fibrinógeno, de modo que las moléculas de fibrinógeno se unen entre sí a través de los vehículos mediante la formación de enlaces no covalentes entre los restos de unión a fibrinógeno y las moléculas de fibrinógeno.

15

26. Un método de formación de un biogel, que comprende: proporcionar una pluralidad de vehículos, comprendiendo cada vehículo una pluralidad de precursores de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo; convertir los precursores de unión a fibrinógeno en restos de unión a fibrinógeno; y poner en contacto las moléculas de fibrinógeno con los restos de unión a fibrinógeno, donde cada molécula de fibrinógeno se puede unir al menos a dos restos de unión a fibrinógeno, de modo que las moléculas de fibrinógeno se unen entre sí a través de los vehículos mediante la formación de enlaces no covalentes entre los restos de unión a fibrinógeno y las moléculas de fibrinógeno.

20

25

27. Un método de formación de un biogel, que comprende poner en contacto una pluralidad de vehículos con moléculas de fibrinógeno y trombina, donde una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno están inmovilizados en el vehículo, y cada molécula de fibrinógeno puede unirse al menos a dos restos de unión a fibrinógeno, para formar un biogel donde los monómeros de fibrina están unidos a través de los vehículos mediante enlaces no covalentes entre los restos de unión a fibrinógeno y los monómeros de fibrinógeno.

30

28. Un método de formación de un biogel, que comprende poner en contacto una pluralidad de vehículos con moléculas de fibrinógeno y trombina, donde una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno se inmovilizan en cada vehículo, y cada molécula de fibrinógeno se puede unir al menos a dos restos de unión, para formar un biogel que comprende fibrina donde los monómeros de fibrina de la fibrina están unidos entre sí a través de los vehículos mediante enlaces no covalentes entre los restos de unión a fibrinógeno y los monómeros de fibrina; y poner en contacto el biogel con el factor XIIIa de manera que los monómeros de fibrina de la fibrina se unen covalentemente mediante enlaces peptídicos.

35

29. Un método de formación de un agente en polvo para su uso en la formación de un biogel, comprendiendo el agente vehículo que tiene una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno o precursores de la unión a fibrinógeno inmovilizados en cada vehículo, donde el método comprende secar por pulverización una suspensión del agente.

40

30. Un método de acuerdo con cualquiera de los párrafos 25 a 29, donde el biogel es un adhesivo tisular.

45

31. Un método para controlar el sangrado en un sitio en el cual el fibrinógeno del huésped está presente, que comprende administrar tópicamente una pluralidad de vehículos en el sitio, donde cada vehículo tiene una pluralidad de de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo y las moléculas de fibrinógeno del huésped en el sitio se pueden unir al menos a dos de los restos de unión a fibrinógeno.

50

32. Un método para controlar el sangrado en un sitio donde hay presentes fibrinógeno y factor de coagulación del huésped, que comprende administrar tópicamente una pluralidad de vehículos en el sitio, donde cada vehículo tiene una pluralidad de precursores de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo y los precursores de unión a fibrinógeno se pueden convertir en restos de unión a fibrinógeno mediante el factor de coagulación del huésped y las moléculas de fibrinógeno del huésped en el sitio se pueden unir al menos a dos de los restos de unión a fibrinógeno.

55

33. Un método de control del sangrado, que comprende administrar tópicamente un biogel de acuerdo con cualquiera de los párrafos 21 a 24 a un sitio de sangrado.

60

34. Un método de tratamiento o de sellado de una herida, que comprende administrar tópicamente un biogel de acuerdo con cualquiera de los párrafos 21 a 24, o una pluralidad de vehículos, teniendo cada vehículo una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno o precursores de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo, a un sitio de herida.

65

35. Un método de control de la hemorragia, que comprende administrar por vía intravenosa un agente que comprende vehículo soluble, donde una pluralidad de precursores de unión a fibrinógeno cada uno de los cuales se puede convertir a un resto de unión a fibrinógeno, se inmovilizan en cada vehículo.

36. Uso de una pluralidad de vehículos, teniendo cada vehículo una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno o

precursores de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo, para la formación de un biogel.

37. Uso de acuerdo con el párrafo 36 en hemostasia, como sellador, para la liberación localizada de fármacos, o para ingeniería tisular.

38. Uso de acuerdo con el párrafo 36 o 37, para la formación de un adhesivo tisular.

39. Uso de un biogel de acuerdo con cualquiera de los párrafos 21 a 24 en hemostasia, como sellador, para la liberación localizada de fármacos, o para ingeniería tisular.

40. Un biogel de acuerdo con cualquiera de los párrafos 21 a 24, o un agente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 16 a 20, para su uso como medicamento.

41. Uso de un biogel de acuerdo con cualquiera de los párrafos 21 a 24, o un agente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 16 a 20, en la fabricación de un medicamento para controlar el sangrado, o para tratar o sellar una herida.

42. Uso de una pluralidad de vehículos en la fabricación de un biogel para controlar el sangrado, o para tratar o sellar una herida, donde cada vehículo tiene una pluralidad de restos de unión a fibrinógeno o precursores de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo.

Realizaciones preferidas adicionales de la invención se describen en los ejemplos siguientes con referencia a las figuras adjuntas, donde:

La Figura 1, que muestra esquemáticamente: (a) un vehículo de albúmina tiene una pluralidad de péptidos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo; (b) una molécula de fibrinógeno; y (c) un biogel donde las moléculas de fibrinógeno están unidas entre sí a través de los vehículos mediante enlaces no covalentes entre los péptidos de unión a fibrinógeno y las moléculas de fibrinógeno;

La Figura 2 muestra un gráfico del almacenamiento (cuadrados) y el módulo de pérdida (triángulos) contra el porcentaje de deformación en una mezcla de 25 ul de HSA modificada con péptido y fibrinógeno a 32 mg / ml a 20 °C (A) y a 37 °C (B);

La Figura 3 muestra el módulo de almacenamiento (cuadrados) y la viscosidad compleja (triángulos) frente a la frecuencia a 20 °C (con 1 % de amplitud de la deformación), para 25 ul de HSA modificada con péptido mezclado con fibrinógeno a 32 mg / ml; y

La Figura 4 muestra una fotografía de una solución de fibrinógeno antes (a) y después (b) de la adición de HSA modificada con péptido.

### Ejemplo 1

#### Formación de un biogel o adhesivo tisular usando fibrinógeno y péptidos de unión a fibrinógeno inmovilizados en un vehículo que comprenden seroalbúmina humana

La seroalbúmina humana (HAS) se hizo reaccionar con un exceso molar por 40 del enlazador succinimidil-4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato (SMCC) a pH 7,4. La proteína modificada (HSA-SMCC) se purificó y se determinó que, de media, un mol de HSA se modificaba con 18 moles de SMCC. O el péptido GPRPGGGGGGC (B10; SEQ ID NO: 24) o LVPRGPRPGGGGGGC (TC-15; SEQ ID NO: 25) se añadieron a HSA-SMCC a un exceso molar de 1,5 moles en relación con los restos de maleimida. La proteína HSA modificada con péptido se purificó después a partir del péptido sin reaccionar y se almacenó a -80 °C a 7 mg / ml. El fibrinógeno humano liofilizado se solubilizó en agua a 16 mg / ml como describe el proveedor (Servicio Nacional Escocés de de Transfusiones de Sangre).

Se añadió HSA modificada por péptido (5 µl) a 0,3 ml de solución de fibrinógeno, se observó un gel instantáneo para B10-HSA, mientras que para TC-15 no se observó gel. Se sabe que la secuencia del péptido GPRP expuesta se une al bolsillo "a" dentro de la región carbonilo de los dos dominios distales (D) del fibrinógeno (Figura 1b). Se cree que la HSA modificada con múltiples secuencias de GPRP expuestas (B10) actúa como un punto de ramificación para la polimerización de fibrinógeno (Figura 1c). El gel se forma en ausencia de trombina.

### Métodos para los ejemplos 2-5

#### Síntesis de HSA modificada por péptido

La seroalbúmina humana (HSA) a 10 mg / ml se hizo reaccionar con un exceso molar de 5, 10, 20 o 40 veces del enlazador sulfosuccinimidil-4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato (sulfo-SMCC) a pH 7,4 con un volumen total de 0,7 ml. La proteína modificada (HSA-SMCC) se purificó mediante una columna de espín Zebra™ Desalt Spin Column (Pierce, Rockford, IL) y se determinó que, de media, un mol de HSA se modificaba con 5, 8, 16 o 18 moles de sulfo-SMCC, respectivamente. Para determinar el número de grupos maleimida unidos por molécula de HSA, una

muestra de 3 nmoles de HSA se incubó con una cantidad conocida de cisteína (100 nmoles) en tampón a temperatura ambiente durante 30 minutos. A continuación, la cisteína restante se hizo reaccionar con 1 mmol de 5, 5-ditiobis (2-nitrobenzoato) (DTNB) durante 20 minutos y se midió la  $A_{412}$ . El nivel de maleimida se calculó comparando la absorbancia de las muestras de control y de proteínas. O el péptido GPRPGGGGGGC (B10; SEQ ID NO: 24) o LVPRGPRPGGGGGGC (TC-15; SEQ ID NO: 25) se añadieron a HSA-SMCC a un exceso molar de 1,5 moles en relación con los restos de maleimida. La proteína HSA modificada con péptido se purificó después a partir del péptido sin reaccionar usando una columna Zebra™ Desalt Spin Column (Pierce, Rockford, IL) y se almacenó a -80 °C a 7 mg / ml. El fibrinógeno humano liofilizado (Servicio Nacional Escocés de Transfusiones de Sangre, Edimburgo, Escocia) se solubilizó en agua a las 8, 16, 32 y 64 mg / ml. La concentración de fibrinógeno y albúmina se determinó a partir de la absorbancia a 280 nm ( $A_{280}$ ) usando un factor de conversión del 1 % de fibrinógeno  $E_{280} = 15$  y 1 % de HSA  $E_{280} = 13,8$ .

### Caracterización reológica

Se usaron mediciones oscilatorias dinámicas para evaluar las propiedades viscoelásticas de los geles. La mezcla se dejó equilibrar a temperatura ambiente durante la noche y el gel se transfirió a la placa inferior de un reómetro Physica MCR-501 (Anton Paar, Alemania) con un cono y placa de 25 mm de diámetro y un ángulo de cono 1°. Las pruebas se realizaron a 20 o 37 ± °C en una atmósfera humidificada. Se realizaron barridos de frecuencia entre 0,01 y 50 Hz con una amplitud de deformación constante de 1 %. Los parámetros reológicos examinados se procesaron con el software dedicado Anton Paar proporcionado con el reómetro.

### Ejemplo 2 Influencia de la cantidad de HSA modificada por péptido y la concentración de fibrinógeno sobre la formación de gel

La polimerización de fibrinógeno se controló inicialmente visualmente después de la mezcla de fibrinógeno con soluciones de HSA. La HSA modificada con péptido modificada con 5, 8, 16 o 18 moles de péptido de unión a fibrinógeno se conjugó con un mol de HSA. Una muestra de 25 ul de la HSA modificada con péptido o HSA sin modificar se mezcló con 0,2 ml de fibrinógeno a 8, 16, 32 o 64 mg / ml. La formación de un gel se determinó visualmente después de 0,5 horas a temperatura ambiente. Para la HSA no modificada o la HSA modificada con 5 u 8 moles de péptido no se observó formación de gel a todas las concentraciones de fibrinógeno analizadas. La polimerización se observó solo a 32 o 64 mg / ml de fibrinógeno con HSA modificada con péptido con 16 o 18 moles de péptido de unión.

La Figura 4 muestra una fotografía de la solución de fibrinógeno (0,2 ml de 32 mg / ml de fibrinógeno) antes (a) y después (b) de la adición de HSA modificada por péptido (25 µl, 18 moles de péptido). El biogel formado de acuerdo con la invención se muestra en (b).

### Ejemplo 3 Influencia de la cantidad de HSA modificada con péptido

Para determinar el efecto de la cantidad de HSA modificada con péptido y de fibrinógeno sobre las propiedades reológicas de las mezclas, las mediciones de resistencia a la cizalladura se determinaron con 25 o 50 ul de HSA modificada con péptido con fibrinógeno a 32 y 64 mg / ml. Para este experimento se usó HSA modificada con péptido que se modificó con 16 moles de péptido de unión por mol de HSA. Para asegurarse de que los experimentos oscilatorios dinámicos se realizaban dentro del límite de deformación viscoelástica lineal del gel se realizó un barrido de deformación. La Figura 2 muestra los barridos de deformación a 20 y 37 °C para 25 ul de HSA modificada con péptido mezclada con fibrinógeno a 32 mg / ml. Tanto el módulo de almacenamiento ( $G'$ ) como el módulo de pérdida ( $G''$ ) aparecieron estables en todo el intervalo y se seleccionó una deformación constante de 1 % con en este intervalo de viscoelástica lineal. Los barridos de frecuencia demostraron un valor de  $G'$  que era mayor que  $G''$ , que es indicativo de una red reticulada (Tabla 1). Los valores que se muestran en esta tabla se toman a una frecuencia de 1 Hz. Tan delta es la relación entre el módulo de pérdida y el módulo de almacenamiento. Por lo tanto, es una cuantificación de las contribuciones elásticas y viscosas, donde un valor por encima de 1 es indicativo de comportamiento viscoso similar a un líquido, y por debajo de 1 significa comportamiento elástico. La viscosidad compleja  $\eta^*$ , definida como el módulo complejo  $G^*$  dividido por la frecuencia angular ( $\omega$ ), se determinaron en las mismas condiciones. Parece que en estas condiciones, la cantidad de HSA modificada por péptido y de fibrinógeno no influye en gran medida sobre la resistencia mecánica del gel.

Tabla 1:

| Fibrinógeno (mg/ml)               | 32   |      | 64   |     |
|-----------------------------------|------|------|------|-----|
| HSA modificada por péptido (ul)   | 25   | 50   | 25   | 50  |
| Módulo de almacenamiento ( $G'$ ) | 432  | 439  | 421  | 588 |
| Viscosidad compleja ( $\eta^*$ )  | 88   | 70   | 77   | 94  |
| Tan delta                         | 0,22 | 0,11 | 0,24 | 0,2 |

Un lote diferente de HSA modificada con péptido con 18 péptidos unidos por HSA (25 ul) con 32 mg / ml de fibrinógeno mostró  $G'$  de 5200, la viscosidad compleja de 820 y tan delta 0,105.

**Ejemplo 4 Influencia de la temperatura sobre las propiedades reológicas**

Investigaciones del efecto de la temperatura sobre un gel son importantes para aplicaciones del producto cuando se utilizan a la temperatura corporal quirúrgica o cuando se aplican tópicamente. Los investigadores evaluaron la resistencia mecánica del gel a 20 y 37 °C y los valores dados en la Tabla 2 se realizan a una frecuencia de 1 Hz. El aumento de la temperatura del gel generada a partir de fibrinógeno a 32 mg / ml y 25 ul de HSA modificada con 16 moles de péptido dio como resultado tanto una disminución de G' como de la viscosidad compleja (Tabla 2). Tanto a 20 como 37 °C, la tan delta estaba por debajo de 1, por lo tanto, una estructura de red reticulada (no covalente) se mantiene a 37 °C.

Tabla 2:

|                                  |      |      |
|----------------------------------|------|------|
| Temperatura (°C)                 | 20   | 37   |
| Módulo de almacenamiento (G')    | 432  | 109  |
| Viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) | 88   | 21   |
| Tan delta                        | 0,22 | 0,72 |

**Ejemplo 5 Formación de gel en plasma humano**

La investigación de si la HSA modificada con péptido podría polimerizar el fibrinógeno en el plasma humano es importante para las aplicaciones del producto como cola / adhesivo quirúrgico. La HSA modificada con péptido (75 ul) modificada con 18 moles de péptido se mezcló con 0,8 ml de plasma combinado humano. La reología en el gel derivado de plasma se realizó a 37 °C y dio un valor de G' de 6100 con una tan delta de 0,104. A partir de este resultado se concluyó que la HSA modificada con péptido puede polimerizar el fibrinógeno en el plasma humano resultante a una estructura de red reticulada (no covalente) a 37 °C.

## REIVINDICACIONES

1. Un biogel que comprende moléculas de fibrinógeno y una pluralidad de vehículos solubles, donde cada vehículo tiene una pluralidad de péptidos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo, donde cada péptido de unión a fibrinógeno comprende la secuencia de aminoácidos NH<sub>2</sub>-G (P, H) RX- (SEQ ID NO: 15) en su extremo amino terminal, donde X es cualquier aminoácido, y (P,H) significa que o bien prolina o histidina están presentes en esa posición, y cada molécula de fibrinógeno está unida a al menos dos péptidos de unión a fibrinógeno, de modo que las moléculas de fibrinógeno están unidas entre sí a través de los vehículos mediante enlaces no covalentes entre los péptidos de unión a fibrinógeno y las moléculas de fibrinógeno.
2. Un kit para la formación de un biogel de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende: una pluralidad de vehículos solubles, teniendo cada vehículo una pluralidad de péptidos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo, y, por separado, fibrinógeno, donde cada péptido de unión a fibrinógeno comprende la secuencia de aminoácidos NH<sub>2</sub>-G (P, H) RX- (SEQ ID NO: 15) en su extremo amino terminal, donde X es cualquier aminoácido, y (P,H) significa que o bien prolina o bien histidina están presentes en esa posición, y cada molécula de fibrinógeno se puede unir a al menos dos péptidos de unión a fibrinógeno, de modo que cuando los péptidos de unión a fibrinógeno entran en contacto con el fibrinógeno, cada molécula de fibrinógeno se une a al menos dos de los péptidos de unión a fibrinógeno, lo que resulta en la formación de un biogel donde las moléculas de fibrinógeno están unidas entre sí a través de los vehículos mediante enlaces no covalentes entre las moléculas de fibrinógeno y los péptidos de unión a fibrinógeno.
3. Un agente para la formación de un biogel de acuerdo con la reivindicación 1, comprendiendo el agente vehículo soluble, donde una pluralidad de péptidos de unión a fibrinógeno están inmovilizados en cada vehículo, donde cada péptido de unión a fibrinógeno comprende la secuencia de aminoácidos NH<sub>2</sub>-G(P, H) RX- (SEQ ID NO: 15) en su extremo amino terminal, donde X es cualquier aminoácido, y (P,H) significa que o bien prolina o histidina están presentes en esa posición, de forma que cuando el agente entra en contacto con fibrinógeno, cada molécula de fibrinógeno se une a al menos dos péptidos de unión a fibrinógeno, lo que da lugar a la formación de un biogel donde las moléculas de fibrinógeno están unidas entre sí a través de los vehículos mediante enlaces no covalentes entre las moléculas de fibrinógeno y los péptidos de unión a fibrinógeno.
4. Un método de formación de un biogel de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende poner en contacto moléculas de fibrinógeno con una pluralidad de vehículos solubles, donde cada vehículo tiene una pluralidad de péptidos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo, donde cada péptido de unión a fibrinógeno comprende la secuencia de aminoácidos NH<sub>2</sub>-G (P, H) RX- (SEQ ID NO: 15) en su extremo amino terminal, donde X es cualquier aminoácido, y (P,H) significa que o bien prolina o histidina están presentes en esa posición, y cada molécula de fibrinógeno se puede unir a al menos dos restos de unión a fibrinógeno, de modo que las moléculas de fibrinógeno se unen entre sí a través de los vehículos mediante la formación de enlaces no covalentes entre los péptidos de unión a fibrinógeno y las moléculas de fibrinógeno.
5. Un biogel que comprende moléculas de fibrinógeno y una pluralidad de vehículos solubles, donde cada vehículo tiene una pluralidad de péptidos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo, donde cada péptido de unión a fibrinógeno comprende la secuencia de aminoácidos NH<sub>2</sub>-G (P, H) RX- (SEQ ID NO: 15) en su extremo amino terminal, donde X es cualquier aminoácido y (P, H) significa que o prolina o histidina está presente en esa posición.
6. Uso de un biogel de acuerdo con la reivindicación 1 o uso de una pluralidad de vehículos solubles como se define en la reivindicación 5 para la formación de un biogel, como sellador, para la liberación localizada de fármacos, o para la ingeniería tisular.
7. Un biogel de acuerdo con la reivindicación 1, o un agente de acuerdo con la reivindicación 3, para su uso como medicamento.
8. Uso de un biogel de acuerdo con la reivindicación 1 o un agente de acuerdo con la reivindicación 3, en la fabricación de un medicamento para controlar el sangrado, o para tratar o sellar una herida.
9. Un biogel de acuerdo con la reivindicación 1, o un agente de acuerdo con la reivindicación 3, para su uso en el control de sangrado, o para su uso en el tratamiento o sellado de una herida.
10. Uso de una pluralidad de vehículos solubles en la fabricación de un biogel para controlar el sangrado o para tratar o sellar una herida, donde cada vehículo tiene una pluralidad de péptidos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo, y donde cada péptido de unión a fibrinógeno comprende la secuencia de aminoácidos NH<sub>2</sub>-G (P, H) RX- (SEQ ID NO: 15) en su extremo amino terminal, donde X es cualquier aminoácido y (P, H) significa que o prolina o histidina está presente en esa posición.
11. Una pluralidad de vehículos solubles para su uso en el control del sangrado o para tratar o sellar una herida, donde cada vehículo tiene una pluralidad de péptidos de unión a fibrinógeno inmovilizados en el vehículo, y donde cada péptido de unión a fibrinógeno comprende la secuencia de aminoácidos NH<sub>2</sub>-G (P, H) RX- (SEQ ID NO: 15) en



su extremo amino terminal, donde X es cualquier aminoácido y (P, H) significa que o prolina o histidina está presente en esa posición.

5 12. Un biogel de acuerdo con la reivindicación 1, un kit de acuerdo con la reivindicación 2 o un agente de acuerdo con la reivindicación 3, donde cada péptido de unión a fibrinógeno comprende la secuencia de aminoácidos NH<sub>2</sub>-GPRP (SEQ ID NO: 16) en su extremo amino terminal.

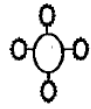
10 13. Un biogel de acuerdo con la reivindicación 1, un kit de acuerdo con la reivindicación 2 o un agente de acuerdo con la reivindicación 3, o un biogel, kit o agente de acuerdo con la reivindicación 12, donde cada péptido de unión a fibrinógeno tiene 4-10 aminoácidos de longitud.

15 14. Un biogel de acuerdo con la reivindicación 1, un kit de acuerdo con la reivindicación 2, un agente de acuerdo con la reivindicación 3, o un biogel, kit o agente de acuerdo con la reivindicación 12 o 13, donde un espaciador de polietilenglicol está presente entre cada vehículo y cada péptido de unión a fibrinógeno inmovilizado en el vehículo.

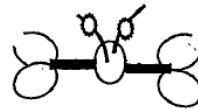
15 15. Un biogel de acuerdo con la reivindicación 1, un kit de acuerdo con la reivindicación 2, un agente de acuerdo con la reivindicación 3, o un biogel, kit o agente de acuerdo con la reivindicación 12 a 14, donde cada vehículo es un vehículo de albúmina.

Figura 1

(a)



(b)



(c)

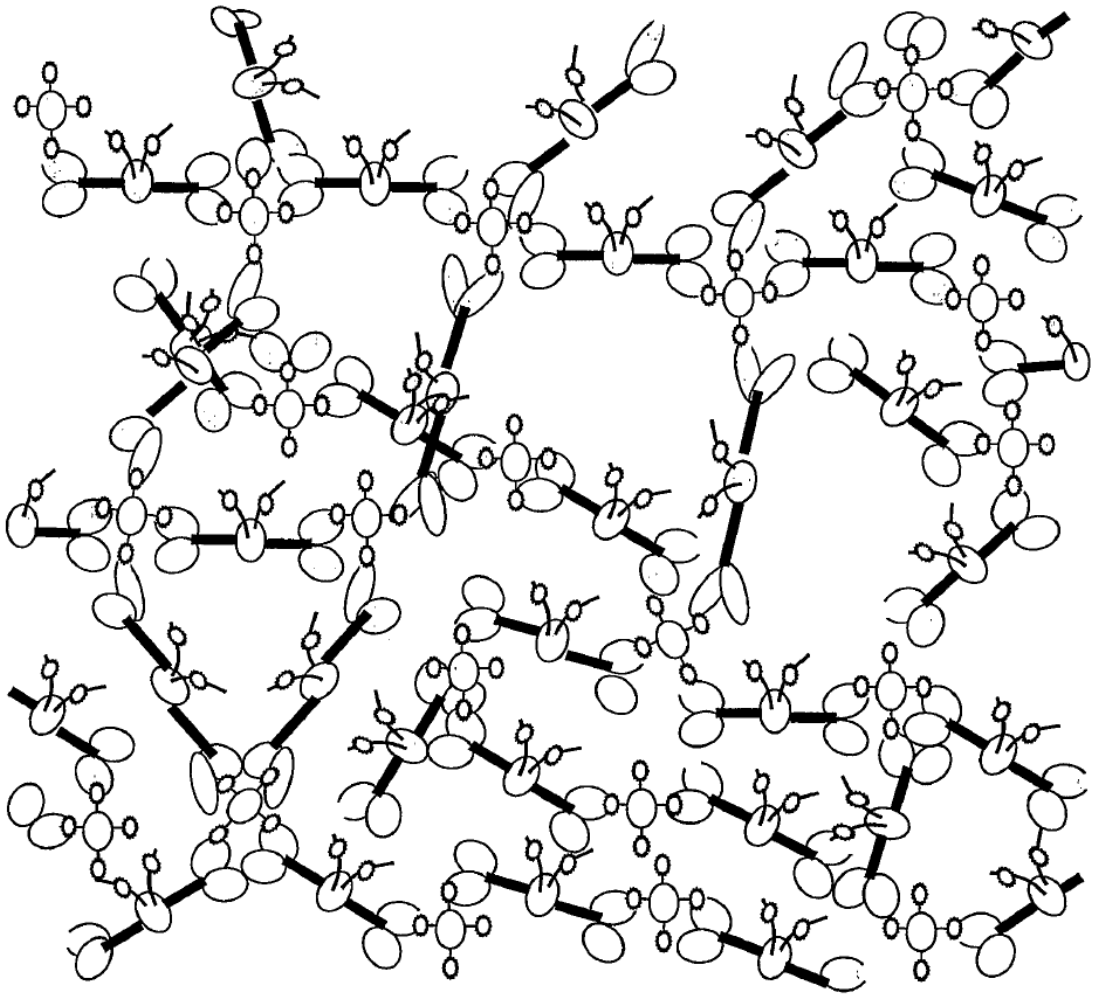
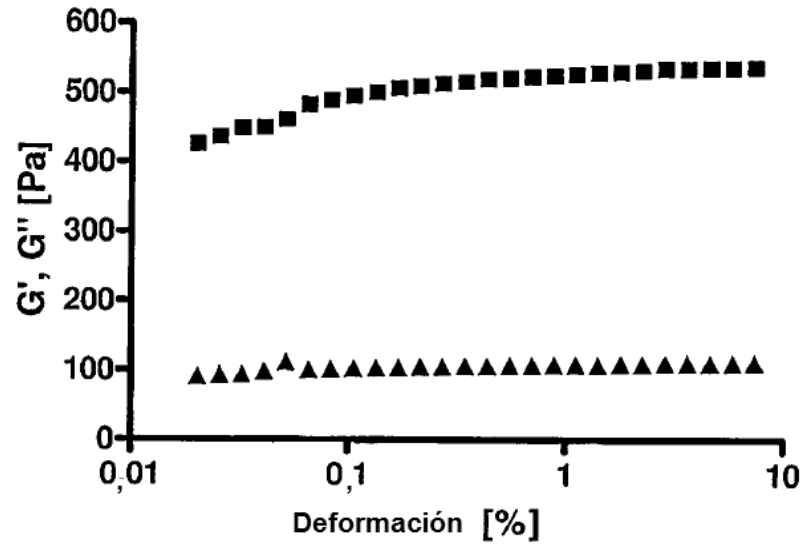


Figura 2

(A)



(B)

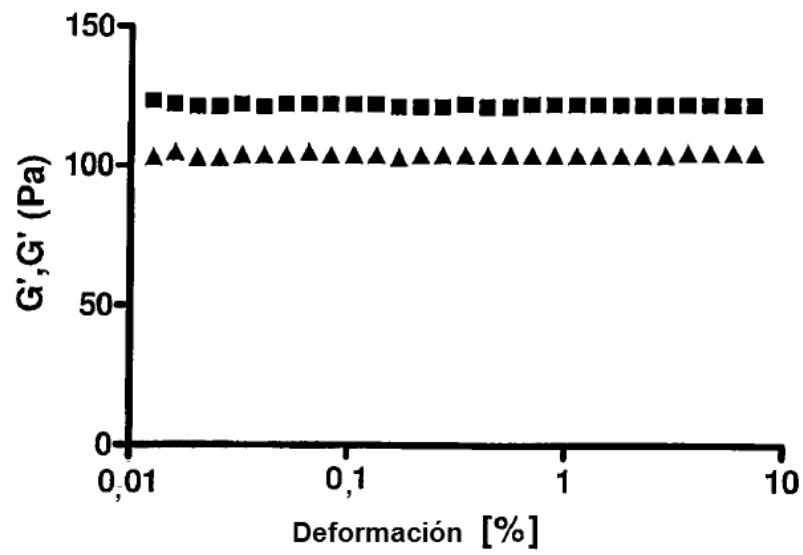
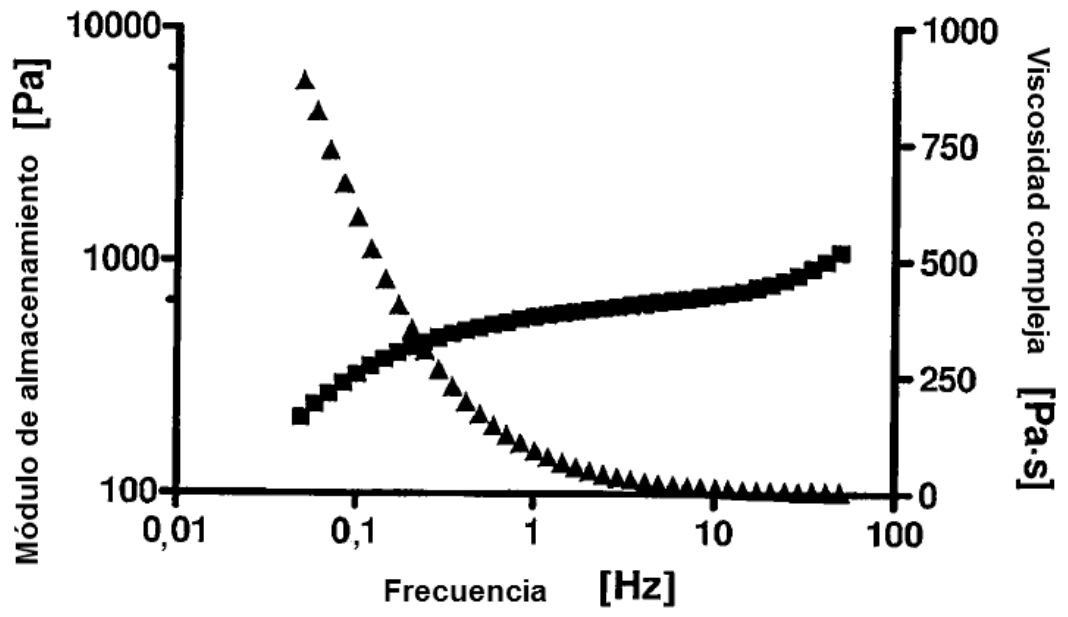
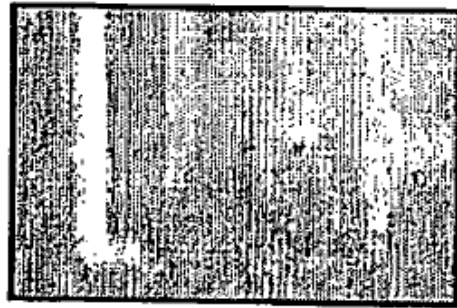


Figura 3



**Figura 4**

a)



b)

