

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 593 584**

51 Int. Cl.:

A61K 47/26 (2006.01)

A61K 9/14 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/16 (2006.01)

A61L 24/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.05.2010 PCT/EP2010/057477**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.12.2010 WO10136588**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.05.2010 E 10720628 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.08.2016 EP 2435028**

54 Título: **Sellante de fibrina en polvo seco**

30 Prioridad:

28.05.2009 GB 0909137

28.05.2009 GB 0909138

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

09.12.2016

73 Titular/es:

PROFIBRIX BV (100.0%)

Zernikedreef 9

2333 CK Leiden, NL

72 Inventor/es:

MARTYN, GLEN PATRICK y

KOOPMAN, JACOB

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 593 584 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

Sellante de fibrina en polvo seco

Campo de la invención

Esta presente invención se refiere a un sellante de fibrina en polvo seco.

5 Antecedentes de la invención

10 El documento WO97/44015 describe un sellante de fibrina en polvo seco basado en micropartículas de fibrinógeno y trombina. Se describen formulaciones optimizadas adicionales de estas composiciones de micropartículas en la solicitud US 12/636.718 en tramitación con la presente, incorporada aquí como referencia. En el Ejemplo de esta solicitud de EE.UU., los componentes se preparan secando por pulverización, fibrinógeno con trehalosa y trombina con trehalosa. Cada producto tiene un tamaño de partícula predominante de hasta 50 µm de diámetro. Se ha demostrado que el sellante de fibrina, una mezcla de estos componentes, es un hemostato tópico eficaz, estable y fácil de usar. El producto se puede usar inmediatamente, sin reconstitución. Al contacto con un fluido acuoso tal como sangre, la trombina activa expuesta convierte el fibrinógeno expuesto en polímeros de fibrina insolubles.

Sumario de la invención

15 En un primer aspecto de la invención, se proporciona una nueva composición de sellante de fibrina del tipo general descrito en el documento WO97/44105 y optimizado adicionalmente en la solicitud US 12/636.718 tramitada junto con la presente, y que comprende además adicionalmente un material aditivo.

20 En un segundo aspecto de la invención, se proporciona una composición de sellante de fibrina, que comprende una mezcla de primeras micropartículas que comprenden fibrinógeno, segundas micropartículas que comprenden trombina, y que comprende adicionalmente material aditivo.

En un tercer aspecto de la invención, se proporciona una composición de sellante de fibrina, que comprende una mezcla de primeras micropartículas que comprenden fibrinógeno y un excipiente estabilizante, segundas micropartículas que comprenden trombina y un agente estabilizante, y comprende adicionalmente material aditivo. Un excipiente estabilizante particularmente preferido es trehalosa.

25 En un cuarto aspecto de la invención, se proporciona una composición de sellante de fibrina, que comprende una mezcla de primeras micropartículas que comprenden fibrinógeno, segundas micropartículas que comprenden trombina, y que comprende adicionalmente material aditivo, en el que material aditivo comprende material poroso y/o soluble.

30 En un quinto aspecto de la invención, se proporciona una composición de sellante de fibrina, que comprende una mezcla de primeras micropartículas que comprenden fibrinógeno, segundas micropartículas que comprenden trombina, y que comprende adicionalmente material aditivo, en el que el material aditivo comprende material hueco y/o soluble.

35 En un sexto aspecto de la invención, se proporciona una composición de sellante de fibrina, que comprende una mezcla de primeras micropartículas que comprenden fibrinógeno, segundas micropartículas que comprenden trombina, y que comprende adicionalmente material aditivo, en el que el material aditivo comprende un material biocompatible absorbente de agua.

40 En un séptimo aspecto de la invención, se proporciona una composición de sellante de fibrina, que comprende una mezcla de primeras micropartículas que comprenden fibrinógeno, segundas micropartículas que comprenden trombina, y que comprende adicionalmente material aditivo, en el que el material aditivo comprende un material biocompatible hinchable en agua.

45 En un octavo aspecto de la invención, se proporciona una composición de sellante de fibrina, que comprende una mezcla de primeras micropartículas que comprenden fibrinógeno, segundas micropartículas que comprenden trombina, y que comprende adicionalmente material aditivo, en el que el material aditivo está en la forma de nanopartículas, nanofibras, fibras, partículas, gránulos, polvo, bolas, microbolas, microesferas, microcápsulas o micropartículas.

En un noveno aspecto de la invención, se proporciona una composición de sellante de fibrina, que comprende una mezcla de primeras micropartículas que comprenden fibrinógeno, segundas micropartículas que comprenden trombina, y que comprende adicionalmente material aditivo, en el que el material aditivo comprende un polisacárido.

50 En un décimo aspecto de la invención, se proporciona una composición de sellante de fibrina, que comprende una mezcla de primeras micropartículas que comprenden fibrinógeno, segundas micropartículas que comprenden trombina, y que comprende adicionalmente material aditivo, en el que el material aditivo comprende sílice.

En un undécimo aspecto, la invención proporciona un polvo fluido que comprende una composición según la invención.

5 En un decimosegundo aspecto, la invención proporciona un recipiente que contiene una composición según la invención.

En un decimotercer aspecto, la invención proporciona un kit que comprende una composición según la invención, o un recipiente según la invención, opcionalmente con un dispositivo de dispensación.

En un decimocuarto aspecto, se proporciona un método de tratar hemorragias que comprende la etapa de administrar una cantidad efectiva de la composición sellante de fibrina de la invención.

10 En un decimoquinto aspecto, la invención proporciona el uso de la composición de la invención para la fabricación de un medicamento para la prevención, tratamiento y/o alivio de un estado, tal como una terapia de heridas y reparación quirúrgica.

15 El material aditivo puede actuar como vehículo o diluyente, puede mejorar el flujo y la humectabilidad del polvo y puede tener también el efecto de incrementar la absorbancia de fluido de la herida sangrante, decreciendo por ello el fluido del tejido local e incrementando por consiguiente la concentración relativa de factores de coagulación en la herida. La invención proporciona de este modo el uso de cualquiera de los aditivos aquí descritos para conseguir cualquiera de estos objetivos. Por esto, se incrementa la efectividad del sellante de fibrina. La invención también proporciona un producto sellante de fibrina que tiene eficacia a bajos niveles de fibrinógeno.

Descripción detallada de la invención

20 Las micropartículas solubles respectivas que contienen fibrinógeno y que contienen trombina se pueden formular y mezclar conjuntamente en forma seca estable. Esta formulación se puede activar subsecuentemente, según se desee, para dar un sellante de fibrina que es útil en terapia de heridas y reparación quirúrgica.

25 La composición de la invención puede cumplir los objetivos primarios de conseguir buenas propiedades de flujo, humectabilidad mejorada y suministro efectivo mejorado al sitio activo, y disolución solo en el sitio, no en el sistema de suministro.

El fibrinógeno y la trombina se pueden aislar de sangre de donantes humanos o se pueden preparar por tecnología de ADN recombinante en células cultivadas o animales o plantas transgénicas.

30 El fibrinógeno o trombina puede ser completo o cualquiera de sus fragmentos activos. El contenido de fibrinógeno en las micropartículas que lo contienen puede ser de alrededor de 0,1 a 50% peso/peso, preferentemente de alrededor de 0,5 a 20% peso/peso, así como de 5 a 10% peso/peso, o alrededor de 6,5% peso/peso. El contenido de trombina en las micropartículas que la contienen puede ser de alrededor de 10 a 20.000 UI/g, preferentemente de alrededor de 25 a 1000 UI/g, o de 100 a 500 UI/g, o alrededor de 270 UI/g.

35 Las micropartículas que contienen el material activo y/o material aditivo pueden ser macizas o huecas, tal como en el caso de microcápsulas. Las micropartículas que comprenden fibrinógeno o trombina se pueden preparar por métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, como se describe en los documentos WO 92/18164, WO 96/09814, WO 96/18388 o WO 97/44015. Estos procedimientos de secado por pulverización y manipulación de partículas asociadas permiten la producción de microcápsulas de proteína soluble con distribución de tamaño definida, por ejemplo, de hasta 50 µm de diámetro. Por ejemplo, como se describe en esos documentos, las micropartículas se pueden producir reproduciblemente, por ejemplo, con 90% o más (en volumen) hasta 30 µm, por ejemplo, de 10 a 40 µm de tamaño. Los aglomerados que fluyen fácilmente de estas partículas se pueden preparar in situ ajustando la configuración de flujo de aire en el secador por pulverización a contracorriente, o disponiendo atomizadores múltiples en una disposición de "aglomeración primaria forzada", como se apreciaría por personas expertas en la técnica. Tales aglomerados pueden ser de 50 a 1.000 µm o de 100 a 500 µm, o de 125 a 250 µm de diámetro. Las 45 micropartículas solubles respectivas que contienen fibrinógeno y que contienen trombina se pueden formular y mezclar conjuntamente con un aparato de secado por pulverización por el uso de un atomizador de boquilla múltiple, como se describe en el documento WO03/037303.

50 Aunque el método preferido de preparación de la formulación de polvo seco incluye secado por pulverización, se pueden usar también otras técnicas de secado para preparar la formulación de polvo seco. Los métodos apropiados se conocen en la técnica e incluyen secado en lecho fluidizado y liofilización, con micronización subsiguiente, o liofilización por pulverización. Las micropartículas se pueden esterilizar, si es necesario o se desea, usando técnicas conocidas en la técnica.

Las micropartículas de la invención se preparan preferentemente por secado por pulverización. Típicamente, se usa una boquilla de 2 fluidos que utiliza aire comprimido durante el procedimiento de atomización; esto da como resultado la producción de micropartículas huecas. El tamaño de partícula máximo (x50, tal como se mide por

Sympatec) que se puede fabricar usando este sistema de atomización en el secador por pulverización Niro Mobile Minor es ~30 µm. Los valores x50 preferidos para las micropartículas de la invención están entre 5 y 50 µm, lo más preferentemente entre 10 y 20 µm.

5 Las micropartículas macizas o huecas que contienen fibrinógeno se mezclan a continuación con las micropartículas macizas o huecas que contienen trombina y el material aditivo como se describe aquí, en cualquier secuencia que produce una mezcla homogénea. Tal mezcla se puede llevar a cabo usando mezcla de baja cizalladura o alta cizalladura, o cualquier otra técnica conocida por personas expertas en la técnica.

10 Las primeras o segundas micropartículas de la invención se pueden preparar secando por pulverización una disolución del componente activo, es decir, fibrinógeno o trombina, con un sacárido solo. Un procedimiento alternativo comprende co-(secar por pulverización), en el que fibrinógeno o trombina y otro material formador de pared se formulan y secan por pulverización, para dar micropartículas en las que el componente activo se incorpora dentro de la partícula.

15 El fibrinógeno o trombina puede ser completo o cualquiera de sus fragmentos activos. Se conocen los fragmentos; véase Coller et al., J. Clin. Invest. 89:546-555 (1992). La materia prima de fibrinógeno puede ser una disolución congelada, aunque se puede usar polvo liofilizado que requiere reconstitución previamente al secado por pulverización.

20 Otras proteínas apropiadas pueden ser naturales o estar preparadas por tecnología de ADN recombinante en células cultivadas o animales o plantas transgénicas. El fibrinógeno o trombina puede ser completo o cualquiera de sus fragmentos activos. Pueden actuar como "materiales que forman pared", como se describe en el documento WO92/18164, en el que se dan varios ejemplos. Un material preferido es HSA (seroalbúmina humana). Por ejemplo, el fibrinógeno se seca por pulverización solo o en presencia de cantidades variables de excipientes tales como HSA (por ejemplo, relaciones de fibrinógeno:HSA de 1:1, 1:3, 3:1) y trehalosa. Otros substitutos apropiados para HSA incluyen tensioactivos, tales como Tween 20, Tween 80, Poloxamer 407 o Poloxamer 188.

25 Se pueden incorporar iones de calcio, por ejemplo, como cloruro de calcio, en la alimentación de trombina. Alternativamente, se puede añadir cloruro de calcio a las micropartículas después de procesar.

Según la invención, el material aditivo está presente en forma de partículas discretas que están separadas de las micropartículas que comprenden fibrinógeno y trombina. De este modo, el material aditivo puede estar en la forma de nanopartículas, nanofibras, fibras, partículas, gránulos, polvo, bolas, microbolas, microesferas, microcápsulas o micropartículas.

30 En ciertas realizaciones de la invención, el material aditivo usado en la invención típicamente tiene un tamaño medio de partícula de 10 a 1.000 µm, o de 100 a 500 µm, o de 125 a 250 µm o posiblemente, por ejemplo, de 10 a 40 µm. El aditivo puede comprender un material o puede ser una mezcla de materiales. Tal material aditivo puede actuar como vehículo y/o diluyente para los materiales activos (fibrinógeno y trombina).

35 Los materiales aditivos que pueden estar presentes en la forma de partículas que tienen tamaños de partícula del orden establecido en el párrafo precedente incluyen tales aditivos como materiales biocompatibles absorbentes de agua y/o hinchables en agua, polisacáridos, materiales porosos y/o solubles en agua, materiales huecos y/o solubles.

40 En tales casos, el material aditivo puede comprender alrededor de 1%, alrededor de 2%, alrededor de 3%, alrededor de 4% alrededor de 5%, alrededor de 6%, alrededor de 7%, alrededor de 8%, alrededor de 9%, alrededor de 10%, alrededor de 11 %, alrededor de 12%, alrededor de 13%, alrededor de 14%, alrededor de 15%, alrededor de 16%, alrededor de 17%, alrededor de 18%, alrededor de 19%, alrededor de 20%, alrededor de 21%, alrededor de 22%, alrededor de 23%, alrededor de 24%, alrededor de 25%, alrededor de 26%, alrededor de 27%, alrededor de 28%, alrededor de 29%, alrededor de 30%, alrededor de 31%, alrededor de 32%, alrededor de 33%, alrededor de 34%, alrededor de 35%, alrededor de 36 %, alrededor de 37%, alrededor de 38%, alrededor de 39%, alrededor de 40%, alrededor de 41%, alrededor de 42%, alrededor de 43%, alrededor de 44%, alrededor de 45%, alrededor de 46%, alrededor de 47%, alrededor de 48%, alrededor de 49%, alrededor de 50%, alrededor de 51%, alrededor de 52%, alrededor de 53%, alrededor de 54%, alrededor de 55%, alrededor de 56%, alrededor de 57%, alrededor de 58%, alrededor de 59%, alrededor de 60%, alrededor de 61 %, alrededor de 62%, alrededor de 63%, alrededor de 64%, alrededor de 65%, alrededor de 66%, alrededor de 67%, alrededor de 68%, alrededor de 69%, alrededor de 70%, alrededor de 71%, alrededor de 72%, alrededor de 73%, alrededor de 74%, alrededor de 75%, alrededor de 76%, alrededor de 77%, alrededor de 78%, alrededor de 79%, alrededor de 80%, alrededor de 81%, alrededor de 82%, alrededor de 83%, alrededor de 84%, alrededor de 85%, alrededor de 86 %, alrededor de 87%, alrededor de 88%, alrededor de 89%, alrededor de 90%, alrededor de 91%, alrededor de 92%, alrededor de 93%, alrededor de 94%, alrededor de 95%, alrededor de 96%, alrededor de 97%, alrededor de 98%, alrededor de 99%, en peso de la composición, o cualquier intervalo o valor intermedio.

Típicamente, la composición en tales casos comprenderá por lo menos 1%, o por lo menos 5% o por lo menos 10% peso/peso de material aditivo, y hasta 60%, hasta 70% o hasta 80% de material aditivo. De este modo, el aditivo

puede estar presente en un nivel de 1% (o 5% o 10%) a 80%, o de 1% (o 5% o 10%) a 70%, o de 1% (o 5% o 10%) a 60% peso/peso de la composición.

En otras realizaciones de la invención, el material aditivo tiene típicamente un tamaño medio de partícula de alrededor de 10 nm a 10 µm, y puede comprender un material o puede ser una mezcla de materiales.

- 5 Los materiales aditivos que se pueden usar en forma de partículas que tienen tamaños de partícula del orden establecido en el párrafo anterior incluyen sílice, especialmente sílice pirógena hidrófila.

En tales casos, el material aditivo puede comprender alrededor de 0,001%, alrededor de 0,01% alrededor de 0,05%, alrededor de 0,1%, alrededor de 0,5%, alrededor de 1%, alrededor de 2%, alrededor de 3%, alrededor de 4% alrededor de 5%, alrededor de 6% , alrededor de 7%, alrededor de 8%, alrededor de 9%, alrededor de 10%, alrededor de 11%, alrededor de 12%, alrededor de 13%, alrededor de 14%, alrededor de 15%, alrededor de 16%, alrededor de 17%, alrededor de 18%, alrededor de 19%, alrededor de 20%, alrededor de 21%, alrededor de 22%, alrededor de 23%, alrededor de 24%, alrededor de 25%, alrededor de 26%, alrededor de 27%, alrededor de 28%, alrededor de 29%, alrededor de 30%, alrededor de 31% , alrededor de 32%, alrededor de 33%, alrededor de 34%, alrededor de 35%, alrededor de 36%, alrededor de 37%, alrededor de 38%, alrededor de 39%, alrededor de 40%, alrededor de 41%, alrededor de 42%, alrededor de 43%, alrededor de 44%, alrededor de 45%, alrededor de 46%, alrededor de 47%, alrededor de 48%, alrededor de 49%, alrededor de 50%, alrededor de 51%, alrededor de 52%, alrededor de 53%, alrededor de 54%, alrededor de 55%, alrededor de 56% , alrededor de 57%, alrededor de 58%, alrededor de 59%, alrededor de 60%, alrededor de 61%, alrededor de 62%, alrededor de 63%, alrededor de 64%, alrededor de 65%, alrededor de 66%, alrededor de 67%, alrededor de 68%, alrededor de 69%, alrededor de 70%, alrededor de 71%, alrededor de 72%, alrededor de 73%, alrededor de 74%, alrededor de 75%, alrededor de 76%, alrededor de 77%, alrededor de 78%, alrededor de 79%, alrededor de 80%, alrededor de 81% , alrededor de 82%, alrededor de 83%, alrededor de 84%, alrededor de 85%, alrededor de 86%, alrededor de 87%, alrededor de 88%, alrededor de 89%, alrededor de 90%, alrededor de 91%, alrededor de 92%, alrededor de 93%, alrededor de 94%, alrededor de 95%, alrededor de 96%, alrededor de 97%, alrededor de 98%, alrededor de 99%, en peso de la composición, o cualquier intervalo o valor intermedio.

Típicamente, la composición en tales casos comprenderá por lo menos 0,001%, o por lo menos 0,01% o por lo menos 0,05% peso/peso de material aditivo, y hasta 0,1%, hasta 0,5% o hasta alrededor de 1 o 2% en peso de material aditivo. De este modo, el aditivo puede estar presente en un nivel de 0,001% (o 0,01% o 0,05%) a 1%, o de 0,001% (o 0,01% o 0,05%) a 0,5%, o de 0,001% (o 0,01% o 0,05%) a 0,1% peso/peso de la composición.

- 30 En otras realizaciones de la invención, el material aditivo no es un material sólido soluble.

Varios materiales son apropiados para su uso como un material aditivo biocompatible absorbente de agua y/o hinchable en agua, para mejorar el flujo y la humectabilidad, etc. Preferentemente, el material es insoluble o muy lentamente soluble. Tales materiales pueden incluir polímeros de dextrano, por ejemplo, Sephadex, que están disponibles en diferentes tamaños de partícula, almidones que incluyen hetastarch, derivados de pululano, ácido hialurónico y sus ésteres, productos de celulosa tales como celulosa microcristalina (rango Avicel), metilcelulosa, carboximetilcelulosa, celulosa microfina o hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilcelulosa de baja sustitución, hidroxietilcelulosa y otros materiales tales como polivinilpirrolidona (PVP) reticulada, se pueden usar solos o mezclados. También, los materiales aditivos apropiados que actúan como vehículos incluyen polietilenglicol (PEG), que tiene preferentemente un peso molecular de alrededor de 1.000; polivinilpirrolidona (PVP), que tiene preferentemente un peso molecular medio de alrededor de 50.000; poli(ácido acrílico), poli(acrilamida), poli(alcohol vinílico) (PVA), poli (metilviniléter-co-anhídrido maleico), poli(óxido de etileno), y dextrano, que tiene típicamente un peso molecular medio de alrededor de 40.000. Las micropartículas de la invención se pueden esterilizar, si es necesario o se desea. El proceso estéril, la irradiación con haz de electrones, la irradiación γ y el óxido de etileno son ejemplos de técnicas apropiadas.

- 45 En ciertas realizaciones de la invención, el material aditivo es una sílice, preferentemente una sílice hidrófila. Tales sílices pueden ser sílices coloidales, sílices pirógenas, sílices molidas, sílices precipitadas, o sus mezclas. Los ejemplos de sílices pirógenas apropiadas incluyen, pero no están limitados a, Aerosil® 90, 130, 150, 200, 300, 380, R202, R805, R812, R972, R974 (Degussa Corporation, Ridgefield Park, NJ) y CAB-O-SIL® TS-720 y M-5 (Cabot Corporation, Tuscola, Ill.). Generalmente, se prefieren Aerosil® 200, Aerosil® R974, CAB-O-SIL® TS-720 y cualquier otro producto generalmente equivalente de otros fabricantes de sílices pirógenas.

Se sabe que la sílice coloidal hidrófila AEROSIL® incrementa la velocidad de desintegración del comprimido y la liberación de ingrediente activo. La sílice coloidal actúa como una "mecha" para atraer el agua - por ejemplo, de los jugos digestivos - al interior del comprimido. Además, los ingredientes del comprimido "revestido" con sílice coloidal hidrófila AEROSIL® 200 se humedecen más fácilmente y se hinchan más rápido (disgregantes) o se disuelven más rápido (ingrediente activo). Tales propiedades mejoran la humectabilidad y la disolución del sellante de fibrina en polvo de la presente invención. Además, se sabe que este tipo de sílices actúan como deslizantes, y así mejorará la fluidez, llenado y suministro de tales micropartículas cohesivas. Además, tales sílices coloidales son activadores conocidos de la coagulación de la sangre y de este modo actúan de forma sinérgica con los componentes de

fibrinógeno y trombina (véase Margolis, "The Effect of Colloidal Silica on Blood Coagulation", Aust. J. Exp. Biol., 39, pp. 249 -258 (1961)).

5 La composición puede comprender de alrededor de 0,001 a 5% peso/peso, alrededor de 0,01 y 2% peso/peso, o de alrededor de 0,01 a 0,5% peso/peso de una sílice. La sílice puede simplemente estar mezclada con el componente que contiene fibrinógeno y a continuación se le añade el componente que contiene trombina y se mezcla adicionalmente, o viceversa. Más preferentemente, la sílice se mezcla con las primeras y segundas micropartículas premezcladas como una etapa final. El aparato de mezcla apropiado será conocido por los expertos en la técnica.

En una realización adicional, la sílice puede estar presente en combinación con un vehículo y/o material aditivo adicional, tal como se define aquí.

10 En otras realizaciones de la invención, el aditivo es un cristal filamentosamente entrelazado muy poroso y muy soluble, por ejemplo, de sorbitol y/o manitol. Tales materiales se venden bajo el nombre PARTECK SI y PARTECK M (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania). Estos grados tienen una alta capacidad de adsorción y por lo tanto son apropiados para la mezcla con la composición de polvo de sellante de fibrina en polvo seco de la invención, para producir un nuevo polvo que reduce el espolvoreo, y mejora la humectabilidad, la solubilización y el rendimiento del sellante de fibrina en polvo seco, permitiendo que la sangre penetre a través del lecho de polvo aplicado y evitando de este modo la coagulación solo en la interfase del polvo.

15 Los materiales aditivos están presentes en la composición de la invención como componentes individuales o en combinación y se añaden al componente de trombina y fibrinógeno seco por pulverización antes de mezclarlos conjuntamente, o se añaden a la mezcla final y se someten a mezcla adicional. Dicha mezcla se puede llevar a cabo usando mezcla de baja cizalladura o alta cizalladura, unión mecano-química, hibridación o cualquier otra técnica conocida por las personas expertas en la técnica.

20 Aunque los componentes de las micropartículas en un sellante de fibrina de la invención son preferentemente solubles en agua, y las micropartículas se obtienen preferentemente secando por pulverización una disolución apropiada, las micropartículas que se obtienen pueden ser fluidas, discretas y substancialmente secas o anhidras, con un contenido de humedad residual preferentemente no mayor de alrededor de 8% peso/peso o de alrededor de 5% peso/peso, más preferentemente no mayor de alrededor de 3% peso/peso. Esto significa que los compuestos de sellante de fibrina según esta invención no se activan hasta que se humedecen, por ejemplo, al entrar en contacto con líquido en un sitio de herida. Por lo tanto, los componentes activos se pueden administrar en forma de una mezcla seca, aunque también se prevé la aplicación por separado de las diferentes micropartículas. Las micropartículas que contienen principio activo son preferentemente amorfas o están en forma de un vidrio a temperatura ambiente (por ejemplo 25°C) para estabilizar la proteína atrapada, así como para presentar el principio activo en tal estado rápidamente soluble. Preferentemente, la composición de micropartículas que contienen principio activo exhibe una temperatura de transición vítrea de más de alrededor de 25°C, o alrededor de 30°C, o alrededor de 40°C, o alrededor de 50°C o más, tal como se mide por calorimetría diferencial de barrido o calorimetría diferencial de barrido modulada. El material aditivo también puede ser amorfo o estar en forma de un vidrio a temperatura ambiente (por ejemplo 25°C) de manera que esté en un estado rápidamente soluble. Preferentemente, el material aditivo exhibe una temperatura de transición vítrea de más de alrededor de 25°C, o alrededor de 30°C, o alrededor de 40°C, o alrededor de 50°C, medida por calorimetría diferencial de barrido o calorimetría diferencial de barrido modulada. Tales composiciones vítreas permiten que la composición se almacene a temperatura ambiente, por ejemplo 25°C, durante períodos prolongados de tiempo, por ejemplo, mayores de 3 meses o mayores de 6 meses, sin pérdidas significativas de actividad.

El material aditivo también puede estar en un estado cristalino o amorfo, pero también puede ser fluido, discreto y substancialmente anhidro, con un contenido de humedad residual preferentemente no mayor de 5% peso/peso, lo más preferentemente no mayor de 3% peso/peso.

45 Un producto sellante de fibrina en polvo seco puede ser de particular valor cuando se requiere la aplicación a una gran área superficial. Esto incluye la cirugía y la reparación de lesiones traumáticas en varios órganos tales como el hígado y el bazo. Una aplicación ventajosa adicional se encuentra en un injerto de piel para pacientes con quemaduras, y específicamente, en la que láminas epidérmicas de piel se cultivan in vitro y luego se transfieren al sitio de la herida. El uso de sellante de fibrina en la última indicación puede ser particularmente eficaz en pacientes con quemaduras extensas, proporcionando un anclaje biocompatible para injertos de piel. También puede ser apropiado en el tratamiento de úlceras tóxicas.

La composición de polvo de sellante de fibrina se puede aplicar usando el dispositivo de suministro de polvo de la solicitud PCT/GB2009/051714 en tramitación con la presente, para su uso en intervenciones quirúrgicas.

55 En otra presentación de la composición de polvo, el polvo está contenido dentro de un sobre o bolsa de material soluble. Cuando la bolsa se coloca sobre el tejido húmedo, como en una herida o sitio quirúrgico, el material de la bolsa se disuelve para liberar el polvo desde el interior de la bolsa.

Breve descripción de los dibujos

5 La Figura 1 muestra fotografías de un modelo de lesión cóncava del hígado que ilustra la utilidad de la presente invención. La primera foto (a) muestra la lesión que se hace, la segunda foto (b) muestra la aplicación del polvo de la invención del Ejemplo 1, y la última foto (c) muestra una lámina de Vicryl que cubre el polvo después de 30 segundos de presión con una gasa.

La Figura 2 es una vista esquemática de un aparato de cámara Boyden modificada usado en el Ejemplo 2.

Las Figuras 3a-h) muestran fotografías de una serie de cámaras Boyden usadas en el Ejemplo 2 en varios instantes de tiempo.

Descripción detallada de realizaciones preferidas de la invención

10 Ahora se describirá la invención, sólo a modo de ilustración, con referencia a los siguientes ejemplos

Ejemplo 1

Se preparó sellante de fibrina en polvo seco, como se describe en la solicitud US 12/636.718 en tramitación con la presente. En resumen, se prepararon partículas esféricas huecas de fibrinógeno (ZLB, Marburg, Alemania) y trehalosa (Pfanstiehl, Waukegan, IL., USA). La concentración de fibrinógeno en las partículas es de 12% peso/peso.

15 Se secaron por pulverización trombina (SNBTS, Glasgow, Escocia) y trehalosa para obtener partículas huecas.

La trombina estaba presente en una concentración de 1.000 UI por gramo de partículas. Las partículas se mezclaron en una relación 1:1; el polvo resultante tiene una concentración de 6% peso/peso de fibrinógeno y 500 UI/gramo de polvo. Esta mezcla se denomina Polvo de Referencia.

20 Para preparar la mezcla de la invención, el Polvo de Referencia se mezcló adicionalmente 1:1 peso/peso con partículas absorbentes de fluido (Sephadex G200 Superfine, GE Healthcare, Uppsala, Suecia). Sephadex G200 superfine tiene un tamaño de grano seco de 10-40 μm . Para mayor claridad, el polvo resultante consiste en 3% peso/peso de fibrinógeno, 250 UI/gramo de trombina y 50% peso/peso de partículas de Sephadex G200. Esta mezcla se denomina Polvo de la Invención.

Ensayo de eficacia.

25 No hay ningún modelo animal universal para ensayar la eficacia del hemostato disponible porque la hemorragia por traumatismo se presenta en diferentes formas que van desde la lesión arterial con alta presión hasta la exudación masiva. Los modelos animales grandes (cerdos) son los únicos modelos representativos para la situación humana (Pusateri et al. (2003) J. Trauma 55 (3), 518-526). En los modelos animales seleccionados, el Polvo de la Invención se comparará con otros productos que están en el mercado o en desarrollo y potencialmente podrían ser usados en aplicaciones de trauma. Para simular una lesión traumática en el hígado, que induce hemorragia severa no controlada, se infligió una lesión cóncava en el hígado de un cerdo cortando con un par de tijeras quirúrgicas un trozo de 4 x 5 cm de ancho y 1,5-2 cm de profundidad del hígado (n = 2). No se ligó ninguna de las venas o arterias que se cortaron durante este procedimiento y el animal había recibido una dosis estándar de heparina ~ 15 minutos antes de la realización de la lesión.

30 Una lesión se trató usando el protocolo "estándar" en el que 6 gramos de material de Polvo de Referencia se vertieron sobre la herida, se cubrió con un pedazo de parafilm después de lo cual se aplicó presión durante 30 segundos. Durante la retirada del parafilm se retiró también una porción substancial de polvo y se aplicaron a la herida unos 1,5-2 gramos adicionales y se aplicó presión con gasa quirúrgica estándar. La hemorragia se ralentizó significativamente en 2-3 minutos, pero tardó ~ 5 minutos en obtener la hemostasia completa. La segunda lesión cóncava se trató con 6 gramos de Polvo de la Invención, que tiene una capacidad de absorción incrementada, pero sólo contiene la mitad de las cantidades de fibrinógeno y trombina. El polvo se cubrió a continuación con un trozo de lámina de Vicryl biodegradable (Ethicon) y se aplicó presión durante 30 segundos usando gasa. La gasa se podía retirar con facilidad y el Vicryl se dejó sobre la herida para evitar alterar el coágulo. No se observó hemorragia y la hemostasia completa se logró en 1-1,5 minutos (véase también la Fig. 1). El Sephadex solo no fue capaz de detener la hemorragia severa en animales.

35 Este experimento demuestra claramente la ventaja del Polvo de la Invención sobre el Polvo de Referencia. La aplicación de cantidades iguales de estos polvos en heridas con hemorragia severa da como resultado la hemostasia completa para el Polvo de la Invención en 1,5 minutos, mientras que el Polvo de Referencia era capaz de detener la hemorragia en 5 minutos, pero sólo después de la adición de polvo adicional. Esto es sorprendente, ya que el Polvo de la Invención sólo contiene la mitad de la concentración de fibrinógeno y trombina en comparación con el Polvo de Referencia. Las concentraciones más bajas de fibrinógeno y trombina también implican una reducción significativa del coste del Polvo de la Invención en comparación con el Polvo de Referencia.

Ejemplo 2

5 Para preparar composiciones adicionales de la invención, el Polvo de Referencia ("FC") del Ejemplo 1 se mezcló adicionalmente con diferentes cantidades de materiales aditivos usando un agitador orbital durante 30 segundos o (para lotes más grandes) un mezclador de baja cizalladura Turbula durante 10 minutos, para producir un polvo fluido. Se seleccionaron los siguientes materiales aditivos, se mezclaron con el Polvo de Referencia, y a continuación se evaluaron para ver la humectabilidad in vitro:

1. Micropartículas huecas solubles - que comprenden 15% peso/peso de albúmina en una matriz de trehalosa vítrea, secada por pulverización ("Alb")
2. Sílice pirógena Aerosil-200 ("Aer")
- 10 3. Polisacárido - hetastarch (Voluven liofilizado) ("Vol")
4. Aditivo soluble poroso - Parateck SI 150 y 400 ("Part SI 150" y "Part SI 400")
5. Aditivo poroso, hinchable e insoluble - Sephadex 200G superfine ("Sep 200G")

15 Un nuevo ensayo de humectabilidad vitro se desarrolló usando cámaras de Boyden modificadas. Una cámara de Boyden es esencialmente una cámara de dos compartimentos medio llenos separados por una membrana microporosa (véase la Fig. 2). En el uso convencional, se colocan células en el compartimento superior y se les permite migrar a través de los poros de la membrana al compartimento inferior, donde están presentes agentes quimiotácticos. Para los propósitos del presente estudio (análisis de humectabilidad), la cámara inferior se llenó con una disolución de colorante azul a temperatura ambiente, y se introdujo el polvo de ensayo en la cámara superior.

20 Se dispusieron veinticuatro de tales cámaras en una disposición de 4 × 6, y se usaron para estudiar el comportamiento de los polvos de ensayo, que se dispusieron de la forma establecida en la Tabla 1, que especifica el peso total de polvo en cada cámara, y el porcentaje de aditivo en cada una. Se puede ver que la Fila B es un duplicado de la Fila A, y la Fila D es un duplicado de la Fila C

Tabla 1

	1	2	3	4	5	6
A	76,5 mg 0% (100%FC)	75,0 mg 50%Alb	77,4 mg 0,05%Aer	74,3 mg 0,01%Aer	75,1 mg 50%Vol	75,8 mg 10%Vol
B	75,6 mg 0% (100%FC)	78,1 mg 50%Alb	75,5 mg 0,05%Aer	76,5 mg 0,01%Aer	75,4 mg 50%Vol	75,2 mg 10%Vol
C	77,9 mg 50%Part S 400	76,0 mg 10%Part S 400	75,7 mg 50%Part S 150	72,5 mg 10%Part S 150	77,7 mg 50%Sep 200G	76,4 mg 10%Sep 200G
D	77,8 mg 50%Part S 400	77,8 mg 10%Part S 400	77,1 mg 50%Part S 150	77,9 mg 10%Part S 150	75,9 mg 50%Sep 200G	78,0 mg 10%Sep 200G

25 Las cámaras cargadas de polvo se bajaron dentro de la cámara inferior que contiene la disolución de colorante azul y se puso en marcha un cronómetro. Se presenta un resumen de las observaciones en la Tabla 2:

Tabla 2

Tiempo en el que el colorante azul parece entrar en el polvo desde el fondo de la cámara (lado del filtro)	78 min	35 min	77 min	74 min	120 min	180 min
	78 min	35 min	77 min	74 min	160 min	180 min
	37 min	55 min	38 min	68 min	16 min	68 min
	37 min	46 min	68 min	68 min	16 min	68 min

Tiempo en el que se observa el primer signo de colorante azul en la superficie superior del polvo		40 min			223 min	
		40 min			223 min	
	79 min	174 min	102 min	231 min		
	68 min	150 min	134 min	231 min	17 min	

Toda la superficie es azul		93 min				
		76 min				
	180 min		180 min			
	115 min		180 min			

Otras observaciones apreciadas durante el análisis incluyen:

- a. Para Aerosil 0,01% ambos duplicados tienen una gran gota azul entre la masa de polvo y la pared de la cámara

(vista lateral T=200 visible);

b. Para Parateck 10% uno de los duplicados también tiene una gota azul entre la masa de polvo y la pared de la cámara (vista lateral T=200 visible);

c. El Sephadex 50% se hincha hasta ~ x5 de su volumen inicial;

5 d. El Sephadex 10% se hincha hasta ~ x2 de su volumen inicial;

e. Disminución de volumen observada a T=200 para 50% SD Albúmina

50% Parateck SI400

50% Parateck SI150.

10 Las fotografías de la disposición de cámaras de Boyden, dispuestas como en la Tabla 1, en varios instantes de tiempo se presentan en la Figura 3.

15 Como se puede ver, la presencia de un material poroso hinchable (Sephadex), así como material aditivo hueco soluble (albúmina:trehalosa secada por pulverización), o material aditivo en grandes partículas soluble poroso (Parateck SI 400), mejora enormemente la captación de agua del Material de Referencia. Ciertamente, el Material de Referencia funcionaba muy pobremente en este ensayo dado que no parecía absorber la disolución de colorante azul de ningún modo significativo. La presencia de muy bajos niveles de sílice no parecía mejorar enormemente la humectabilidad en este ensayo, aunque puede funcionar mejor in vivo, debido a su interacción con el proceso de coagulación.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un sellante de fibrina que comprende una mezcla de primeras partículas que comprenden fibrinógeno, segundas partículas que comprenden trombina, y que comprende adicionalmente material aditivo, en el que el material aditivo está presente en la forma de partículas discretas que están separadas de las micropartículas que comprenden fibrinógeno y trombina.
2. Un sellante de fibrina según la reivindicación 1, en el que el material aditivo comprende un material hueco o poroso.
- 10 3. Un sellante de fibrina según la reivindicación 1, en el que el material aditivo comprende un material biocompatible absorbente de agua.
4. Un sellante de fibrina según la reivindicación 1, en el que el material aditivo comprende un material biocompatible hinchable en agua.
5. Un sellante de fibrina según la reivindicación 1, en el que el material aditivo comprende un material biocompatible insoluble en agua.
- 15 6. Un sellante de fibrina según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dichas primeras micropartículas contienen de 0,5 a 20% peso/peso de fibrinógeno.
7. Un sellante de fibrina según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que dichas segundas micropartículas comprenden de 25 a 1.000 UI/g de trombina.
- 20 8. Un sellante de fibrina según cualquier reivindicación precedente, que comprende de 0,001 a 95% peso/peso del material aditivo.
9. Un sellante de fibrina según cualquier reivindicación precedente, en el que el material aditivo comprende un polisacárido.
10. Un sellante de fibrina según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el material aditivo comprende sílice.
- 25 11. Un sellante de fibrina según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el material aditivo tiene un tamaño medio de partícula de alrededor de 10 µm a 1.000 µm.
12. Un sellante de fibrina según la reivindicación 10, en el que el material aditivo tiene un tamaño medio de partícula de alrededor de 10 nm a 10 µm.
- 30 13. Un sellante de fibrina según cualquier reivindicación precedente, para uso en el tratamiento de una herida.

Figura 1



Figura 2

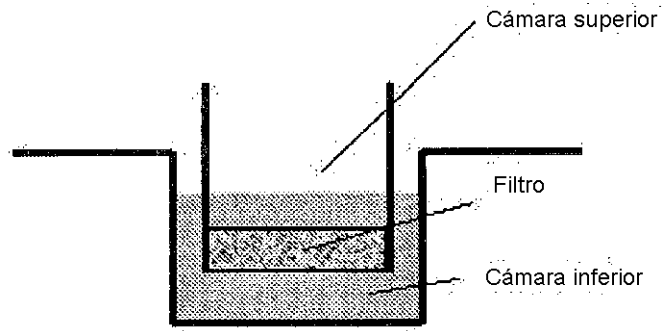
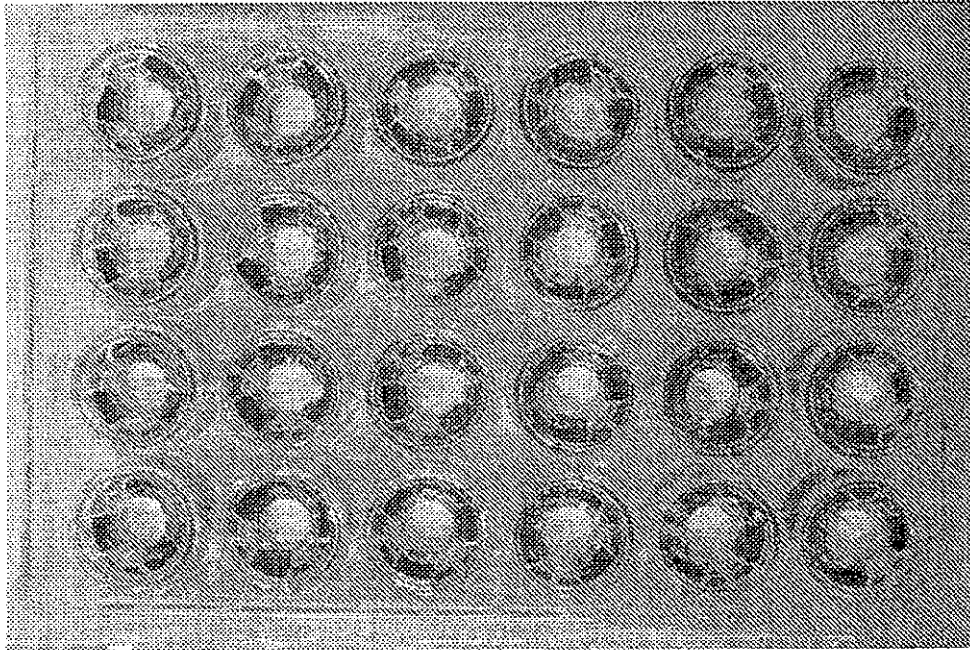
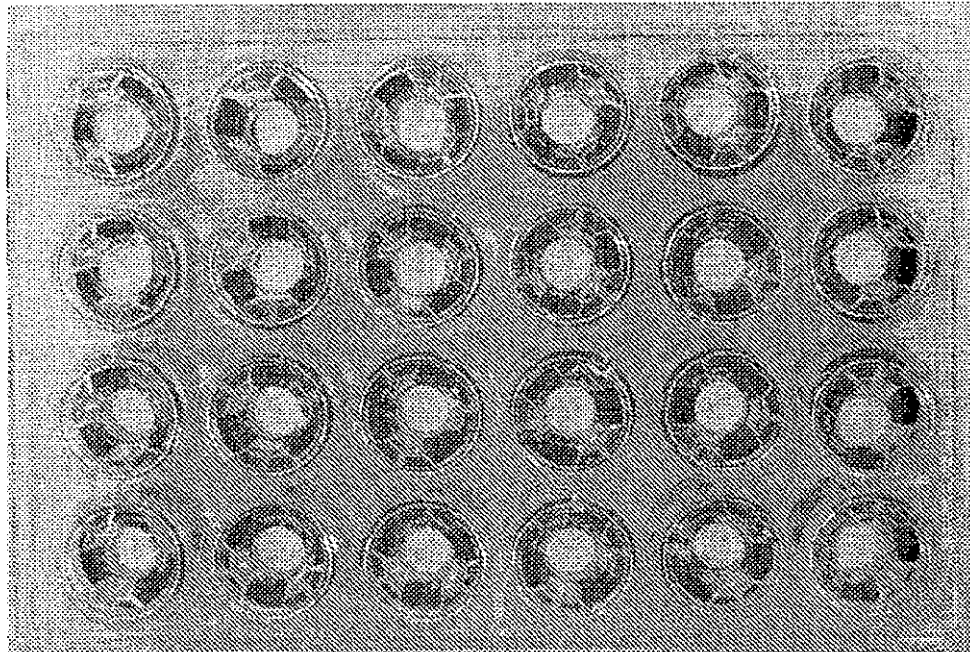


Figura 3

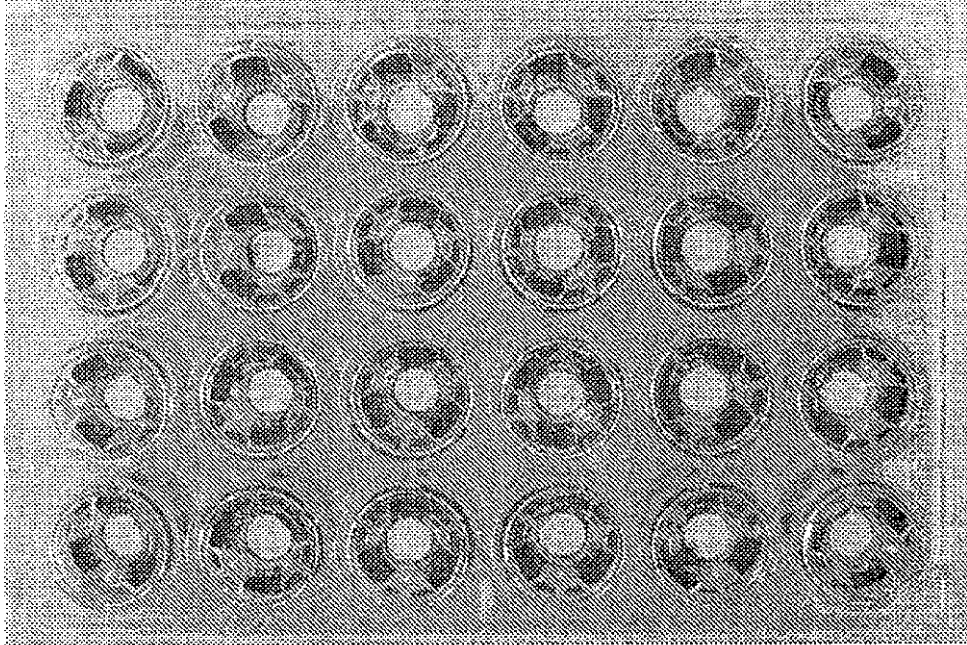
a) T=0



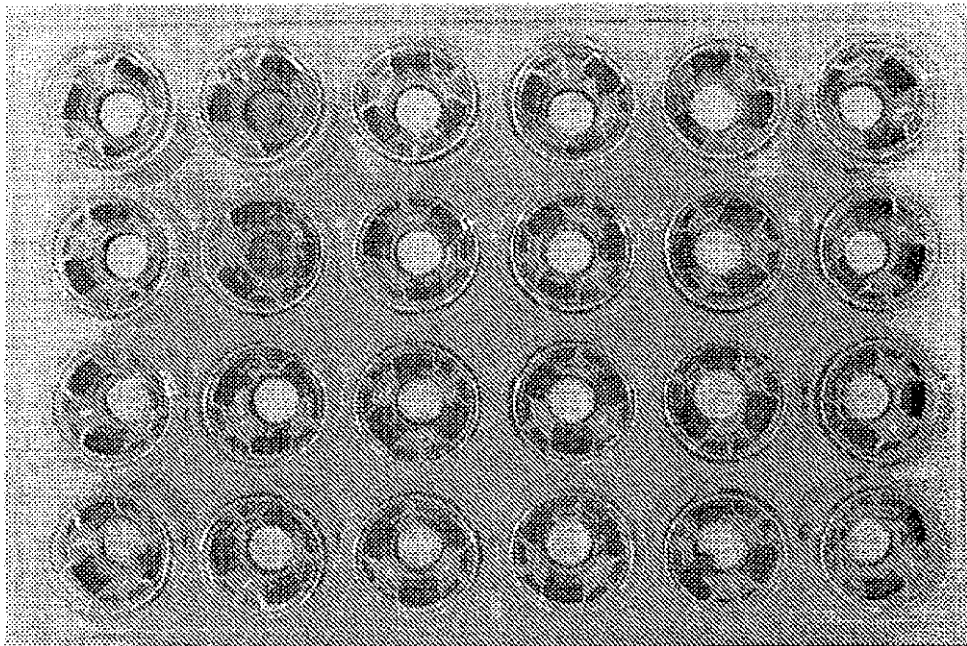
b) T=20 min



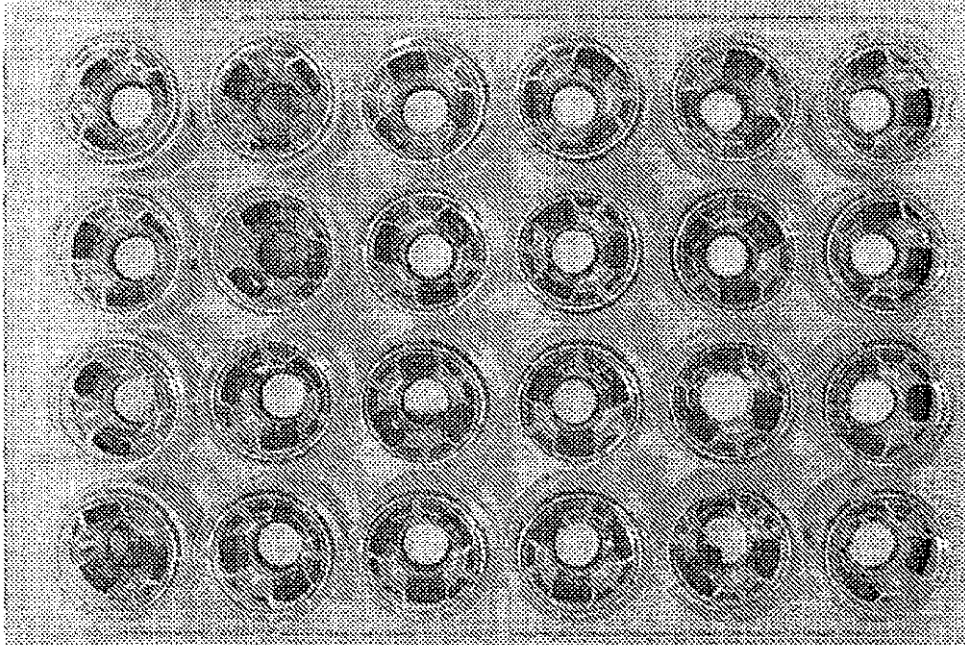
c) T=45 min



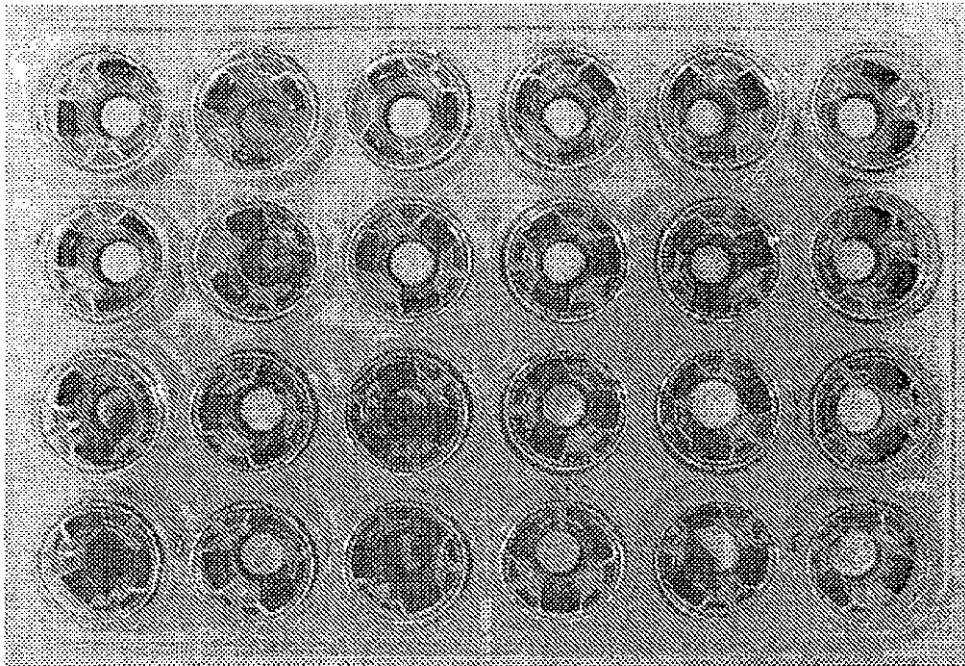
d) T=76 min



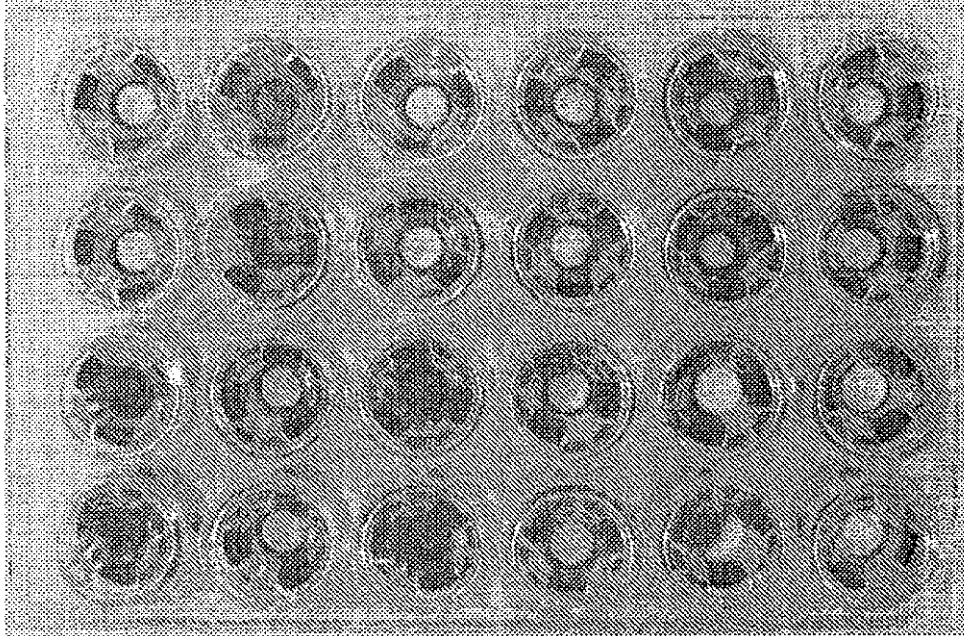
e) T=106 min



f) T=175 min



g) T=238 min



h) T=48 hours

