

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 621 363**

51 Int. Cl.:

<b>B01F 3/12</b>	(2006.01)
<b>B01F 5/06</b>	(2006.01)
<b>B01F 13/00</b>	(2006.01)
<b>B01F 15/02</b>	(2006.01)
<b>A61M 5/28</b>	(2006.01)
<b>A61L 24/00</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.12.2012 PCT/IL2012/000393**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.07.2013 WO13098805**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.12.2012 E 12815839 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.02.2017 EP 2797681**

54 Título: **Método y dispositivo para disolución rápida de composición de proteína sólida**

30 Prioridad:

**29.12.2011 IL 21727311**  
**03.01.2012 US 201261582524 P**  
**30.07.2012 IL 22118012**  
**30.07.2012 US 201261677048 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.07.2017**

73 Titular/es:

**OMRIX BIOPHARMACEUTICALS LTD. (100.0%)**  
**Bldg. 14 Weizmann Science Park P.O. Box 619**  
**Rehovot 76106, IL**

72 Inventor/es:

**ILAN, EREZ;**  
**REGEV, KFIR;**  
**LEITMAN, DANA;**  
**NUR, ISRAEL;**  
**MERON, MOTI y**  
**GOODMAN, JOHN**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

ES 2 621 363 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).

**Método y dispositivo para disolución rápida de composición de proteína sólida****Descripción**5 CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La invención se refiere al campo de la preparación de composiciones farmacéuticas, y más particularmente, a métodos y dispositivos para la disolución de composiciones de proteínas sólidas, tales como composiciones sólidas que comprenden fibrinógeno, en un disolvente acuoso.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] El fibrinógeno es un componente importante en la preparación de sellador de fibrina, que se utiliza para prevenir la fuga de fluidos, tales como sangre líquida por ejemplo, aire y/o los tejidos. El fibrinógeno se convierte en fibrina mediante una reacción enzimática que implica trombina y factor XIII.

15

[0003] El fibrinógeno se puede convertir en una forma sólida, por ejemplo por liofilización, antes de su almacenamiento, con el fin de reducir la degradación de proteínas. Una preparación sólida de fibrinógeno tiene la ventaja de que puede almacenarse durante un periodo de tiempo relativamente largo a una temperatura de al menos 4°C, tal como a temperatura ambiente, manteniendo al mismo tiempo su actividad biológica. Para uso terapéutico, el fibrinógeno sólido se disuelve típicamente en un disolvente acuoso antes de su uso. A menudo se requieren soluciones con alta concentración de fibrinógeno, por ejemplo cuando se usa el fibrinógeno como un componente de selladores de fibrina junto con un componente de trombina, puesto que típicamente la resistencia adhesiva es proporcional a la concentración de fibrinógeno

20

25

[0004] El fibrinógeno está entre las menos solubles de las proteínas del plasma (The Preparation and Properties of Human Fibrinogen of Relatively High Solubility\*M. W. Mosesson, Sol Sherry Biochemistry, 1966, 5 (9), pp 2829-2835). Por lo tanto, es difícil y consume mucho tiempo disolver una preparación sólida de fibrinógeno para obtener una solución con una alta concentración de fibrinógeno, por ejemplo, al menos 40 mg de fibrinógeno/ml. El problema se complica aún más cuando la espuma se forma y desaparece lentamente durante la disolución de la composición sólida de fibrinógeno La presencia de espuma puede prolongar adicionalmente el tiempo de disolución y/o afectar negativamente a la funcionalidad del fibrinógeno, y las propiedades mecánicas del sellante de fibrina preparado con la solución de fibrinógeno.

30

[0005] Antecedentes de la técnica incluyen la patente de EE.UU. N° 6.349.850.; 4.650.678; 4.909.251; y 5.96.405; Publicación de Patente de EE.UU. N° 2004/0005310; y Publicación de Patente Europea N° EP 2130549A1.

35

[0006] US 5.122.117 describe una jeringa de mezclado de componente utilizado para mezclar un componente líquido con un componente sólido antes de su uso. La jeringa incluye un barril que tiene un orificio con un émbolo en un extremo y una aguja en el otro. Una barrera divide el agujero en una región lejana que contiene un componente líquido y una región cercana que contiene un componente sólido. En uso, el émbolo se retira parcialmente de la región cercana para crear un vacío parcial. Una vía formada a través de la barrera se abre de este modo para permitir que el líquido se precipite en la región cercana para crear una acción de mezcla turbulenta relativamente violenta para mezclar eficazmente los dos componentes.

40

45

[0007] US 2011/0196342 describe un método de fabricación de una solución para inyección a partir de un disolvente y un ingrediente activo utilizando un inyector desechable que incluye una primera unidad de cilindro y pistón y una segunda unidad de cilindro-pistón. Un disolvente se almacena en la primera unidad cilindro-pistón. En la segunda unidad cilindro-pistón hay un ingrediente farmacéutico activo liofilizado. Inmediatamente antes del uso del inyector desechable, el disolvente es transportado a la segunda unidad cilindro-pistón y al ingrediente farmacéutico activo, donde se forma una solución.

50

[0008] US 3.405.712 describe una jeringa que comprende una carcasa para contener un componente de una carga y un émbolo que comprende un segundo componente de la carga, en el que la carcasa y el émbolo son operables para proporcionar una condición de mezcla en el que los componentes se mezclan juntos dentro de la caja.

55

[0009] US 3.052.240 describe una jeringa hipodérmica desechable que incluye cámaras adaptadas para recibir por separado un medicamento seco y un disolvente para el mismo, en el que las cámaras están provistas de medios para mezclar el disolvente y el medicamento en el momento de uso.

60

[0010] Hay una necesidad no satisfecha de un método y un dispositivo que permite una rápida disolución de fibrinógeno sólido para formar una solución de fibrinógeno altamente concentrado sin la adición de excipientes para aumentar la solubilidad del fibrinógeno

65 RESUMEN DE LA INVENCION

[0011] En el presente documento se proporcionan métodos y dispositivos para la disolución de composiciones de proteínas sólidas, tales como composiciones de fibrinógeno sólido, en un disolvente acuoso.

[0012] Los presentes inventores han encontrado que la disolución de una composición de fibrinógeno sólido, tal como una "torta" liofilizada que tiene una densidad baja en proteínas, en un disolvente acuoso, dio lugar a un mayor nivel de disolución y una disolución más rápida, en comparación con el uso de una densidad alta en proteínas "torta". Se encontró además que la adición del disolvente acuoso a la composición sólida a presión subatmosférica, seguida de un balance a presión atmosférica sin permitir la entrada de aire al recipiente en el que se llevó a cabo la solubilización durante el proceso de solubilización, minimizó o evitó la presencia de la espuma.

[0013] Tal como se utiliza aquí, el término "composición sólida" se refiere a una composición que tiene un contenido de agua igual a o menor que aproximadamente 5% (en peso) en agua tal como igual a o menor que 3%, basado en el peso total de la composición sólida.

[0014] Aspectos y realizaciones de la invención se describen en la memoria descriptiva a continuación y en las reivindicaciones adjuntas.

[0015] Según un aspecto de algunas realizaciones de la invención, se proporciona un método para disolver una composición de fibrinógeno sólido en un disolvente acuoso, que comprende las etapas de proporcionar un recipiente cerrado (12) que contiene un volumen de la composición de fibrinógeno sólido y un espacio de cabeza, en el que la presión dentro del espacio de cabeza es una presión subatmosférica; mientras se mantiene la presión interna en el espacio de cabeza a presión sub-atmosférica, introduciendo en el recipiente un volumen de un disolvente acuoso que es menor que el volumen de la composición de fibrinógeno sólido, para formar una solución que comprende al menos 40 mg de fibrinógeno/ml; y disminuyendo posteriormente el tamaño del espacio de cabeza en el recipiente hasta que la presión en el espacio de cabeza sea igual a la presión atmosférica.

[0016] En algunas realizaciones, el método comprende además la agitación del recipiente.

[0017] El método descrito en la presente proporciona una solución que comprende una concentración elevada de fibrinógeno de al menos 40 mg fibrinógeno/ml dentro de igual o inferior a 90 segundos. En algunas realizaciones, la solución se obtiene en aproximadamente 90, 85, 80, 75, 70, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40 o 30 segundos. En una realización, se obtiene una solución concentrada de fibrinógeno dentro de un intervalo de tiempo de aproximadamente 45 a aproximadamente 90 segundos.

[0018] Las composiciones sólidas descritas en este documento comprenden una proteína, tal como el fibrinógeno, en un estado sólido. En algunas realizaciones, las composiciones de fibrinógeno sólido descritas aquí comprenden fibrinógeno como el ingrediente principal, pero pueden incluir además otros ingredientes, por ejemplo, otras proteínas. El fibrinógeno en la composición puede derivarse de la sangre o recombinante. Ejemplos de proteínas distintas del fibrinógeno presentes en la composición incluyen, pero no se limitan a, fibronectina, factor VIII, factor de von Willebrand y factor XIII. En una realización de la invención, la composición se deriva de un crioprecipitado. En una realización de la invención, el plasminógeno se retira específicamente del crioprecipitado con el fin de retrasar o detener la fibrinólisis (como se describe en las Patentes de EE.UU. N<sup>os</sup> 5.792.835 y 7.125.569).

[0019] En algunas realizaciones, la composición de fibrinógeno comprende fibrinógeno humano (también referido aquí como CAB, componente activo biológico). CAB puede ser un crioprecipitado inactivado vírico concentrado de plasma humano, preparado como se describe en la Patente Europea N<sup>o</sup> 534.178), que consiste principalmente en fibrinógeno (aproximadamente 85%). La composición puede estar exenta de plasminógeno, como en la patente EP 1.390.485, en cuyo caso no se pueden incluir agentes anti-fibrinolíticos. En una realización de la invención, el CAB se proporciona como una "torta" liofilizada sólida .

[0020] El término "crioprecipitado" se refiere a un componente derivado de la sangre que se obtiene de plasma congelado preparado a partir de sangre entera, plasma recuperado o de plasma de fuente que se recoge por plasmaféresis. Se puede obtener un crioprecipitado cuando el plasma congelado se descongela en frío, típicamente a una temperatura de 0-4°C, dando como resultado la formación de un precipitado que contiene fibrinógeno y factor XIII. El precipitado puede recogerse, por ejemplo, por centrifugación.

[0021] Los ejemplos no limitantes de formas de composiciones sólidas que se pueden disolver utilizando los métodos y dispositivos descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, "tortas" liofilizadas, partículas sólidas, la dispersión de partículas, polvo y copos. Se pueden producir composiciones sólidas que tienen diferentes densidades de proteína.

[0022] En algunas realizaciones, la composición de fibrinógeno sólido es una torta liofilizada. La densidad de fibrinógeno dentro de la "torta" liofilizada puede reducirse a aproximadamente 5 mg/cc mientras se mantiene la estabilidad del liofilizado sin ningún colapso de la "torta" (Parker et. al. "Determination of the influence of primary drying rates on the microscale structural attributes and physicochemical properties of protein containing lyophilized products J Pharm Sci. 2010; 99:4616-4629). Típicamente, una "torta" sólida de al menos 5 mg de fibrinógeno/cc puede apoyar sustancialmente su propia estructura sin colapsar.

- 5 [0023] En algunas realizaciones, la densidad de fibrinógeno en la composición de fibrinógeno sólido está en el intervalo de aproximadamente 5 a inferior a aproximadamente 63 mg/cc, tal como igual a o menor que aproximadamente 6, 7, 8, 9, 10, 11 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36. 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61 o 62 mg/cc En una realización, la composición de fibrinógeno sólido tiene una densidad de fibrina de no más de aproximadamente 23 mg/cc.
- 10 [0024] El sólido, tal como una "torta" liofilizada, se puede preparar a partir de una solución que contiene fibrinógeno que tiene una concentración de fibrinógeno en el intervalo de aproximadamente 5 a inferior a aproximadamente 63 mg/ml, tal como igual a o menor que 6, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 57, 58, 59, 60, 61 y 62 mg/ml. Típicamente, el volumen de la "torta" resultante es igual al volumen de la solución que contiene fibrinógeno usado para preparar la "torta".
- 15 [0025] En algunas realizaciones, la composición de fibrinógeno sólido se obtiene a partir de una solución madre de CAB, tal como una solución madre de CAB (por ejemplo, el componente de fibrinógeno en EVICEL™) que tiene una concentración de fibrinógeno de aproximadamente 63 mg/ml. En algunas realizaciones, el fibrinógeno sólido se obtiene por liofilización de la solución madre de CAB.
- 20 [0026] En algunas realizaciones, la alta concentración de fibrinógeno en la solución obtenida mediante la disolución de la composición de fibrinógeno sólido en el disolvente acuoso está en el intervalo de aproximadamente 40 a aproximadamente 120 mg de fibrinógeno/ml, tal como, por ejemplo, alrededor de 40, 41, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115 o 120 mg de fibrinógeno/ml. En una realización, se obtiene una solución concentrada de fibrinógeno que comprende fibrinógeno a una concentración en el intervalo de aproximadamente 63 a aproximadamente 70 mg/ml. El fibrinógeno está sustancialmente completamente disuelto.
- 25 [0027] En algunas realizaciones, el disolvente acuoso es agua para inyección, sustancialmente desprovisto de excipientes. En algunas realizaciones, el disolvente acuoso se desgasifica antes de su introducción en el recipiente que comprende la composición sólida.
- 30 [0028] Con el fin de disolver la "torta" en el disolvente acuoso, una dispersión sólida puede opcionalmente prepararse por aplastamiento de tipo mecánico de la "torta". La dispersión se puede introducir opcionalmente en un dispositivo de molienda para producir polvo fino como se describe en el documento WO08/053475.
- 35 [0029] El disolvente acuoso comprende agua (en algunas realizaciones, al menos el 50% de agua en volumen) y en algunas realizaciones puede comprender opcionalmente ingredientes adicionales tales como agentes tamponantes y/u otros excipientes, tales como excipientes farmacéuticamente aceptables (incluyendo, por ejemplo, uno o más seleccionados del grupo que consiste en hidrocloreuro de arginina, glicina, cloruro de sodio, citrato de sodio y cloruro de calcio). El agua puede ser, por ejemplo, BWFI (agua bacteriostática para inyección), SWFI (agua estéril para inyección) y similares.
- 40 [0030] El nivel de disolución de proteína en la solución formada por disolución de la composición de fibrinógeno sólido en un disolvente acuoso se puede medir como se describe a continuación en la sección Materiales y Métodos en "Las mediciones de nivel de disolución de proteína". La presencia de espuma puede inspeccionarse visualmente.
- 45 [0031] En algunas realizaciones, la presión interna en el espacio de cabeza es inicialmente inferior a aproximadamente 500 mbar, tal como, por ejemplo, igual a o menor que aproximadamente 500, 450, 400, 350, 300, 250, 200, 150, 100, 50, 25, 20, 15, 10, 5, 1, 0,5 o 0,12 mbar. En una realización, la presión interna en el espacio de cabeza no es más de aproximadamente 0,12 mbar.
- 50 [0032] En algunas realizaciones, la presión interna dentro del recipiente cerrado se lleva a una presión sub-atmosférica deseada en un dispositivo de liofilización programable mediante la programación del dispositivo para alcanzar la presión interna deseada, y cerrar el recipiente cuando se alcanza la presión deseada.
- 55 [0033] En algunas realizaciones, la presión interna dentro del recipiente cerrado se lleva a una presión sub-atmosférica deseada mediante la retirada de aire desde el recipiente cerrado, por ejemplo, mediante el uso de una bomba de vacío. En algunas realizaciones, con el fin de monitorizar y/o ajustar la presión dentro del recipiente, se utiliza un manómetro electrónico de vacío o manómetro electrónico.
- 60 [0034] En una realización, una composición de fibrinógeno sólido que tiene una densidad de fibrinógeno de aproximadamente 21 mg/cc se disuelve en disolvente, en el que la presión en el espacio de cabeza es aproximadamente 0,12 mbar.
- 65 [0035] En algunas realizaciones, el recipiente comprende al menos dos porciones distintas en comunicación de fluido mutua, una primera porción que contiene el disolvente acuoso, y una segunda parte que contiene la

composición de fibrinógeno sólido, en el que el disolvente acuoso se introduce desde la primera porción distinta a la segunda parte distinta del recipiente.

**[0036]** En algunas realizaciones, el disolvente acuoso está contenido dentro de un depósito, en el que el recipiente y el depósito están en comunicación mutua de fluido, y en el que la agitación comprende la transferencia repetida del disolvente acuoso entre el recipiente y el depósito.

**[0037]** En algunas realizaciones, la agitación comprende la agitación manual del recipiente. En alguna de estas realizaciones, se introduce al interior del envase al menos una esfera de un material sólido inerte, que tiene una densidad mayor que la de la solución (tal como un metal, por ejemplo acero inoxidable), antes de agitarse manualmente. En algunas realizaciones, la esfera comprende un cordón que tiene diámetros en el intervalo de aproximadamente 3 a aproximadamente 7 mm.

**[0038]** En algunas realizaciones, un intervalo de tiempo de al menos 5 segundos (tal como, por ejemplo, al menos 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ó 20 segundos), se deja transcurrir entre la terminación de la introducción del disolvente en el recipiente y el comienzo de la disminución del volumen del espacio de cabeza. En algunas realizaciones, el intervalo de tiempo es de al menos aproximadamente 20 segundos.

**[0039]** En algunas realizaciones, después de disminuir el volumen del espacio de cabeza, se incubaba la solución en el recipiente (es decir, se deja reposar antes de su uso), por ejemplo para un período de tiempo de no más de aproximadamente 2 minutos.

**[0040]** Los métodos descritos en este documento pueden llevarse a cabo utilizando cualquier dispositivo o recipientes adecuados incluyendo, pero no limitados a, botellas, recipientes de liofilización, barriles, frascos, y jeringas conocidas en la técnica. En algunas realizaciones, los métodos se llevan a cabo utilizando los dispositivos descritos a continuación.

**[0041]** Según un aspecto de algunas realizaciones de la invención, se proporciona un dispositivo, de acuerdo con las características de la reivindicación 9, adecuadas para la disolución de una composición sólida en un disolvente acuoso, comprendiendo el dispositivo un primer recipiente cerrado adecuado para mantener una primera composición sólida, incluyendo el primer recipiente cerrado una primera entrada de recipiente cerrado que tiene un estado cerrado y un estado abierto, en el que en el estado cerrado la primera entrada de recipiente cerrada está sellada al paso de fluido y en estado abierto el primer recipiente cerrado proporciona una trayectoria para la comunicación de fluido en el primer recipiente cerrado. El dispositivo comprende además un primer elemento de sellado móvil dispuesto dentro del primer recipiente cerrado para sellar el primer recipiente cerrado y configurado para mantener el sellado del primer recipiente cerrado mientras se mueve dentro de él entre al menos una primera y una segunda posición dentro del primer recipiente cerrado, para disminuir el volumen interno del primer recipiente cerrado. El dispositivo comprende además un elemento de retención configurado para sujetar de forma liberable el primer elemento de junta móvil en una primera posición dentro del primer recipiente cerrado y un primer controlador para controlar el cambio de la primera entrada de recipiente cerrado entre un estado cerrado y un estado abierto.

**[0042]** Cuando la primera entrada de contenedor cerrado está en un estado cerrado mientras que el primer elemento de sellado móvil está en la segunda posición, y, posteriormente, el primer elemento de cierre móvil se mueve a la primera posición y el primer elemento de retención sostiene el primer elemento de cierre móvil, se forma un espacio de cabeza que tiene una presión subatmosférica. Alternativamente, el dispositivo está provisto del recipiente cerrado que contiene además un espacio de cabeza con una presión subatmosférica; una entrada del recipiente cerrado; y sujetando el elemento de sujeción el primer elemento de obturación móvil en la primera posición.

**[0043]** En algunas realizaciones, el dispositivo comprende además un primer depósito adecuado para contener un primer disolvente acuoso; y un segundo elemento de obturación móvil dispuesto dentro del primer depósito configurado para mantener el sellado del primer depósito, comprendiendo el primer depósito una primera salida de depósito adaptada para estar en comunicación de fluido (directa o indirectamente) con la primera entrada de recipiente cerrada.

**[0044]** En algunas realizaciones, el primer recipiente cerrado es un primer barril de jeringa que tiene un extremo delantero y un extremo trasero, donde el extremo delantero comprende la primera entrada de recipiente cerrado, y en el que el primer elemento de sellado móvil comprende un primer pistón dispuesto dentro del primer barril de jeringa desplazable de modo deslizante desde el extremo trasero hacia el extremo delantero del primer cuerpo de jeringa y conectado a un primer vástago de pistón.

**[0045]** En algunas realizaciones, el primer depósito comprende un segundo barril de jeringa que tiene un extremo delantero y un extremo trasero, donde el extremo delantero comprende la primera salida del depósito, y el segundo elemento de sellado móvil comprende un segundo pistón dispuesto dentro del segundo barril de jeringa desplazable deslizante desde el extremo trasero hacia el extremo delantero del segundo cuerpo de jeringa y conectado a un segundo vástago de pistón.

**[0046]** En algunas formas de realización, en las que cuando la entrada está en una posición abierta y en la que

cuando el elemento de retención libera el primer cierre móvil, el primer cierre móvil se mueve desde una primera a una segunda posición dentro del primer recipiente cerrado, disminuyendo así el volumen interno del primer recipiente cerrado, en el que se incrementa la presión interna dentro del primer recipiente cerrado.

5 **[0047]** En algunas realizaciones, el dispositivo comprende además un segundo recipiente cerrado adecuado para la sujeción de una segunda composición sólida, incluyendo el segundo recipiente cerrado una segunda entrada de recipiente cerrado que tiene un estado cerrado y un estado abierto, en el que en el estado cerrado el segundo contenedor cerrado está sellado al paso de fluido y en el estado abierto la segunda entrada de recipiente cerrada proporciona un camino para la comunicación de fluido dentro del segundo recipiente cerrado. En tales realizaciones, 10 el dispositivo comprende además un tercer elemento de sellado móvil dispuesto dentro del segundo recipiente cerrado, para sellar el segundo recipiente cerrado y configurado para mantener el sellado del segundo recipiente cerrado mientras se mueve dentro de él entre al menos una primera y una segunda posición dentro del segundo recipiente cerrado, para disminuir el volumen interno del segundo recipiente cerrado. En dichas realizaciones, el dispositivo comprende además un elemento de retención configurado para sujetar de forma liberable el tercer 15 elemento de sellado móvil en una primera posición dentro del segundo contenedor cerrado y un segundo controlador para controlar el cambio de la segunda entrada de contenedor cerrado entre un estado cerrado y un estado abierto. Opcionalmente, un único elemento de retención puede sujetar de forma liberable tanto el primer como el tercer elemento de sellado móviles en una primera posición. Alternativamente, el dispositivo puede comprender además un segundo elemento de retención para sujetar el tercer elemento de sellado móvil. El dispositivo está provisto del 20 segundo contenedor cerrado que contiene además un espacio de cabeza con una presión subatmosférica; una entrada de recipiente cerrado; y el elemento de retención que sostiene el tercer elemento de obturación móvil en la primera posición o cuando la segunda entrada de contenedor cerrado está en un estado cerrado mientras que el tercer elemento de obturación móvil está en la segunda posición y posteriormente el tercer elemento de obturación móvil se mueve a la primera posición y el elemento de sujeción sostiene el tercer elemento de sellado móvil, formándose un espacio de cabeza que tiene una presión subatmosférica. 25

**[0048]** En algunas realizaciones, el dispositivo comprende además un segundo depósito adecuado para contener un segundo disolvente acuoso y un cuarto elemento de sellado móvil dispuesto dentro del segundo depósito configurado para mantener el sellado del segundo depósito, el segundo depósito que comprende una segunda 30 salida de fluido adaptado para estar en comunicación de fluido con la segunda entrada de recipiente cerrado.

**[0049]** En algunas realizaciones, el primer recipiente cerrado es un primer barril de jeringa que tiene un extremo frontal y un extremo posterior, en el que el extremo frontal del primer barril de jeringa comprende la primera entrada de recipiente cerrado y en el que el primer elemento de sello móvil del primer recipiente cerrado comprende un 35 primer pistón dispuesto dentro del primer cuerpo de jeringa desplazable desde el extremo posterior hacia el extremo delantero del primer cuerpo de jeringa y conectado a un primer vástago de pistón. En dichas realizaciones, el primer depósito comprende un segundo barril de jeringa que tiene un extremo delantero y un extremo trasero, en el que el extremo delantero del segundo barril de jeringa comprende la primera salida de depósito y en el que el segundo elemento de sellado móvil comprende un segundo pistón dispuesto dentro del segundo barril de jeringa que se 40 desplaza deslizantemente desde el extremo trasero hacia el extremo delantero del segundo cuerpo de jeringa y conectado a un segundo vástago de pistón. En dichas realizaciones, el segundo recipiente cerrado es un tercer barril de jeringa que tiene un extremo delantero y un extremo posterior, en el que el extremo delantero del tercer barril de jeringa comprende la segunda entrada de recipiente cerrado y en el que el tercer elemento de sellado móvil comprende un tercer pistón dispuesto dentro del tercer barril de jeringa que se desplaza deslizantemente desde el 45 extremo trasero hacia el extremo delantero del tercer cuerpo de jeringa y conectado a un tercer vástago de pistón. En dichas realizaciones, el segundo depósito comprende un cuarto barril de jeringa que tiene un extremo delantero y un extremo trasero, en el que el extremo delantero del cuarto barril de jeringa comprende la segunda salida de depósito y en el que el cuarto elemento de sellado móvil comprende un cuarto pistón dispuesto dentro del cuarto barril de jeringa que se desplaza deslizantemente desde el extremo trasero hacia el extremo delantero del cuarto 50 barril de jeringa y conectado a un cuarto vástago de pistón.

**[0050]** En algunas realizaciones, el dispositivo comprende además una carcasa para contener el primer y segundo recipiente cerrado y/o el primer y el segundo depósito en el mismo.

55 **[0051]** En algunas realizaciones, el dispositivo comprende además una primera carcasa para contener el primer y segundo recipiente cerrado y/o una segunda carcasa para contener el primer y el segundo depósito en el mismo.

**[0052]** En algunas realizaciones, la primera composición sólida comprende fibrinógeno sólido.

60 **[0053]** En algunas realizaciones, la segunda composición sólida comprende trombina sólida.

**[0054]** En algunas realizaciones, el primer pistón está unido a un vástago de pistón que comprende al menos un rebaje, y el elemento de sujeción comprende por lo menos una protrusión/protuberancia configurada para acoplarse dentro del rebaje.

65 **[0055]** En algunas realizaciones, el dispositivo comprende además un accionador controlador que cuando se

acciona, hace que el primer controlador y/o el segundo controlador se mueva desde el estado cerrado al estado abierto.

**[0056]** Los métodos y dispositivos descritos en este documento, en al menos algunas realizaciones, habilitan una composición de fibrinógeno sólido para que sea sustancialmente disuelta completamente dentro de un corto período de tiempo (por ejemplo, dentro de los 90 segundos o menos) en un disolvente acuoso, para obtener una solución de fibrina altamente concentrada (por ejemplo, con una concentración de fibrina de al menos 40 mg/ml). En algunas realizaciones, el método permite preparar la solución de fibrinógeno en, o cerca de, el tiempo de administración a un sujeto, por ejemplo, dentro de los 90 segundos o menos antes de la administración al sujeto.

**[0057]** En al menos algunas realizaciones, la presencia de espuma en la solución de fibrinógeno producida de acuerdo con los métodos y dispositivos descritos en este documento es mínima o insignificante. En algunas realizaciones, la solución de fibrinógeno está sustancialmente desprovista de espuma.

**[0058]** En al menos algunas realizaciones, el método no requiere la adición de excipientes para aumentar la solubilidad del fibrinógeno.

**[0059]** En al menos algunas realizaciones, el método no incluye una etapa de calentamiento, por ejemplo calentamiento por encima de la temperatura ambiente.

**[0060]** En al menos algunas realizaciones, no se admite aire en un recipiente en el que se lleva a cabo la solubilización.

**[0061]** A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el mismo significado que comúnmente se entiende por un experto en la técnica al que pertenece la invención. Además, las descripciones, materiales, métodos y ejemplos son sólo ilustrativos y no pretenden ser limitativos. Pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos aquí en las prácticas de la presente invención.

**[0062]** Tal como se utiliza aquí, el término "solución" se refiere a una mezcla homogénea que comprende al menos una sustancia (soluta) parcial o sustancialmente disuelta por completo en un disolvente líquido. Por "sustancialmente completamente disuelto" se quiere decir que el soluto está disuelto al menos en un 89% en el disolvente.

**[0063]** Tal como se utiliza aquí, el término "disolver" se refiere a la incorporación de una sustancia, tal como un sólido, en un disolvente líquido para obtener una solución. Como se usan aquí, los términos "disolver", "solubilizar" y "reconstituir" pueden ser intercambiables.

**[0064]** Tal como se utiliza aquí, el término "presión atmosférica" se refiere a la fuerza por unidad de área ejercida sobre una superficie por el peso del aire por encima de esa superficie en un lugar determinado. La presión atmosférica estándar del nivel del mar es 1 atmósfera, o 1000 mbar.

**[0065]** Tal como se utiliza aquí, el término "espacio de cabeza" se refiere a un volumen gaseoso por encima de un líquido o sólido en un recipiente cerrado, junto con el volumen de gas dentro del sólido.

**[0066]** Tal como se utiliza aquí, el término "controlador" se refiere a un componente que regula la dirección y/o flujo de un ejemplo, de líquido a través de un pasaje o un tubo, proporcionando una entrada abierta para el flujo del líquido. El controlador puede ser una válvula, una llave de paso o similar. Alternativamente, el controlador puede comprender un elemento de perforación, tal como una aguja, para perforar una cubierta, por ejemplo una tapa o pared de goma del recipiente cerrado, proporcionando por lo tanto una entrada abierta.

**[0067]** Tal como se utiliza aquí, el término "liofilización" se refiere al proceso de congelación de una solución y después la reducción de la concentración de agua por ejemplo, por sublimación a niveles que no son compatibles con las reacciones biológicas o químicas. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "torta" o "torta sólida" se refiere a una composición en forma de estructura porosa y esponjosa resultante del proceso de liofilización. Se observa que una "torta sólida" de al menos 5 mg/cc puede soportar sustancialmente su propia estructura sin colapsarse. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "colapso" con respecto a una torta se refiere al punto en el que la torta ya no puede soportar su propia estructura.

**[0068]** Tal como se utiliza aquí, el término "excipiente" se refiere a una sustancia sustancialmente inerte que se incluye en una composición farmacéutica. Los excipientes se pueden añadir, por ejemplo, para asegurar que las sustancias activas de la composición conservan su estabilidad química y/o actividad biológica durante el almacenamiento, para ayudar al proceso de fabricación y/o por razones estéticas, por ejemplo, color.

**[0069]** Tal como se utiliza aquí, el término "composición farmacéutica" se refiere a una sustancia o mezcla de sustancias para la administración a un sujeto.

**[0070]** Como se usa en este documento, los términos "que comprende", "que incluye", "que tiene" y las variantes

gramaticales de la misma deben entenderse en el sentido de especificar las características, números enteros, etapas o componentes, pero no excluyen la adición de uno o más características, números enteros, pasos, componentes o grupos adicional de los mismos. Estos términos abarcan los términos "consistente en" y "consistente esencialmente en".

5 **[0071]** Tal como se usa en este documento, los artículos indefinidos "un" y "una" significa "al menos uno" o "uno o más" a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

10 **[0072]** En algunas realizaciones, los métodos y dispositivos descritos en este documento opcionalmente proporcionan al menos una de las siguientes ventajas: permitir que un usuario (tal como un cirujano u otro profesional médico) para disolver rápidamente composiciones farmacéuticas sólidas, incluyendo composiciones sólidas para la preparación de un sellador; permitir la formación de una solución que tenga una o cantidades insignificantes de espuma; permitir el uso de tortas liofilizadas altamente porosas y/o frágiles como la composición sólida; permitir la formación rápida de una solución de fibrinógeno altamente concentrada a partir de una  
15 composición sólida de fibrinógeno; y permiten el almacenamiento, la dilución y el uso de composiciones sólidas concentradas. En algunas realizaciones, los métodos y dispositivos descritos aquí son particularmente útiles para almacenar y disolver rápidamente el fibrinógeno y aplicar la solución resultante a un paciente.

20 BREVE DESCRIPCIÓN DEL DIBUJO

**[0073]** Algunas realizaciones de la invención se describen aquí con referencia a las figuras adjuntas. La descripción, junto con las figuras, pone de manifiesto para una persona con conocimientos ordinarios en la técnica cómo se pueden practicar algunas realizaciones de la invención. Las figuras son para el propósito de la discusión ilustrativa y no se intenta mostrar detalles estructurales de una realización con más detalle que lo que sea necesario para una comprensión fundamental de la invención. En aras de la claridad, algunos objetos representados en las figuras no son a escala.

**[0074]** En las figuras:

30 Fig. 1A es una representación esquemática de un dispositivo según las enseñanzas descritas en la presente memoria, comprendiendo el dispositivo un recipiente para contener una composición sólida, con una entrada, un primer elemento de sellado móvil dispuesto dentro del recipiente y un elemento de sujeción que sujeta de forma liberable el primer elemento móvil sellado en un estado inicial;

35 Fig. 1B es una representación esquemática del dispositivo de la Fig. 1A en un estado en el que la entrada se cambia desde el estado cerrado inicial a un estado abierto;

40 Fig. 1C es una representación esquemática del dispositivo de la Fig. 1B, en el que el elemento de sellado móvil se ha movido desde una posición inicial a una segunda posición.

45 Fig. 2 ilustra una vista lateral en sección transversal de un dispositivo de acuerdo con algunas realizaciones de la presente invención, el dispositivo comprende un recipiente para contener una composición sólida, con una entrada, un primer elemento de sellado móvil dispuesto dentro del recipiente, un elemento de sujeción que sujeta de forma liberable el primer elemento de cierre móvil, un primer controlador, un depósito para contener un disolvente, con una abertura de salida y un segundo elemento de sellado móvil dispuesto dentro del depósito.

Fig. 3 ilustra una vista superior de un dispositivo de acuerdo con algunas realizaciones de la presente invención. El dispositivo comprende una unidad que contiene sólido y una unidad que contiene disolvente.

50 Fig. 4 ilustra una vista en perspectiva de las dos unidades de la Fig. 3 desconectadas una de otra.

Fig. 5 ilustra una vista despiezada de la unidad que contiene disolvente del dispositivo de la Fig. 3.

55 Fig. 6A ilustra una vista en perspectiva de la unidad que contiene sólido de la Fig. 3.

Fig. 6B ilustra una vista despiezada de la unidad que contiene sólido de la Fig. 3, que incluye una realización de un elemento de sujeción.

60 Fig. 7A ilustra una vista en perspectiva y ampliada del elemento de sujeción de la Fig. 6B.

Fig. 7B ilustra una vista en perspectiva de los vástagos de pistón de las jeringas de la unidad que contiene sólido de la Fig. 3.

65 Figs. 8A y B ilustran una vista en perspectiva lateral del elemento de sujeción de la Fig. 6B situado en una carcasa de sujeción de la unidad que contiene sólido.

Fig. 9A ilustra una vista en perspectiva superior del elemento de sujeción de la Fig. 6B, situado en la carcasa de sujeción de la unidad que contiene sólido, en el que el elemento de sujeción está en una posición inicial.

Fig. 9B ilustra una vista en perspectiva inferior del elemento de sujeción de la Fig. 6B, situado en la carcasa de sujeción de la unidad que contiene sólido, en el que el elemento de sujeción está en la misma posición inicial como en la Fig. 9A.

Fig. 9C ilustra una vista en perspectiva inferior del elemento de sujeción de la Fig. 6B, situado en la carcasa de sujeción de la unidad que contiene sólido, en el que el elemento de sujeción está en una segunda posición.

Fig. 10 ilustra una vista lateral de una realización de un controlador.

Figs. 11A-C ilustran una realización de un dispositivo como se describe aquí en una posición inicial. Fig. 11A muestra una vista superior; Fig. 11B muestra una vista lateral en sección transversal; y la Fig. 11C muestra una vista ampliada de la zona que comprende el controlador de la Fig. 11B.

Figs. 12A-C ilustran una realización del dispositivo como se describe aquí en una primera etapa de funcionamiento de acuerdo con algunas realizaciones de la presente invención. Fig. 12A muestra una vista superior; Fig. 12B- muestra una vista lateral en sección transversal; y la Fig. 12C muestra una vista ampliada de la zona que comprende el controlador de la Fig. 12B.

Fig. 13 ilustra la unidad que contiene disolvente conectada a un sistema de conector de fluido a través del cual composiciones disueltas pueden entregarse.

Fig. 14A ilustra un elemento espaciador configurado para posicionarse sobre un vástago de pistón de acuerdo con algunas realizaciones de la presente invención.

Fig. 14B ilustra el espaciador mostrado en la Fig. 14A colocado sobre el vástago del émbolo de la jeringa de la unidad que contiene sólido.

#### DESCRIPCIÓN DE ALGUNAS REALIZACIONES DE LA INVENCION

**[0075]** Se describen aquí métodos y dispositivos para la disolución de composiciones sólidas que comprenden fibrinógeno.

**[0076]** De acuerdo con un aspecto de algunas formas de realización, se proporciona un método para disolver una composición de sólido de fibrinógeno en un disolvente acuoso, que comprende la proporción de un recipiente cerrado que contiene un volumen de la composición de fibrinógeno sólido y un espacio de cabeza, en el que la presión dentro del espacio de cabeza es una presión inferior a la atmosférica; mientras que se mantiene la presión interna en el espacio de cabeza a presión sub-atmósfera, se introduce en el recipiente un volumen de un disolvente acuoso, que es menor que el volumen de la composición de fibrinógeno sólido para formar una solución que comprende al menos 40 mg de fibrinógeno/ml; y, posteriormente, se disminuye el tamaño del espacio de cabeza en el recipiente hasta que la presión en el espacio superior sea igual a la presión atmosférica. En algunas realizaciones, el método comprende además la agitación del recipiente. En algunas realizaciones, el método comprende la agitación de la solución parcialmente disuelta formada tras la adición del disolvente a la composición sólida. En algunas realizaciones, la disolución se produce dentro de no más de 90 segundos.

**[0077]** De acuerdo con un aspecto de algunas formas de realización, se proporciona un dispositivo adecuado para la disolución de una composición sólida en un disolvente acuoso. El dispositivo comprende un primer recipiente cerrado adecuado para la celebración de una primera composición sólida, el primer recipiente cerrado incluye una primera entrada de recipiente cerrado que tiene un estado cerrado y un estado abierto, en el que en el estado cerrado de la primera entrada de contenedor cerrado está sellada al paso de fluido y en el estado abierto la primera entrada de recipiente cerrado proporciona una trayectoria para la comunicación de fluido en el primer recipiente cerrado. El dispositivo comprende además un primer elemento de cierre móvil dispuesto dentro del primer recipiente cerrado, para sellar el primer recipiente cerrado y configurado para mantener de sellado del primer recipiente cerrado mientras se mueva en el mismo entre al menos una primera y una segunda posición dentro del primer recipiente cerrado, para disminuir el volumen interno del primer recipiente cerrado. La primera posición es tal que el espacio de cabeza dentro del recipiente tiene una presión sub-atmosférica, y la segunda posición es tal que el espacio de cabeza tiene una presión igual a la presión atmosférica. El dispositivo comprende además un primer elemento de sujeción configurado para mantener de manera liberable el primer elemento de cierre móvil en una primera posición dentro del primer recipiente cerrado. El dispositivo comprende además un primer controlador para controlar el cambio de la primera entrada de contenedor cerrado entre un estado cerrado y un estado abierto.

**[0078]** Cuando la primera entrada de recipiente cerrado está en un estado cerrado y el primer elemento de cierre móvil se encuentra en una primera posición, la presión del primer recipiente cerrado es sub-atmosférica. Alternativamente, cuando la primera entrada de recipiente cerrado está en un estado cerrado mientras que el primer

elemento de sellado móvil está en la segunda posición, y, posteriormente, el primer elemento de cierre móvil se mueve a la primera posición y el primer elemento de retención sostiene el primer elemento de cierre móvil, se forma un espacio de cabeza que tiene una presión sub-atmosférica.

5 **[0079]** Los principios, usos y puestas en práctica de las enseñanzas en el presente documento pueden entenderse mejor con referencia a la descripción y figuras que se acompañan. Tras la lectura de la descripción y las figuras presentes en este documento, un experto en la técnica es capaz de poner en práctica la invención sin esfuerzo o experimentación indebida. En las figuras, números de referencia similares se refieren a partes similares.

10 **[0080]** Antes de explicar al menos una realización en detalle, ha de entenderse que la invención no está necesariamente limitada en su aplicación a los detalles de construcción y la disposición de los componentes y/o los métodos establecidos en la siguiente descripción y/o ilustrados en los dibujos. La invención es capaz de otras realizaciones o de realizarse o llevarse a cabo de diversas maneras. La fraseología y la terminología empleadas en el presente documento son para fines descriptivos y no deben considerarse como limitantes.

15 **[0081]** Con referencia ahora a las figuras 1A-1C, se muestra una representación esquemática de un dispositivo **10** de acuerdo con las enseñanzas descritas en este documento. El dispositivo **10** comprende un recipiente cerrado **12** que contiene un volumen **14** de una composición sólida, y un espacio superior **16**. El recipiente puede ser cualquier recipiente adecuado para contener la composición sólida. Los ejemplos de recipientes incluyen, pero no se limitan a, botellas, recipientes de liofilización, barriles, jarras, y jeringas. El recipiente está cerrado por un primer elemento de cierre móvil, por ejemplo una tapa de goma. El recipiente puede estar hecho de cualquier material adecuado tal como vidrio, plástico, metal y similares.

20 **[0082]** El envase cerrado **12** comprende una entrada **18** para controlar el paso de un disolvente acuoso en el volumen interior del recipiente cerrado **12**. La entrada **18** tiene un estado cerrado, en el que el flujo de disolvente acuoso en el volumen interior del recipiente **12** está bloqueado, y un estado abierto en el que la entrada **18** proporciona un camino para el flujo de disolvente acuoso en el volumen interior del recipiente **12**. Un controlador **20** controla el cambio de la entrada **18** desde el estado abierto al estado cerrado. Alternativamente, en algunas formas de realización, el controlador **20** comprende un elemento de perforación, tal como una aguja unida a una jeringa que comprende un disolvente acuoso (no mostrado), y un estado abierto de la entrada **18** se proporciona en un casquillo de recipiente cerrado **12** por la perforación de la tapa con el elemento de perforación.

25 **[0083]** Dispuesto dentro del recipiente **12** es un elemento de sellado móvil **22**, para el recipiente de sellado **12**. El elemento de sellado móvil **22** se puede mover dentro del recipiente **12** para cambiar el volumen del espacio de cabeza **16** dentro del recipiente **12**, en el que se mueve el elemento de sellado **22** en una dirección que disminuye el volumen de espacio de cabeza **16** aumenta la presión dentro del espacio de cabeza **16**. El elemento de sellado móvil **22** se mantiene de manera liberable en una primera posición dentro del recipiente **12** (directa o indirectamente) por un elemento de sujeción **24**, de tal manera que cuando el elemento de sellado móvil **22** está en la primera posición, el volumen de espacio de cabeza **16** es tal que la presión dentro del espacio de cabeza **16** es inferior a la atmosférica. El elemento de sujeción **24** está conectado opcionalmente a un accionador de elemento de sujeción **39** (que se muestra en la Figura 6B), que acciona la liberación de elemento de sellado móvil **22** de elemento de sujeción **24**.

35 **[0084]** Tras la liberación, el elemento de sellado móvil **22** se mueve a una segunda posición, de manera que el volumen de espacio de cabeza **16** se disminuye, y la presión del espacio de cabeza **16** se incrementa a igual presión atmosférica.

40 **[0085]** El recipiente **12** puede estar opcionalmente sujeto dentro de una carcasa **64** (mostrada, por ejemplo, en la Fig. 3).

50 **[0086]** El dispositivo **10** puede comprender además un depósito **42** (mostrado, por ejemplo, en la Figura 2) para contener el disolvente acuoso.

55 **[0087]** En un estado inicial, como se muestra en la Figura 1A, la entrada **18** está en el estado cerrado, el elemento de sujeción **24** mantiene el elemento de junta móvil **22** en una primera posición, y la presión en el espacio de cabeza **16** es inferior a la atmosférica.

60 **[0088]** La Figura 1B muestra el uso del dispositivo **10**, cuando la entrada **18** se cambia desde el estado cerrado inicial al estado abierto, de tal manera que se permite que el disolvente acuoso fluya en el volumen interior del recipiente **12**, mientras que el elemento de sellado móvil **22** se mantiene en su una primera posición dentro del recipiente **12** por el elemento de sujeción **24**, de tal manera que la presión tal en el espacio de cabeza **16** se mantenga a un nivel subatmosférico. El volumen ocupado por el disolvente acuoso es menor que el volumen ocupado por la composición sólida.

65 **[0089]** Como se muestra en la Figura 1C, después de que el disolvente acuoso se haya permitido fluir en el volumen interior del recipiente **12**, el elemento de sellado móvil **22** se libera del elemento de sujeción **24**, y se mueve dentro

del recipiente **12** a una segunda posición tal que el volumen de espacio de cabeza **16** se reduzca y la presión dentro del espacio de cabeza **16** se aumente proporcionalmente, hasta que se alcance la presión atmosférica.

**[0090]** De acuerdo con algunas realizaciones, el recipiente cerrado **12** comprende un barril de jeringa, y el elemento de sellado móvil **22** comprende un émbolo encerrado al menos parcialmente dentro del barril. En algunas de tales formas de realización, un elemento de sujeción **24** sujeta de forma liberable el émbolo en una primera posición antes de su uso.

**[0091]** Con referencia ahora a la Figura 2, se muestra una vista lateral en sección transversal de un ejemplo de dispositivo **30**, un primer barril de jeringa **32** que tiene un extremo frontal **34** que tiene una entrada **18** y un extremo posterior **36**, un primer elemento de sellado móvil **22a** dispuesto dentro del primer barril de jeringa **32**, un elemento de sujeción **24** para sujetar de manera liberable el primer elemento de sellado móvil **22a**, y un controlador **20** para cambiar de entrada **18** desde un estado cerrado a un estado abierto. El controlador **20** está indirectamente o directamente conectado a un accionador controlador **38**, que, cuando se accione provoca que el controlador **20** cambie de entrada **18** desde un estado cerrado a un estado abierto.

**[0092]** El primer elemento de sellado móvil (Fig. 2) **22a** comprende un primer pistón de forma deslizante desplazable que tiene un primer vástago de pistón **40a** que se extiende fuera del extremo posterior del barril de jeringa **32** para el funcionamiento del primer pistón.

**[0093]** En algunas realizaciones, el elemento de sujeción **24** comprende un separador colocado entre un extremo posterior del vástago del pistón **40a** y el extremo posterior **36** de primer barril de jeringa **32**, evitando que el vástago de pistón **40a** se mueva hacia delante en primer barril de jeringa **32**. El elemento de sujeción **24** es opcionalmente conectado a un actuador (no mostrado), que, cuando se acciona, hace que el elemento de sujeción **24** libere el primer elemento de sellado móvil **22a**.

**[0094]** En algunas realizaciones, un rebaje está dispuesto en el vástago de pistón **40a**, y el elemento de sujeción **24** comprende al menos un saliente **72** (como se muestra en las Figs. 6B y 7A) configurado para acoplarse de forma reversible dentro de la cavidad **70** (como se muestra en la figura 7B).

**[0095]** En algunas realizaciones, el dispositivo **30** (por ejemplo, Fig. 2) comprende además un depósito **42** que comprende un segundo barril de jeringa **44**, para contener un disolvente acuoso antes de su uso, y un segundo elemento de sellado móvil **22b** dispuesto dentro del cilindro **44** para el depósito sellado **42**. Dispuesto dentro del cilindro **44** es un segundo elemento de cierre móvil **22b**, que comprende un segundo pistón de forma deslizante desplazable que tiene un segundo vástago de pistón **40b** que se extiende fuera del extremo posterior del barril de jeringa **44** para el funcionamiento del segundo pistón.

**[0096]** El depósito **42** comprende una salida **46** directa o indirectamente conectada a la entrada **18**. En algunas realizaciones, el recipiente cerrado **12** y el depósito **42** están configurados para permitir la agitación del disolvente acuoso después de la adición a la composición sólida, para facilitar la disolución de la composición sólida en el disolvente. En algunas realizaciones, los recipiente cerrados **12** y el depósito **42** están configurados para permitir la agitación por transferencia repetida del disolvente acuoso (y de una suspensión que comprende una solución disuelta parcialmente formada después de la adición del disolvente acuoso a la composición sólida) entre el depósito **42** y el recipiente **12**.

**[0097]** El controlador **20** se encuentra opcionalmente entre la entrada **18** y la salida **46**.

**[0098]** La Figura 3 ilustra una vista superior de un dispositivo **50** de acuerdo con algunas realizaciones de la presente invención, en el que el dispositivo **50** comprende una unidad que contiene sólido **52** para contener las composiciones sólidas y una unidad que contiene disolvente **54** para contener disolventes.

**[0099]** La unidad que contiene sólido **52** comprende dos recipientes cerrados **12a**, **12b**, comprendiendo cada uno un barril de jeringa **32a**, **32b**, que tiene una entrada **18a**, **18b**, configurándose cada barril de jeringa **32a**, **32b** para contener una composición sólida diferente (por ejemplo, la trombina y fibrinógeno, respectivamente). Disolventes que contienen la unidad **54** comprenden dos depósitos, conteniendo cada uno un barril de jeringa **44a**, **44b**, que tiene una salida **46a**, **46b**, configurándose cada barril de jeringa **44a**, **44b** para contener un disolvente para disolver las composiciones sólidas contenidas en barriles de jeringas **32a**, **32b**, respectivamente. Barriles de jeringa **44a**, **44b** pueden contener los mismos o diferentes disolventes acuosos.

**[0100]** Los barriles de jeringas **32a**, **32b**, **44a**, **44b** tienen cada uno un elemento de sellado móvil **22a**, **22c**, **22b**, **22d** (no mostrado), respectivamente, dispuesto en su interior, y un elemento de sujeción **24**, para sujetar de manera liberable al menos uno de elementos de sello móvil **22a**, **22c**, y al menos un controlador **20** para cambiar al menos una primera de las entradas **18a**, **18b** de un estado cerrado a un estado abierto. En algunas realizaciones, el controlador **20** cambia las dos entradas **18a**, **18b** de un estado cerrado a un estado abierto. El dispositivo **50** puede comprender opcionalmente un segundo controlador **20b** para cambiar una segunda de entradas **18a**, **18b** de un estado cerrado a un estado abierto. Los controladores **20a**, **20b** (mostrados en la Fig. 6B) están opcionalmente situados entre la entrada **18a** y la salida **46a**, y entre la entrada **18b** y la salida **46b**, respectivamente.

5 **[0101]** El dispositivo **50** comprende una carcasa **64** para la celebración de sólido que contiene la unidad **52**, y una carcasa **66** para la celebración de disolventes que contiene la unidad **54**. Alternativamente, la unidad que contiene sólido **52** y la unidad de disolvente que contiene **54** pueden ambos llevarse a cabo dentro de una única carcasa (no mostrada). Además, como alternativa, al menos una de la unidad que contiene sólido **52** y la unidad que contiene disolvente **54** se puede proporcionar sin una carcasa. El elemento de sujeción **24** se encuentra opcionalmente dentro de/en la carcasa **64**. Los controladores **20a** y/o **20b** se encuentran opcionalmente dentro de la carcasa **64**.

10 **[0102]** En algunas realizaciones, el controlador **20** está conectado a un accionador controlador **38**, que, cuando se acciona causa que el controlador **20** cambie al menos una primera de las entradas **18a**, **18b** de un estado cerrado a un estado abierto. Alternativamente, en algunas formas de realización, que comprenden un primer controlador **20a** y un segundo controlador **20b**, cada controlador **20a**, **20b** comprende o está conectado a un accionador controlador **38a**, **38b**, respectivamente, y los controladores **20a**, **20b** están colocados opcionalmente debajo de actuadores controladores **38a**, **38b**. Alternativamente, en algunas realizaciones, un solo accionador controlador **38** está conectado a y controla tanto el primer controlador **20a** como el segundo controlador **20b** como se muestra en las Figuras 6A y 6B.

20 **[0103]** Cuando el dispositivo **50** está en un estado inicial, antes de la activación de al menos actuadores del controlador **38**, y la actuación de los controladores **20a**, **20b**, las entradas **18a**, **18b** se cierran, impidiendo el flujo de disolvente acuoso en barriles de jeringa **32a**, **32b**. Tras la activación del accionador controlador **38**, al menos uno de los controladores **20a**, **20b** es accionado, de tal manera que al menos una de las entradas **18a**, **18b** se cambia de una posición cerrada a una posición abierta, permitiendo el flujo de disolvente acuoso en al menos uno de los barriles de jeringa **32a**, **32b**.

25 **[0104]** Cada elemento sellado movable **22a**, **22b**, **22c**, **22d** comprende un pistón desplazable de forma deslizante que tiene un vástago de pistón **40a**, **40b**, **40c**, **40d**, respectivamente, que se extiende fuera del extremo posterior del respectivo barril de jeringa **32a**, **44a**, **32b**, **44b** para el funcionamiento del pistón.

30 **[0105]** Opcionalmente, los vástagos de pistón **40a**, **40c** de la unidad que contiene sólido **52** están conectados mecánicamente a través de un elemento de acoplamiento **56**, y barras de pistón **40b**, **40d** de la unidad que contiene disolvente **54** están conectados mecánicamente a través de un elemento de acoplamiento **58**, de modo que el par de vástagos de pistón en cada unidad puede moverse conjuntamente.

35 **[0106]** Los barriles de jeringas **32a**, **32b** de la unidad que contiene sólido **52** están conectados de forma reversible en comunicación de fluido con barriles de jeringas **44a**, **44b**, respectivamente, de la unidad que contiene disolvente **54**, a través de conectores de fluido **60**, **62**. Los conectores de fluido pueden ser, por ejemplo, adaptadores luer. Por ejemplo, la unidad que contiene sólido **52** puede incluir un conector de fluido **60** que comprende dos adaptadores luer macho y la unidad que contiene disolvente **52** puede incluir un conector de fluido **62** que comprende dos adaptadores luer hembra. Los barriles de jeringas **32a**, **32b** están colocados enfrente de barriles de jeringa **44a**, **44b**, respectivamente, y conectados por accesorios leur que proporcionan comunicación de fluido.

40 **[0107]** Cuando el dispositivo **50** está en una posición inicial, la presión en el espacio de cabeza **16** dentro de cada barril de jeringa **32a**, **32b** es inferior a la atmosférica, las entradas **18a**, **18b** están en un estado cerrado, y el elemento de sujeción **24** sostiene vástagos de pistón **40a**, **40c** en una primera posición en la que la presión en el espacio de cabeza **16** se mantiene a un nivel sub-atmosférico.

50 **[0108]** En algunas realizaciones, las etapas de la apertura de las entradas **18a**, **18b** y por lo tanto permitir que el disolvente fluya en barriles de jeringa **32a**, **32b** resulta en un aumento de la presión dentro del espacio de cabeza **16**. La presión en el espacio de cabeza **16** se mantiene ventajosamente a presión sub-atmosférica durante la etapa de entrada de disolvente en barriles de jeringa **32a**, **32b**. Por ejemplo, tortas altamente porosas con gran superficie se pueden utilizar para acortar el tiempo de disolución, dado que se previene el colapso de tales tortas por el émbolo en el barril de jeringa **32**, antes de la introducción del disolvente en barril de jeringa **32**.

55 **[0109]** En algunas realizaciones, el mantenimiento de una diferencia de presión entre la presión en el espacio de cabeza **16** en barriles de jeringas **32a**, **32b** y la presión dentro de barriles de jeringa **44a**, **44b** mientras que se abre las entradas **18a**, **18b**, permite que el disolvente se introduzca espontáneamente en la jeringa de barriles **32a**, **32b**.

60 **[0110]** De acuerdo con algunas formas de realización, cuando el dispositivo **50** comprende dos barriles de jeringas **32a**, **32b** cada uno con una composición sólida, se permite la disolución de las dos composiciones sólidas y una administración inmediata y simultánea de las dos composiciones sólidas disueltas (por ejemplo, una solución de fibrinógeno que comprende la solución y una solución de trombina que comprende la solución).

65 **[0111]** La Figura 4 ilustra una vista en perspectiva del dispositivo **50** de la Figura 3, que muestra la unidad **52** que contiene sólidos y la unidad **54** que contiene disolventes de la Figura 3 desconectadas la una de la otra por el desprendimiento del conector de fluido **60** comprendiendo accesorios leur masculinos de conector de fluido **62** comprendiendo accesorios leur femeninos.

5 [0112] La Figura 5 ilustra una vista despiezada de una realización de la unidad que contiene disolvente 54 de las Figuras 3 y 4, que comprende barriles de jeringas **44a, 44b**, un pistón que tiene un vástago de pistón **40b, 40d**, respectivamente, que se encuentra dentro de cada barril de jeringa **44a, 44b**. Cada barril de jeringa **44a, 44b**, tiene una salida **46a, 46b**, respectivamente. Los barriles de jeringa **44a, 44b**, están configurados para contener un disolvente. Cada uno de barril de jeringa **44a, 44b** pueden comprender los mismos o diferentes disolventes.

10 [0113] La Figura 6A ilustra una vista en perspectiva de una realización de unidad **52** que contiene sólido de las Figuras 3 y 4, contenidas dentro de una carcasa **64** y que incluye un elemento de sujeción **24**, opcionalmente posicionado en la carcasa **64**, y opcionalmente en su lugar por dos componentes **25** en forma de "U" (que se muestran en la Figura 6B), que forman estructuras similares a un canal. La unidad **52** que contiene sólido comprende dos barriles de jeringas **32a, 32b**, cada uno configurado para la sujeción de una composición sólida. Cada barril de jeringa **32a, 32b** puede ser el mismo, o una composición sólida diferente. En una realización, el barril de jeringa **32a** comprende una composición sólida que comprende fibrinógeno y el barril de jeringa **32b** comprende una composición sólida que comprende trombina. El dispositivo **50** comprende además un accionador controlador **38**.

20 [0114] La Figura 6B ilustra una vista despiezada de la unidad **52** que contiene sólido de la Figura 6A, en el que los vástagos de pistón **40a, 40c** comprenden al menos un rebaje **70** y el elemento de sujeción **24** (opcionalmente posicionado directamente o indirectamente en el extremo posterior de la unidad **52** que contiene sólido o en la carcasa **64**) comprende al menos un saliente, tal como al menos una protuberancia **72**, en la que el rebaje **70** está configurado para acoplarse de forma reversible la protuberancia **72**, de tal manera que cuando el dispositivo **50** en la posición inicial, la protuberancia **72** se acopla dentro del rebaje **70** y elemento de sujeción **24** tiene al menos un elemento de sellado móvil **22a, 22c** en una posición fija para mantener la presión sub-atmosférica dentro del barril de jeringa **32a, 32b** de la unidad **52** que contiene sólido. La ubicación del receso **70** está determinada de acuerdo con el requerido volumen de espacio de cabeza **16** dentro de barriles **32a, 32b** para mantener la presión deseada dentro del espacio de cabeza **16**.

30 [0115] En algunas realizaciones, cada vástago de pistón **40a, 40c** comprende un rebaje **70a, 70b**, respectivamente, y el elemento de sujeción **24** comprende dos protuberancias **72a, 72b**, estando cada uno de los cuales configurado para engancharse en uno de rebajes **70a** y **70b**, tales que los sellos móviles **22a, 22c** son retenidos por el elemento de sujeción **24**, y el volumen de espacio de cabeza **16** en cada uno de los barriles **32a, 32b** se mantiene a un nivel que proporcione presión sub-atmosférica en el espacio de cabeza **16**.

35 [0116] Alternativamente, sólo un primer vástago de pistón **40a** comprende un rebaje **70** configurado para acoplarse a una protuberancia **72** del elemento de sujeción **24**. En tales realizaciones, el vástago de pistón **40c** está conectado opcionalmente al vástago de pistón **40a** de manera que ambos vástagos de pistón **40a, 40c** se mantienen inicialmente en una primera posición por el elemento de sujeción **24** de tal manera que una presión sub-atmosférica se mantenga en el espacio de cabeza **16** dentro de cada barril de jeringa **32a, 32b**. Alternativamente, los vástagos de pistón **40a, 40c** pueden estar separados, de modo que la presión sub-atmosférica se mantenga sólo en el espacio de cabeza **16** de barril de jeringa **32a**.

45 [0117] Además, opcionalmente, uno o más de los vástagos de pistón **40a, 40c** puede comprender más de un rebaje **70**, situado en diferentes posiciones a lo largo de los vástagos de pistón **40a** y/o **40c**, para proporcionar diferentes niveles de presión opcional dentro del espacio de cabeza **16**.

50 [0118] Como se muestra además en la Figura 6B, los controladores **20a, 20b** están conectados a un accionador controlador **38**, que, cuando se acciona (por ejemplo, presionado hacia abajo por el usuario en una primera etapa de funcionamiento del dispositivo **50**), provoca que el primer controlador **20a** cambie de entrada **18a** de un estado cerrado a un estado abierto, que permite el flujo de disolvente al barril de jeringa **32a** de la unidad **52** que contiene sólido, y provoca que el segundo controlador **20b** cambie de entrada **18b** de un estado cerrado a un estado abierto, que permite el flujo de disolvente en barril de jeringa **32b**. Opcionalmente, un único controlador **20** cambia simultáneamente entradas **18a** y **18b** desde una posición cerrada a una posición abierta.

55 [0119] El elemento de sujeción **24** comprende opcionalmente o está conectado a un accionador de elemento de sujeción **39**, que cuando se activa (por ejemplo, se presiona hacia abajo por el usuario en una segunda etapa de funcionamiento del dispositivo **50**), hace que al menos uno de los elementos móviles de sellado **22a, 22c**, se liberen desde el elemento de sujeción **24**, lo que permite que al menos un elemento móvil de sellado **22a, 22c**, se mueva dentro del recipiente. Opcionalmente, cada uno de los elementos móviles de sellado **22a, 22c**, se libera simultáneamente de elemento de sujeción **24**. Alternativamente, el dispositivo **50** puede comprender elementos de sujeción **24a, 24b**, para sujetar individualmente cada uno de los elementos móviles de sellado **22a, 22c**, respectivamente. El elemento de sujeción actuador **39** activa opcionalmente el elemento de sujeción único **24** para liberar de forma simultánea cada uno de los elementos móviles de sellado **22a, 22c**. Alternativamente, el dispositivo **50** puede comprender actuadores de elemento de sujeción individuales **39a, 39b**, para el accionamiento de elementos de sujeción **24a, 24b**, respectivamente.

- 5 **[0120]** En algunas realizaciones, en una posición inicial del dispositivo **50**, cada uno de los barriles de jeringa **32a**, **32b**, que contiene una composición sólida, tiene una presión sub-atmosférica en el espacio de cabeza **16**, el controlador **20** (o controladores **20a**, **20b**) está cerrado, y vástagos de pistón **40a**, **40c** se llevan a cabo en una primera posición por el elemento de sujeción **24** para mantener la presión sub-atmosférica en el espacio de cabeza **16** de barriles de jeringas **32a**, **32b**, y para evitar la succión de los vástagos de pistón **40a**, **40c** en barriles de jeringa **32a**, **32b** debido a la diferencia de presión entre la presión atmosférica del medio ambiente y la presión sub-atmosférica dentro del espacio de cabeza **16** de barriles **32a**, **32b**.
- 10 **[0121]** La Figura 7A ilustra una vista en perspectiva y ampliada de una realización de un elemento de sujeción **24**, que comprende dos protuberancias **72a**, **72b**, y un accionador de elemento de sujeción **39**. El elemento de sujeción **24** comprende una parte de base estrecha **74** y una porción más ancha superior **76**. En tales realizaciones, se evita que el elemento de sujeción **24** se empuje hacia abajo en la estructura similar a un canal formada por componentes **25** en forma de "U" (que se muestran en la Figura 6B), debido a la anchura de la porción superior **76**.
- 15 **[0122]** La Figura 7B ilustra una vista en perspectiva de una realización de vástagos de pistón **40a**, **40c** de barriles de jeringa **32a**, **32b** de la unidad **52** que contiene sólido de acuerdo con algunas realizaciones descritas en este documento. Los rebajes **70a**, **70b** están configurados para activar protuberancias **72a**, **72b**, respectivamente.
- 20 **[0123]** Las Figuras 8A y 8B ilustran una vista en perspectiva de una realización del elemento de sujeción **24** que comprende protuberancias **72a**, **72b**, situadas en un extremo proximal de la carcasa **64** que mantiene unidos barriles de jeringa **32a**, **32b** de la unidad que contiene sólido **52**. En la Figura 8A, el elemento de sujeción **24** está en una primera posición **78**, antes del accionamiento, en el que las protuberancias **72a**, **72b** se acoplan dentro de los rebajes **70a**, **70b**, respectivamente. En la Figura 8B, después del accionamiento mediante la sujeción del actuador de elemento **39**, y desacoplamiento de protuberancias **72a**, **72b** de rebajes **70a**, **70b**, el elemento de sujeción **24** se mueve a una segunda posición **80** en la carcasa **64**.
- 25 **[0124]** La Figura 9A ilustra una vista en perspectiva superior de una realización de elemento de sujeción **24**, en una primera posición **78**, antes de la activación, con dos protuberancias **72a**, **72b** de elemento de sujeción **24** acoplado dentro de dos rebajes **70a**, **70b** situado en una posición fija a lo largo de los vástagos de pistón **40a**, **40c**, de tal manera que los vástagos de pistón **40a**, **40c** se retienen en una primera posición.
- 30 **[0125]** La Figura 9B ilustra una vista en perspectiva desde abajo de una realización de elemento de sujeción **24** en la misma posición que en la Figura 9A.
- 35 **[0126]** La Figura 9C ilustra una vista en perspectiva desde abajo de una realización de elemento de sujeción **24**, en una segunda posición **80**, después del accionamiento mediante la sujeción del actuador de elemento **39**, en el que las protuberancias **72a**, **72b** se desenganchan de rebaje **70a**, **70b**, liberando de este modo el elemento de retención **24** de vástagos de pistón **40a**, **40c**, de tal manera que los vástagos de pistón **40a**, **40c** son libres de moverse dentro de barriles de jeringas **32a**, **32b**, respectivamente.
- 40 **[0127]** La Figura 10 ilustra una vista lateral de una realización del controlador **20**, que tiene una porción sustancialmente cilíndrica **82** y una porción inferior de cóncava más amplia **84**. Antes del accionamiento del controlador **20**, porción más ancha **84** se encuentra en una trayectoria de flujo entre barriles de jeringa **32a**, **32b** que comprenden la composición sólida y barriles de jeringas **44a**, **44b** comprenden el disolvente acuoso, tal que el flujo de disolvente a partir de barriles de jeringa **44a**, **44b** a barriles de jeringa **32a**, **32b** se bloquea físicamente. Cuando el accionador controlador **38** acciona el controlador **20**, el controlador **20** se mueve de tal manera que la parte cilíndrica **82** se encuentra en la trayectoria de flujo y el flujo de disolvente a partir de barriles de jeringa **44a**, **44b** a los barriles de jeringa **32a**, **32b** puede ocurrir alrededor de la porción cilíndrica **82**. En una realización, tras el accionamiento del controlador **20**, la trayectoria de flujo permanece abierta.
- 45 **[0128]** Las Figuras 11A-C ilustran el dispositivo **50** en un estado inicial, en el que el disolvente está contenido dentro de barriles de jeringas **44a**, **44b**, las entradas **18a**, **18b** están en una posición cerrada como se mantiene por el controlador **20**. La Figura 11A muestra una vista superior; la Figura 11B muestra una vista lateral en sección transversal; y la Figura 11C muestra una vista ampliada de la zona que comprende el controlador **20**. En esta figura, los vástagos de pistón **40a**, **40c** están en una posición inicial para mantener el volumen de espacio de cabeza **16** de tal manera que la presión en el espacio de cabeza **16** se mantenga a una presión sub-atmosférica. Posteriormente, el accionador controlador **38** se activa de modo que el controlador **20** cambie las entradas **18a**, **18b** desde una posición cerrada a una posición abierta, tal como por eliminación de una porción inferior de cóncava más amplia **84** de controlador **20** de la trayectoria de flujo. Los vástagos de pistón **40b**, **40d** de la unidad que contiene el disolvente **54** se introducen en barriles de jeringa **44a**, **44b** debido a la diferencia de presión entre la presión atmosférica del entorno circundante y la presión sub-atmosférica en el espacio de cabeza **16** dentro de las jeringas **32a**, **32b**, de tal manera que el disolvente fluye a partir de barriles de jeringa **44a**, **44b** a los barriles de jeringa **32a**, **32b**, respectivamente.
- 50 **[0129]** Las Figuras 12A-C ilustran el dispositivo **50** después de la transferencia del disolvente de la jeringa de barriles **44a**, **44b** a los barriles de jeringa **32a**, **32b**. La Figura 12A muestra una vista superior; la Figura 12B muestra
- 55
- 60
- 65

una vista en sección transversal; y la Figura 12C muestra una vista ampliada de la zona que comprende el controlador **20**. Durante este paso, la parte sustancialmente cilíndrica **82** de controlador **20** está situada en la trayectoria de flujo de fluido.

5 **[0130]** La Figura 13 ilustra la unidad **54** que contiene disolvente, desconectada de la unidad **52** que contiene sólido y conectada a un sistema de conector de fluido **86** incluyendo conectores de fluido **60**, **62** que comprenden adaptadores luer a través de los cuales las soluciones formadas a partir de la disolución de las dos composiciones sólidas en el disolvente pueden administrarse a un sujeto. El sistema de conector de fluido **86** puede comprender opcionalmente un catéter que tiene múltiples lúmenes para proporcionar múltiples canales de flujo.

10 **[0131]** La Figura 14A ilustra una realización del elemento de sujeción **24** que comprende un espaciador **88** que tiene una estructura en forma de túnel **90**, que comprende opcionalmente un material rígido, y se configura para posicionarse sobre vástagos de pistón **40a**, **40c** de la unidad **52** que contiene sólido, opcionalmente entre un extremo posterior de los vástagos de pistón **40a**, **40c** y de barril de jeringa **32** que contiene las composiciones sólidas.

15 **[0132]** La Figura 14B ilustra el espaciador **88** posicionado en el vástago de pistón **40** de un barril de jeringa **32** de la unidad que contiene sólido **52**. En tal realización, el espaciador **88** evita que el vástago de pistón **40** se introduzca en el barril de jeringa **32**. Tras la retirada del espaciador **88** del vástago de pistón **40**, el vástago de pistón **40** se libera y se introduce en el barril de jeringa **32**. La longitud y la posición del espaciador **88** se determina de acuerdo con el volumen de espacio de cabeza **16** que se requiere dentro del barril de jeringa **32** con el fin de proporcionar una presión requerida dentro del espacio de cabeza **16**.

20 **[0133]** En algunas realizaciones, la secuencia de funcionamiento de dispositivo **50** incluye los siguientes pasos:

25 En una posición inicial, la unidad **52** que contiene sólido y la unidad **54** que contiene líquido/disolvente están conectadas la una a la otra (por ejemplo, a través de conectores de fluido **60**, **62** comprendiendo adaptadores luer) configuradas para proporcionar comunicación de fluido entre barriles de jeringas **44a**, **44b** de disolvente que contiene la unidad **54**, y la jeringa de barriles **32a**, **32b** de la unidad **52** que contiene sólido. En esta etapa, las entradas **18a**, **18b** están cerradas, impidiendo el flujo de fluido desde barriles de jeringa **44a**, **44b** a los barriles de jeringa **32a**, **32b**. El volumen ocupado por el disolvente en barriles de jeringa **44a**, **44b**, es menor que el volumen ocupado por las composiciones sólidas en barriles de jeringa **32a**, **32b**. La presión en el espacio de cabeza **16** dentro de barriles de jeringa **32a**, **32b** es inferior a la atmosférica. La presión dentro de un espacio de cabeza en barriles de jeringa **44a**, **44b** es igual a la presión ambiental, por ejemplo la presión atmosférica. Los vástagos de pistón **40a**, **40c** de las jeringas de la unidad **52** que contiene sólido se retienen en su posición inicial cerrado parcialmente dentro de sus correspondientes barriles usando un elemento de sujeción **24** como se detalla anteriormente.

30 **[0134]** En un primer paso, el usuario activa el accionador controlador **38**, por ejemplo presionando hacia abajo, accionando de este modo los controladores **20a**, **20b** y la apertura de las entradas **18a**, **18b** y las salidas **46a**, **46b**, permitiendo con ello el flujo de disolvente a partir del tubo de la jeringa **44a** al barril de jeringa **32a**, y del barril de jeringa **44b** para el barril de jeringa **32b**. Cuando el disolvente fluye en barriles de jeringa **32a**, **32b** la presión dentro del espacio de cabeza **16** en barriles **32a**, **32b** se mantiene en un nivel sub-atmosférico.

35 **[0135]** En una realización, después de activar el accionador controlador **38**, la conexión de fluido permanece abierta.

40 **[0136]** En una segunda etapa, después de que todo el disolvente se introduzca en barriles de jeringa **32a**, **32b**, el usuario activa la sujeción del actuador del elemento **39** (que es opcionalmente una parte de elemento de sujeción **24**), lo que resulta en la liberación de los vástagos de pistón **40a**, **40c** de la unidad **52** que contiene sólido. Posteriormente, los vástagos de pistón **40a**, **40c** se introducen en sus correspondientes barriles de jeringa **32a**, **32b** en virtud de la presión más baja en barriles de jeringa **32a**, **32b** con respecto a la presión atmosférica del medio ambiente, lo que resulta en un aumento de la presión dentro del espacio de cabeza **16** de barriles **32a**, **32b** hasta que la presión dentro del espacio de cabeza **16** sea igual a la presión atmosférica.

45 **[0137]** De acuerdo con los principios descritos en este documento, el aumento de la presión se consigue mediante la disminución del espacio de cabeza en barriles de jeringa **32a**, **32b** sin la introducción de gas en las jeringas. Ventajosamente, el cambio en el nivel de presión dentro del espacio de cabeza **16** elimina sustancialmente o reduce al mínimo la formación de espuma y permite la agitación de la suspensión de la composición sólida en el disolvente en una ausencia casi completa de la espuma.

50 **[0138]** La suspensión se puede agitar mediante vástagos de pistón **40a**, **40b**, **40c**, **40d**, mediante la transferencia de la suspensión entre barriles de jeringa **44a** y **32a**, y entre cilindros de jeringa **44b** y **32b** varias veces para facilitar la disolución completa y formar una solución en la que la composición sólida se disuelve completamente en el disolvente. Después de completar la disolución o reconstitución, el usuario puede desconectar la unidad **52** de la unidad **54** y administrar la solución reconstituida a una ubicación deseada, por ejemplo, mediante la conexión de un

sistema de conector de fluido **86**, a través del cual se puede administrar los dos soluciones reconstituidas.

**[0139]** Se aprecia que ciertas características de la invención, que son, para mayor claridad, descritas en el contexto de realizaciones separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una única realización.

**[0140]** A la inversa, diversas características de la invención, que se describen, por brevedad, en el contexto de una única realización, también pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación adecuada o como adecuada en cualquier otra forma de realización descrita de la invención. Ciertas características que se describen en el contexto de diversas realizaciones no han de considerarse características esenciales de estas formas de realización, a menos que la forma de realización sea inoperante sin esos elementos.

**[0141]** Aunque la invención se ha descrito junto con realizaciones específicas de la misma, es evidente que muchas alternativas, modificaciones y variaciones serán evidentes para los expertos en la técnica. En consecuencia, se pretende abarcar todas estas alternativas, modificaciones y variaciones que caen dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

**[0142]** La cita o identificación de cualquier referencia en esta solicitud no se interpretará como una admisión de que tal referencia está disponible como técnica anterior a la invención.

## EJEMPLOS

### Materiales y métodos:

#### *Liofilización.*

**[0143]** La liofilización se llevó a cabo de acuerdo con el ciclo mostrado en la Tabla 1 utilizando un liofilizador Cristo Epsilon 2-8D. La liofilización se llevó a cabo en viales o vasos cilíndricos, que se sellaron al finalizar el proceso de liofilización. El procedimiento de liofilización produjo una "torta" sólida, de fibrinógeno tridimensional.

**Tabla 1**

Sección (Mbar)	Fase	Tiempo (h: m)	Temp (°C)	Vacío
1	Valores de inicio	--:--	4	APAGADO
2	Congelación	1:00	-30	APAGADO
3	Congelación	1:00	-50	APAGADO
4	Congelación	5:40	-50	APAGADO
5	Preparación	0:20	-45	APAGADO
6	Sublimación	0:15	-42	0,2
7	Sublimación	0:15	-25	0,2
8	Sublimación	25:00	-25	0,2
9	Sublimación	1:00	-15	0,2
10	Sublimación	12:00	-15	0,2
11	Segundo secado	2:00	20	0,2
12	Segundo secado	5:00	20	0,2
13	Segundo secado	18:30	25	0,12

**[0144]** Opcionalmente, una presión de más de 0,12 mbar puede proporcionarse mediante el incremento de la presión en el vial de liofilización a la presión deseada después de la etapa 13, antes de sellar el vial de liofilización.

#### *Método de tiempo de coagulación Clauss.*

**[0145]** Este método mide la concentración de fibrinógeno coagulable en una muestra de acuerdo con su tiempo de

coagulación en presencia de una cantidad constante de trombina utilizando una máquina de tiempo de coagulación (Diagnostica Stago Inc., EE.UU.). El tiempo de coagulación medido para la muestra se compara con el obtenido con una curva de calibración producida con un estándar de fibrinógeno. El método utilizado es una modificación del ensayo Eur. Farm. 0903/1997 según se detalla en: European Pharmatazaiea, Fibrin sealant kit. 1997; 0903: 858; and Clauss A. Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens. Acta Haematol. 1957; 17: 237-246.

*Preparación de agua destilada desgasificada doble (DDW desgasificado).*

10 **[0146]** Agua destilada doble (DDW) se agitó bajo vacío hasta que ninguna burbuja de aire adicional salía por encima de la superficie del agua.

*Soluciones madre de fibrinógeno.*

15 **[0147]** Una solución de componente activo biológico (CAB) como en EVICEL® Fibrine Sealant (Omrix Biopharmaceuticals Ltd.) que tiene una concentración de fibrinógeno coagulable de 55-85 mg/ml se usó como una solución madre de fibrinógeno en todos los experimentos descritos a continuación.

*Mediciones de nivel de disolución de proteína.*

20 **[0148]** Se midió la densidad óptica (DO) para soluciones de ensayo de fibrinógeno después de la liofilización y disolución, y para la solución de control que comprende solución madre de fibrinógeno CAB que no se sometió a liofilización y disolución.

25 **[0149]** Una muestra de 150 µl de cada solución de ensayo fibrinógeno se diluyó 1: 400 con DDW, y DO se midió a 280-320 nm frente a un blanco DDW. La medición se llevó a cabo en cubetas acrílicas (Sarstedt, Alemania; número de Cat. 67.740) usando un espectrofotómetro ULTRASPEC 2100pro (Amersham Pharmacia Biotech, Suecia).

30 **[0150]** Se consideró que DO de la solución de control era 100%. Los cálculos se realizaron de acuerdo con la siguiente fórmula, expresándose los resultados en porcentaje:

$$\text{Nivel de disolución de proteína} = \frac{\text{Solución de ensayo DO280-DO320}}{\text{Solución de control DO280-DO320}} \times 100$$

35 **Ejemplo 1: La disolución de fibrinógeno sólido para obtener soluciones de fibrinógeno concentradas.**

40 **[0151]** Se examinó el efecto de la densidad de fibrinógeno de una "torta" de baja densidad de fibrinógeno sólido tridimensional obtenida por liofilización como se describió anteriormente en el nivel de la disolución de proteína en disolvente acuoso. La densidad de proteína en una "torta" obtenida a partir de una solución de proteína después de la liofilización, como se expresa en mg/cc, es sustancialmente equivalente a la concentración de proteína en la solución en mg/ml antes de la liofilización. Por lo tanto, la dilución de una solución madre antes de liofilización resulta en una "torta" de densidad más baja que la de una "torta" obtenida por liofilización de la solución madre sin diluir. El volumen de la "torta" es sustancialmente igual al volumen de la solución de la que se preparó la "torta". Por lo tanto, la disolución de la "torta" en un volumen que es igual al volumen de la "torta" resulta en una solución con una concentración equivalente a la de la solución de la que se preparó la "torta", mientras que la disolución de la "torta" en un volumen que es menor que el volumen de la "torta" sólida resulta en una solución que tiene una concentración mayor que la de la solución de la que se preparó la "torta".

50 **[0152]** Para la preparación de "tortas" de baja densidad con diferentes densidades de fibrinógeno, que comprende solución madre de fibrinógeno 63 mg/ml de fibrinógeno (como se describe en la sección de Materiales y Métodos anterior) se diluyó con DDW para obtener soluciones de fibrinógeno que tienen concentraciones en el intervalo de 21-42 mg/ml. Las soluciones diluidas y una muestra de control que comprende solución madre de fibrinógeno no diluida se liofilizaron, produciendo "tortas" que tienen diferentes densidades de fibrinógeno. Las "tortas" se disolvieron en disolvente acuoso y el nivel de la disolución de proteínas se midió como se describe a continuación.

55 **[0153]** Más específicamente, se diluyeron 5 ml de la solución madre con DDW para producir soluciones diluidas con concentraciones de fibrinógeno coagulable de 42, 32, y 21 mg/ml y volúmenes finales de 7,5, 10 y 15 ml, respectivamente. En el siguiente paso, 5 ml de una solución de fibrinógeno de la muestra, que comprende el control y los volúmenes finales de soluciones diluidas se transfirieron cada una a vasos cilíndricos de vidrio (diámetro: 30 mm/altura: 25 mm), diseñados para producir tortas capaces de encajar dentro de una jeringa, y se sometió a liofilización de acuerdo con el ciclo descrito en la sección Materiales y Métodos. En este experimento, los vasos de vidrio cilíndricos no se taparon.

65 **[0154]** Al final del ciclo de liofilización, se obtuvieron "tortas" secas liofilizadas que tienen densidades de fibrinógeno de 63 (a partir de muestra de control), 42, 32, y 21 mg/cc (a partir de muestras de ensayo diluidas). Cada "torta" se retiró del vaso de vidrio cilíndrico y equipado en el barril de una jeringa de 50 ml (PIC Indolor, Italia) mediante la

retirada del émbolo de la jeringa, la inserción de la "torta" en el barril de jeringa, y después se reemplaza el émbolo en el barril. La jeringa de 50 ml se conectó a un primer punto de conexión de una llave de paso de tres vías (Medipharm, Reino Unido), una jeringa de 5 ml (TERUMO, Bélgica) que contenía 5 ml de DDW desgasificado (preparado como se ha descrito anteriormente) se conectó al segundo punto de conexión de la llave de paso, y un filtro de 20 µm (MDI, India; número de Cat. SYPP0611MNXX104) se conectó al tercer punto de conexión.

[0155] Cada una de las "tortas" de baja densidad obtenidas a partir de las soluciones diluidas se disolvió en 5 ml de DDW a una temperatura de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  con el fin de obtener soluciones que tienen una concentración final de fibrinógeno de 63 mg/ml (similares a la concentración de la solución de fibrinógeno de la que se utiliza *entre otras cosas* como una pinza hemostática) en uno de los métodos siguientes:

Método 1: La llave de paso de tres vías se estableció para permitir la comunicación de fluido entre la jeringa de 5 ml que contiene DDW desgasificado y la jeringa de 50 ml que contiene la "torta" de baja densidad y el DDW desgasificado se introdujo en la jeringa de 50 ml. Después de la introducción del DDW desgasificado en la jeringa de 50 ml, la solución que comprende fibrinógeno parcialmente disuelto así formado se transfirió de una jeringa a las otras tres veces moviendo los émbolos de las jeringas de ida y vuelta, con el fin de mejorar la disolución del fibrinógeno. El conjunto de jeringa se incubó a temperatura ambiente durante dos minutos para obtener una solución que comprende fibrinógeno sustancialmente completamente disuelto. El tiempo total de la introducción del DDW desgasificado hasta el final de la incubación era de aproximadamente 150 segundos. Posteriormente, la llave de paso de tres vías se estableció para permitir el flujo de la solución de fibrinógeno a través del filtro 20 µm con el fin de eliminar las partículas no disueltas de la solución.

Método 2: La disolución se llevó a cabo de una manera similar a la descrita anteriormente en el Método 1, pero con la solución que comprende fibrinógeno parcialmente disuelto que se transfirió una jeringa a las otras cinco veces y la solución resultante se filtró inmediatamente sin ningún periodo de incubación. El tiempo desde la introducción del DDW desgasificado hasta el final de la quinta transferencia de la solución entre las dos jeringas era de unos 30 segundos.

[0156] El porcentaje de proteína disuelta en la solución se midió como se describe anteriormente en la sección Materiales y Métodos en "Mediciones de nivel de disolución de proteína". Los resultados se muestran en la Tabla 2 a continuación.

**Tabla 2**

Densidad de fibrinógeno dentro de la "torta" liofilizada (mg/cc)	Disolución de proteína $\pm$ SD (%)	
	Por método 1 Mezclado 3 veces e incubado	Por Método 2 Mezclado 5 veces sin incubación
63	12,3 $\pm$ 4,6	15,3 $\pm$ 7
42	28,1 $\pm$ 7,4	25 $\pm$ 9,9
32	51,6 $\pm$ 7,5	29,8 $\pm$ 5,2
21	81,8 $\pm$ 8,2	43 $\pm$ 2,3
* Las mediciones se llevaron a cabo por triplicado		

[0157] Se observó que la disolución de una "torta" de menor densidad de proteína en agua resultó en un aumento del porcentaje de disolución de proteína en comparación con la obtenida con una "torta" de mayor densidad de proteínas en ambos métodos de disolución. En este experimento, se obtuvo una óptima disolución de proteínas, mientras que la disolución de una "torta" liofilizada que tiene una densidad de fibrinógeno de 21 mg/cc utilizando el método 1, que incluye la incubación y dura 150 segundos. Los resultados muestran que la incubación y mezcla o agitación es importante y que se requiere un período de tiempo relativamente largo para disolver la preparación de fibrinógeno sólido. Se ha de notar que la densidad de fibrinógeno dentro de la "torta" liofilizada se puede disminuir a 5 mg/cc mientras que se mantenga la estabilidad del liofilizado sin colapso de la "torta" (Parker et. Al. "Determination of the influence of primary drying rates on the microscale structural attributes and physicochemical properties of protein containing lyophilized products". J Pharm Sci. 2010;99:4616-4629).

[0158] Una inspección visual de la solución reveló que la disolución de las "tortas" liofilizadas en la manera descrita anteriormente resultó en la formación de una solución espumosa.

**Ejemplo 2: El efecto de la presión sobre la tasa de desaparición de la espuma durante la disolución.**

[0159] Se estudió el efecto de la presión sobre la velocidad de desaparición de espuma formada durante la disolución de "torta" de fibrinógeno liofilizado de baja densidad, utilizando condiciones de presión sub-atmosférica, seguido de equilibrado a la presión atmosférica (1000 mbar).

**[0160]** Para este propósito, se prepararon "tortas" que tienen una densidad de fibrinógeno de 21 mg/cc. Ocho soluciones de prueba, cada una de volumen de 15 ml y que tienen una concentración de fibrinógeno coagulable de 21 mg/ml, se prepararon mediante la dilución de 5 ml de solución madre que tiene una concentración de fibrinógeno de 63 mg/ml, como se ha descrito anteriormente, con 10 ml de DDW. Las soluciones se liofilizaron cada una en un vial de vidrio de 50 ml. Los ocho viales de liofilización se cubrieron parcialmente con tapones de goma, y se liofilizaron como se describe en la Tabla 1 en la sección de Materiales y Métodos. Al final del ciclo de liofilización, se obtuvieron "tortas" secas que tienen una densidad de fibrinógeno de 21 mg/cc. Las "tortas" se sometieron a las siguientes presiones sub-atmosféricas: 0,12, 100, 250, o 500 mbar. Para este propósito, los viales de vidrio que contienen "tortas" se sellaron y se taparon mediante el ajuste de la presión dentro del liofilizador a la presión requerida y la bajada de la bandeja del liofilizador en los tapones de goma. Las muestras para pruebas a cada presión se proporcionaron por duplicado.

**[0161]** Las "tortas" de las muestras de ensayo se disolvieron después en DDW a temperatura ambiente ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) para proporcionar soluciones que tienen una concentración de fibrinógeno de 63 mg/ml de la siguiente manera. En primer lugar, 4,4 ml de DDW desgasificado se inyecta a través de la tapa de goma en el vial que contiene la "torta", utilizando una jeringa de 5 ml (Terumo, Bélgica) conectada a una aguja de 23G (Medi plus, China), mientras que se mantiene la presión en el vial a la presión sub-atmosférica especificada. Se permitió que la aguja permaneciera dentro de la tapa de goma después de la inyección. Veinte segundos después de la inyección del DDW desgasificado en el vial, la presión en el vial se igualó a la presión atmosférica mediante la desconexión de la jeringa de la aguja y se dejó que el aire de la zona circundante entrara en el vial a través de la aguja. Una de las muestras en cada nivel de presión se disolvió de esta manera. La disolución de las "tortas" de la segunda muestra (control) en cada nivel de presión se llevó a cabo mediante la inyección de DDW desgasificado a una temperatura de  $22 \pm 29^\circ\text{C}$ , a presión atmosférica, de la siguiente manera: En primer lugar, la tapa del vial se abrió ligeramente con el fin de llevar la presión dentro del vial a la presión atmosférica, y después 4,4 ml de DDW desgasificado se añadió al vial para lograr una concentración de 63 mg/ml de fibrinógeno coagulable (como para la de solución madre). El tiempo requerido para que la espuma desapareciera se midió desde el momento de la adición del DDW desgasificado a la "torta" liofilizada de baja densidad hasta el momento en que un tercio de la superficie de la solución disuelta era visible desde arriba. Los resultados se muestran en la Tabla 3 a continuación.

Tabla 3

Método de disolución	Nivel de presión dentro del vial en el momento de la inyección de DDW y después de hasta 20 segundos (mbar)	Nivel de presión dentro del vial 20 segundos después de la inyección DDW *** (mbar)	Tiempo de desaparición de espuma $\pm$ SD (seg) **
Disolución a baja presión, seguido de equilibrado a la presión atmosférica*	0,12	1000	30,50 $\pm$ 6,95
	100	1000	160,70 $\pm$ 203,0
	250	1000	622,25 $\pm$ 158,51
	500	1000	801,25 $\pm$ 428,54
Control*	1000	1000	5235 $\pm$ 2533,48
* Las mediciones se llevaron a cabo por triplicado. ** Desde la introducción del DDW desgasificado hasta el punto en el que un tercio de la superficie de la solución disuelta era visible desde arriba. *** El aumento de nivel de presión de 1000 mbar es acompañado por aumento de aire dentro del vial.			

**[0162]** Se observó que la disolución de la "torta" de fibrinógeno liofilizada a presión sub-atmosférica seguido de equilibrado a la tasa de desaparición de espuma mejorada de la presión atmosférica en comparación con el grupo de control (inyección de DDW desgasificado bajo presión atmosférica). Se demostró que el nivel de presión dentro del vial durante la adición del DDW desgasificado se correlacionaba directamente con el tiempo de desaparición de espuma (es decir, baja presión dentro del vial durante la adición del DDW desgasificado dio lugar a un tiempo de desaparición de espuma corto). En este experimento, los resultados óptimos se observaron mediante la adición de DDW a "torta" de baja densidad a una presión de 0,12 mbar, incubando durante 20 segundos, seguido de equilibrado a la presión atmosférica.

**[0163]** Estos resultados muestran que con el fin de minimizar la presencia de espuma durante la disolución de "torta" de fibrinógeno liofilizada, se añade ventajosamente el disolvente a presión sub-atmosférica, seguido de equilibrado a

la presión atmosférica.

**Ejemplo 3: El efecto de la agitación de la solución en la formación de espuma, el nivel de disolución de proteína y la velocidad de disolución.**

5 **[0164]** El experimento anterior muestra que la disolución de "torta" liofilizada de baja densidad a presión sub-atmosférica seguido por la introducción de aire en el vial y equilibrando la presión en el vial de liofilización a presión atmosférica resultó en un tiempo de desaparición de espuma más corto. La agitación de una mezcla es deseable para acortar el tiempo de disolución y para obtener una solución homogénea. En los siguientes experimentos, el equilibrio a la presión atmosférica se llevó a cabo mecánicamente sin introducir aire en el vial y entonces se examinó el efecto de la agitación de la solución en el nivel de la disolución de proteínas, velocidad de disolución, y la desaparición de la espuma. La agitación de la solución se llevó a cabo por dos métodos diferentes: A- mediante el uso de dos jeringas conectadas y la transferencia de la solución de una jeringa a la otra (es decir, utilizando un dispositivo de mezcla alternativo); o B- mediante la agitación manual del recipiente que contiene la solución. En 10 15 ambos experimentos, la disolución se llevó a cabo a temperatura ambiente ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) y la DDW añadida estaba a una temperatura de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ .

A. Mediante la agitación de la solución por un dispositivo de mezcla de movimiento alternativo

20 **[0165]** "Tortas" de baja densidad se prepararon de la siguiente manera. 4 ml de solución madre de fibrinógeno con 63 mg/ml de fibrinógeno coagulable se diluyó con DDW para obtener soluciones que tienen una concentración de fibrinógeno coagulable de 48, 32 y 21 mg/ml. Volúmenes finales de 6, 8, y 12 ml, respectivamente, se obtuvieron después de la etapa de dilución. En el siguiente paso, se liofilizaron 4 ml de cada uno de una solución madre de fibrinógeno no diluida, y el volumen final de las soluciones diluidas de acuerdo con el ciclo descrito en la sección 25 Materiales y Métodos. El procedimiento de liofilización se llevó a cabo en tazas de vidrio cilíndricas especialmente diseñadas (diámetro: 23 mm/altura: 25 mm).

**[0166]** En los casos en los que el volumen final de la solución diluida era mayor que el volumen de la taza de vidrio (5 ml), la solución diluida se liofilizó en más de un vaso de vidrio (es decir, 63 mg/ml- 1 taza, 48 mg/ml- 2 tazas, 32 mg/ml- 2 tazas, 21 mg/ml- 3 tazas). En este experimento, las tazas de vidrio cilíndricas no se taparon o ni se sellaron en condiciones de presión sub-atmosférica en el final del ciclo de liofilización. La liofilización de las cuatro soluciones de fibrinógeno diferentes produjo "tortas" liofilizadas de fibrinógeno que tienen densidades de 63, 48, 32, y 21 mg/cc. A continuación, cada "torta" liofilizada obtenida se introdujo en una jeringa de 12 ml mediante la retirada del émbolo de la jeringa, la inserción de la "torta" en el barril de jeringa, y la devolución del émbolo al barril. En los casos en que se utilizó más de una taza para la liofilización, todas las tortas obtenidas se insertaron en el mismo barril. La jeringa de 12 ml se conectó a un primer punto de conexión de una llave de paso de tres vías (Medipharm, Reino Unido), un segundo 12 ml que contiene aproximadamente 3,6 ml de DDW desgasificado (preparado como se describe en la sección Materiales y Métodos) se conectó al segundo punto de conexión de la llave de paso, y una bomba de vacío (KNF Neuberger, Alemania) se conectó con un manómetro de vacío (Fisher Scientific, EE.UU.) para el tercer punto de conexión. Las "tortas" de baja densidad se sometieron entonces a los niveles de presión sub-atmosférica. Para este propósito, la llave de paso de tres vías se estableció para permitir la comunicación de fluido entre la bomba de vacío y la jeringa de 12 ml sosteniendo la "torta" liofilizada; y el émbolo de la jeringa de 12 ml que contenía la "torta" liofilizada se retuvo en la parte superior del barril de jeringa por un espaciador de aluminio para mantener el émbolo en su lugar y evitar que se introduzca en el barril de jeringa durante la etapa de someter las "tortas" de baja densidad a presión sub-atmosférica. Después al aire se extrae de la jeringa de 12 ml conteniendo la "torta" liofilizada por la bomba de vacío para proporcionar una presión predeterminada de 25, 200 o 500 mbar. 30 35 40 45

**[0167]** En otro grupo examinado, el aire no se extrajo fuera del barril de la jeringa, de manera que la presión dentro de la jeringa era 1,000 mbar. 50

**[0168]** Se disolvieron las "tortas" liofilizadas en DDW para proporcionar una solución que tiene una concentración de fibrinógeno de 63 mg/ml (como en la solución madre no diluida) usando el siguiente método: En primer lugar, la llave de paso de tres vías se establece para permitir la comunicación de fluido entre la jeringa de 12 ml que contiene el DDW desgasificado (3,6 ml) y la jeringa de 12 ml que contiene la "torta" liofilizada, lo que resulta en el flujo del DDW desgasificado en la jeringa que contiene la "torta" liofilizada y proporcionar una solución que comprende fibrinógeno parcialmente disuelto, mientras que se mantiene una presión sub-atmosférica. En este paso, la presión dentro de la jeringa que contiene la solución que comprende fibrinógeno parcialmente disuelto se aumentó con respecto a la presión durante el paso anterior, pero todavía era inferior a la presión atmosférica. Entonces, la presión dentro de la jeringa se equilibró a la presión atmosférica, en ausencia de aire quitando el separador de aluminio desde el émbolo, y dejando que el émbolo se introduzca en el barril o presionando el émbolo. El equilibrado de la presión se realizó por lo tanto de forma mecánica y sin la introducción de aire o gas, en contraposición con el Ejemplo 2, en donde el equilibrado con la presión atmosférica se llevó a cabo mediante la introducción de aire de la zona circundante en el vial. A continuación, el conjunto de jeringa se dejó reposar con la solución que comprende el fibrinógeno parcialmente disuelto durante 30 segundos y al mismo tiempo la bomba de vacío se desconectó de la llave de paso de tres vías. En la siguiente etapa, la solución que comprende fibrinógeno parcialmente disuelto se agita mediante la transferencia de la solución de una jeringa a las otras 10 veces a una velocidad de 3,8 cm/seg mediante el uso de 55 60 65

una máquina de disolución medida, para obtener una solución que comprende fibrinógeno sustancialmente completamente disuelto. Brevemente, la máquina de disolución personalizada comprende dos bombas de jeringa una frente a la otra, cada una con una jeringa. Las jeringas de las dos bombas de jeringa están conectadas entre sí con un elemento de conexión que contiene una válvula para controlar el paso de agua y mantener el vacío dentro de la jeringa que contiene sólido. Las dos bombas de jeringa trabajan en sincronización tal que cuando la primera bomba de jeringa empuja el émbolo de la primera jeringa, la segunda bomba de jeringa empuja el émbolo de la segunda jeringa y viceversa.

[0169] Después, la jeringa que contiene la solución que comprende fibrinógeno sustancialmente completamente disuelto se desconectó de la llave de paso de tres vías, y la solución se filtró a través de un filtro de 20 µm para separar cualquier material de la solución sin disolver.

[0170] La disolución de "tortas" de baja densidad liofilizadas bajo presión atmosférica se llevó a cabo de la misma manera descrita anteriormente, excepto que no se utilizó un espaciador de aluminio y la presión durante toda la etapa de disolución era igual a la presión atmosférica. El tiempo desde la introducción del DDW desgasificado hasta el final de la décima vez que la solución se transfirió entre las dos jeringas era de 45 segundos.

[0171] Para evaluar la capacidad de las proteínas sólidas para disolverse en las condiciones descritas anteriormente, el nivel de disolución de proteína dentro de la solución disuelta se midió como se describe anteriormente en la sección Materiales y Métodos en "Mediciones de nivel de disolución de proteína". Se inspeccionó visualmente la presencia de espuma.

[0172] Los resultados se muestran en la Tabla 4 a continuación.

Tabla 4

Densidad de fibrinógeno en la "torta" liofilizada (mg/cc)	Nivel de presión dentro de vial en el momento de adición DDW (mbar)			
	1000	500	200	25
63	63	72	51	69
	62	83	46	87
	59	Bloqueado	60	82
	Bloqueado	Bloqueado	Bloqueado	78
	Bloqueado	Bloqueado	Bloqueado	84
	61±2	78±8	52±7	80±7
42	70	77	91	97
	71	80	77	83
	80	82	80	74
	Bloqueado	Bloqueado	Bloqueado	96
	Bloqueado	Bloqueado	Bloqueado	90
	74±5	79±2	82±7	88±10
32	86	78	87	89
	77	81	92	103
	88	91	87	102
	81	91	87	107
	Bloqueado	88	87	94
	83±5	86±5	88±2	99±7
21	94	96	88	92
	90	92	96	100
	87	93	87	102
	96	95	93	100
	90	91	89	104
	91±3	94±2	90±4	100±5

5 **\*Bloqueado significa que la máquina de disolución no pudo mover los émbolos debido al bloqueo de las jeringas por partículas no disueltas.**

**\*\*Cada experimento se llevó a cabo en 5 repeticiones**

10 [0173] Los resultados muestran que la disolución de "torta" liofilizada que tiene una densidad de fibrinógeno menor que 42 mg/cc, por ejemplo 32 mg/cc o 21 mg/cc a una presión inferior a 200 mbar, por ejemplo, 25 mbar, seguido por equilibración a la presión atmosférica sin introducción de aire, y agitando la solución (por ejemplo, por el movimiento alternativo de la solución entre dos jeringas) resultó en 100% de disolución de proteína dentro de un corto período de tiempo de 45 segundos. Ninguna cantidad significativa de espuma se observó después de la disolución a una presión de 25 mbar, mientras que los niveles de presión más altos dieron como resultado la formación de espuma significativa.

B- Agitación mediante la agitación manual del recipiente que contiene la solución.

20 [0174] La agitación se llevó a cabo mediante la agitación manual de la jeringa que contiene la solución en la presencia de esferas de acero inoxidable.

25 [0175] Para examinar el efecto de agitación manual, "tortas" liofilizadas que tienen densidades de fibrinógeno de 23, 35, 47, y 70 mg/cc se prepararon a partir de soluciones de fibrinógeno que tienen una concentración de fibrinógeno de 23, 35, 47, y 70 mg/ml, respectivamente, en la manera descrita anteriormente. Brevemente, 4 ml de fibrinógeno de la solución se diluyó a una concentración de fibrinógeno de 23, 35, 47 mg/ml con DDW, como se describe anteriormente. El volumen total de cada solución de fibrinógeno diluido y una muestra de 4 ml de solución madre de fibrinógeno no diluida se liofilizaron de acuerdo con el ciclo de liofilización descrito en la Tabla 1. Los viales que contienen "tortas" liofilizadas no se taparon ni se sellaron en condiciones de baja presión al final del ciclo de liofilización. Las "tortas" de baja densidad obtenidas se insertaron en el barril de una jeringa de 12 ml como se ha descrito anteriormente junto con 4 esferas de acero inoxidable. Dos esferas de acero inoxidable diferentes se utilizaron en este experimento: una esfera de 4 mm de diámetro (con un peso de 260 mg) y un diámetro de 6,4 mm.

35 [0176] La jeringa de 12 ml se conectó a un primer punto de conexión de una llave de paso de tres vías (Medipharm, Reino Unido), una jeringa de 5 ml (TERUMO, Bélgica) que contenía 4,35 ml de DDW desgasificado (preparado como se ha descrito anteriormente) se conectó al segundo punto de conexión de la llave de paso, y una bomba de vacío (KNF Neuberger, Alemania) se conectó con un manómetro de vacío (Fisher Scientific, EE.UU.) para el tercer punto de conexión.

40 [0177] Después, las "tortas" de baja densidad se sometieron a un nivel de presión de 25 mbar. Para ello, la llave de paso de tres vías se estableció para permitir la comunicación de fluido entre la jeringa de la celebración de la "torta" liofilizada y la bomba de vacío, y el émbolo de la jeringa que sostiene la "torta" se fija en su lugar en la parte superior del barril de jeringa por un espaciador como se describe anteriormente. Después el aire se extrae de la jeringa que sostiene la "torta" liofilizada por la bomba de vacío hasta que se alcanzó una presión de 25 mbar. Tras la extracción del aire, la llave de paso de tres vías se estableció para permitir la comunicación de fluido desde la jeringa que contiene el DDW desgasificado a la jeringa que contiene la "torta" liofilizada para obtener una solución que comprende fibrinógeno parcialmente disuelto. El espaciador de aluminio se retiró, dando como resultado el equilibrio de la presión dentro de la jeringa que contiene la solución con la presión atmosférica sin introducir aire en la jeringa. Treinta segundos después de la introducción del DDW desgasificado a la "torta", la jeringa que contiene la solución que comprende fibrinógeno parcialmente disuelto se desconectó del conjunto de jeringa junto con la llave de paso de tres vías y se agitó manualmente durante 60 segundos que conducen al movimiento de las esferas de acero inoxidable dentro del barril, y proporcionar una solución que comprende fibrinógeno sustancialmente completamente disuelto. El tiempo desde la introducción del DDW desgasificado hasta el final de la etapa de agitación manual era de unos 90 segundos.

55 [0178] A continuación, la llave de paso de tres vías se conectó a un filtro de 20  $\mu\text{m}$ , y la solución que comprende fibrinógeno sustancialmente completamente disuelto se filtró para separar cualquier material sin disolver de la solución. Se determinó el porcentaje de disolución de proteína como se describió anteriormente. Se inspeccionó visualmente la presencia de espuma.

60 [0179] El experimento se llevó a cabo por triplicado para cada grupo de prueba. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

65

5

**Tabla 5**

10

Densidad de fibrinógeno dentro de la "torta" liofilizada (mg/cc)	Disolución de proteína $\pm$ SD (%)	
	Diámetro de la esfera (mm)	
	4	6,4
70	58 $\pm$ 8	65 $\pm$ 18
47	90 $\pm$ 4	100 $\pm$ 3
35	83 $\pm$ 3	103 $\pm$ 3
23	92 $\pm$ 5	97 $\pm$ 3

15

20

**[0180]** Se puede ver que se obtuvo la disolución completa de la proteína dentro de un corto período de tiempo de 90 segundos mediante la disolución de una "torta" liofilizada que tiene una densidad baja de fibrinógeno (por ejemplo, igual o inferior a 47 mg/cc) a una presión baja de 25 mbar, seguido de equilibrado a la presión atmosférica y sin introducción de aire, y mediante la agitación manual de la solución con grandes esferas por ejemplo, que tiene un diámetro de 6,4 mm. No se observó ninguna cantidad significativa de espuma en cualquiera de los grupos examinados.

25

30

**[0181]** En comparación, en el Ejemplo 1 que examina el efecto de la densidad de proteínas dentro de la "torta" liofilizada en el nivel de la disolución de proteína, la disolución completa de proteínas (97,4 $\pm$ 9,8%) se obtuvo dentro de los 150 segundos que es alrededor de 1,7-3,4 veces más largo que el tiempo requerido para la disolución completa en estos experimentos (45 ó 90 segundos).

35

40

45

50

55

60

65

**Reivindicaciones**

- 5 **1.** Un método para la disolución de una composición de fibrinógeno sólido en un disolvente acuoso, que comprende:
- i) proporcionar un recipiente cerrado (12) que contiene: un volumen (14) de la composición de fibrinógeno sólido y un espacio de cabeza (16), en el que la presión dentro del espacio de cabeza es una presión inferior a la atmosférica;
- 10 ii) mientras que se mantiene la presión interna en el espacio de cabeza a presión sub-atmosférica, introduciendo en el recipiente (12) un volumen del disolvente acuoso que es menor que el volumen de la composición de fibrinógeno sólido para formar una solución que comprende al menos 40 mg de fibrinógeno/ml;
- 15 iii) posterior a ii), disminuyendo el tamaño del espacio de cabeza (16) en el recipiente (12), sin permitir la entrada de aire en el recipiente hasta que la presión en el espacio superior sea igual a la presión atmosférica;
- y
- iv) agitar la solución,
- en el que el disolvente acuoso está contenido dentro de un depósito (42), en el que el recipiente (12) y el depósito (42) están en comunicación mutua de fluido, y en el que la agitación comprende transferir repetidamente el disolvente acuoso entre el recipiente (12) y el depósito (42).
- 2.** El método según la reivindicación 1, en el que la composición de fibrinógeno sólido es una torta liofilizada.
- 25 **3.** El método según la reivindicación 1 o 2, en el que la densidad de fibrinógeno en la composición de fibrinógeno sólido está en el intervalo de al menos 5 a menor que 63 mg/cc, preferiblemente en el que la densidad de fibrinógeno es no más de 23 mg/cc.
- 4.** El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la concentración de fibrinógeno en la solución obtenida es de 40 mg/ml a 120 mg/ml.
- 5.** El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el disolvente acuoso es un disolvente acuoso desgasificado.
- 35 **6.** El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la presión interna en el espacio de cabeza (16) en la etapa i) es no más de 500 mbar, preferiblemente no más de 0,12 mbar.
- 7.** El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, cuando se permite que discurra un intervalo de tiempo de al menos 5 segundos, preferiblemente al menos 20 segundos, entre la finalización de la etapa ii) y el inicio de la etapa iii).
- 40 **8.** El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende además la incubación de la solución en el recipiente (12), preferiblemente en el que la incubación se lleva a cabo durante no más de 2 minutos.
- 45 **9.** Un dispositivo (10, 30, 50) adecuado para la disolución de una composición sólida en un disolvente acuoso, comprendiendo el dispositivo:
- un primer recipiente cerrado (12a) adecuado para la sujeción de una primera composición sólida, incluyendo el primer recipiente cerrado una primera entrada de recipiente cerrado (18a) que tiene un estado cerrado y un estado abierto, en el que en el estado cerrado la primera entrada de recipiente cerrado se sella al paso de fluido y en el estado abierto la primera entrada de recipiente cerrado proporciona una trayectoria para la comunicación de fluido en el primer recipiente cerrado;
- 50 un primer elemento de cierre móvil (22a) dispuesto dentro del primer recipiente cerrado, para sellar el primer recipiente cerrado y configurado para mantener el sellado del primer recipiente cerrado mientras que se mueve en el mismo entre al menos una primera y una segunda posición dentro del primer recipiente cerrado, para disminuir el volumen interno del primer recipiente cerrado; un elemento de sujeción (24) configurado para sostener de forma liberable el primer elemento de cierre móvil en una primera posición dentro del primer recipiente cerrado;
- 55 un primer controlador (20a) para controlar el cambio de la primera entrada de recipiente cerrado entre un estado cerrado y un estado abierto;
- un primer depósito (42a) adecuado para contener un primer disolvente acuoso, el primer depósito que comprende una primera salida de depósito (46a) adaptada para estar en comunicación de fluido con la primera entrada de recipiente cerrado; y
- 60 un segundo elemento de sellado móvil (22b) dispuesto dentro del primer depósito configurado para mantener el sellado del primer depósito,
- 65

en el que cuando la primera entrada de recipiente cerrado está en un estado cerrado mientras que el primer elemento de sellado móvil está en la segunda posición, y, posteriormente, el primer elemento de cierre móvil se mueve a la primera posición y el primer elemento de retención sostiene el primer elemento de cierre móvil, un espacio de cabeza (16) que tiene una presión sub-atmosférica; o

en el que el dispositivo está provisto con el recipiente cerrado que contiene, además, un espacio de cabeza (16) con una presión inferior a la atmosférica; una entrada de recipiente cerrado; y el elemento de sujeción que sostiene el primer elemento de cierre móvil en la primera posición, en el que el primer recipiente cerrado (12a) y el primer depósito (42a) están configurados para permitir la agitación por transferencia repetida del disolvente acuoso entre el primer depósito y el primer recipiente cerrado,

**caracterizado porque** el dispositivo está configurado de tal manera que la presión en el espacio de cabeza (16) se mantiene a un nivel subatmosférico después de permitir que el disolvente acuoso fluya en el volumen interior del primer recipiente cerrado (12a).

**10.** El dispositivo según la reivindicación 9, en el que la primera entrada de recipiente cerrado (18a) está en una posición abierta y en el que cuando el elemento de retención (24) libera el primer elemento de sellado móvil (22a), el primer elemento móvil de sellado se mueve desde una primera a una segunda posición dentro del primer recipiente cerrado (12a), disminuyendo así el volumen interno del primer recipiente cerrado, en el que se aumenta la presión interna dentro del primer recipiente cerrado.

**11.** El dispositivo según la reivindicación 9 o 10, en el que el primer recipiente cerrado (12a) comprende un primer barril de jeringa (32a) que tiene un extremo anterior (34) y un extremo posterior (36), donde el extremo anterior comprende la primera entrada de recipiente cerrado, y en el que el primer elemento de sellado móvil (22a) comprende un primer pistón dispuesto dentro del primer barril de jeringa de manera deslizante desplazable desde el extremo posterior hacia el extremo anterior del primer barril de jeringa y conectado a un primer vástago de pistón (40a); y opcionalmente en el que el primer depósito comprende un segundo barril de jeringa (44a) que tiene un extremo anterior (34) y un extremo posterior (36), en el que el extremo anterior comprende la primera salida de depósito (46a) y el segundo elemento de sellado móvil (22b) comprende un segundo pistón dispuesto dentro del segundo barril de jeringa de manera deslizante desplazable desde el extremo posterior hacia el extremo anterior del segundo barril de jeringa y conectado a un segundo vástago de pistón (40b).

**12.** El dispositivo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, que comprende además:

un segundo recipiente cerrado (12b) adecuado para la sujeción de una segunda composición sólida, el segundo recipiente cerrado que incluye una segunda entrada de recipiente cerrado (18b) que tiene un estado cerrado y un estado abierto, en el que en el estado cerrado el segundo recipiente cerrado se sella al paso de fluido y en el estado abierto de la segunda entrada de recipiente cerrado proporciona una trayectoria para la comunicación de fluido en el segundo recipiente cerrado;

un tercer elemento de cierre móvil (22c) dispuesto dentro del segundo recipiente cerrado, para sellar el segundo recipiente cerrado y configurado para mantener el sellado del segundo recipiente cerrado mientras que se mueve en el mismo entre al menos una primera y una segunda posición dentro del segundo recipiente cerrado, para disminuir el volumen interno del segundo recipiente cerrado;

un elemento de sujeción (24) configurado para sostener de forma liberable el tercer elemento de estanqueidad móvil en una primera posición dentro del segundo recipiente cerrado;

un segundo controlador (20b) para controlar el cambio de la segunda entrada de recipiente cerrado entre un estado cerrado y un estado abierto; y

opcionalmente que comprende además un segundo depósito (42b) adecuado para contener un segundo disolvente acuoso y un cuarto elemento de sellado móvil (22d) dispuesto dentro del segundo depósito configurado para mantener el sellado del segundo depósito, el segundo depósito que comprende una segunda salida de depósito (46b) adaptada para estar en comunicación fluida con la segunda entrada de recipiente cerrado (18b),

en el que el dispositivo está provisto del segundo recipiente cerrado que contiene, además, un espacio de cabeza (16) con una presión subatmosférica; una entrada de recipiente cerrado (18b); y el elemento de sujeción que sostiene el tercer elemento de cierre móvil en la primera posición; o cuando la segunda entrada de recipiente cerrado está en un estado cerrado mientras que el tercer elemento de estanqueidad móvil está en la segunda posición, y, posteriormente, el tercer elemento de cierre móvil se mueve a la primera posición y el elemento de sujeción mantiene el tercer elemento de cierre móvil, formándose un espacio de cabeza (16) que tiene una presión sub-atmosférica.

**13.** El dispositivo según la reivindicación 12, en donde:

el primer recipiente cerrado (12a) es un primer barril de jeringa (32a) que tiene un extremo anterior (34) y un extremo posterior (36), en el que el extremo anterior del primer barril de jeringa comprende la primera entrada de recipiente cerrado (18a) y en donde el primer elemento de sellado móvil (22a) del primer recipiente cerrado comprende un primer pistón dispuesto dentro del primer barril de jeringa de manera deslizante desplazable

desde el extremo posterior hacia el extremo anterior del primer barril de jeringa;  
 en el que el primer depósito (42a) comprende un segundo barril de jeringa (44a) que tiene un extremo anterior y  
 un extremo posterior, en el que el extremo anterior del segundo barril de jeringa comprende la primera salida de  
 depósito (46a) y en el que el segundo elemento de sellado móvil comprende un segundo pistón dispuesto dentro  
 5 del segundo barril de jeringa de manera deslizante desplazable desde el extremo posterior hacia el extremo  
 anterior del segundo barril de jeringa;  
 en el que el segundo recipiente cerrado (12b) es un tercer barril de jeringa (32b) que tiene un extremo anterior y  
 un extremo posterior, en el que el extremo anterior del tercer barril de jeringa comprende la segunda entrada de  
 10 recipiente cerrado (18b) y en el que el tercer elemento de sellado móvil (22c) comprende un tercer émbolo  
 dispuesto dentro del tercer barril de jeringa de manera deslizante desplazable desde el extremo posterior hacia el  
 extremo anterior del tercer barril de jeringa y conectado a un vástago de tercer pistón (40c); y  
 en el que el segundo depósito (42b) comprende un cuarto barril de jeringa (44b) que tiene un extremo anterior y  
 un extremo posterior, en el que el extremo anterior del cuarto barril de jeringa comprende la segunda salida del  
 15 depósito (46b) y en el que el cuarto elemento de sellado móvil (22d) comprende un cuarto pistón dispuesto  
 dentro del cuarto barril de jeringa de manera deslizante desplazable desde el extremo posterior hacia el extremo  
 anterior del cuarto barril de jeringa y conectado a un cuarto vástago de pistón (40d).

14. El dispositivo según la reivindicación 12 o 13, que comprende además una carcasa (64, 66) para contener el  
 20 primer y el segundo recipiente cerrado y/o el primero y el segundo depósito.

15. El dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 14, en el que el primer recipiente cerrado  
 contiene una composición sólida que comprende fibrinógeno sólido.

16. El dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 12 a 15, en el que el segundo recipiente cerrado  
 25 contiene una composición sólida que comprende trombina sólida.

17. El dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 16, en el que el primer pistón está unido a  
 un vástago de pistón que tiene al menos un rebaje (70), y el elemento de sujeción (24) comprende al menos un  
 30 saliente (72) configurado para acoplarse dentro del rebaje.

18. El dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 17, comprendiendo además un actuador  
 controlador (38), el cual, cuando se actúe, hace que el primer controlador (20a) se mueva desde el estado cerrado al  
 35 estado abierto.

35

40

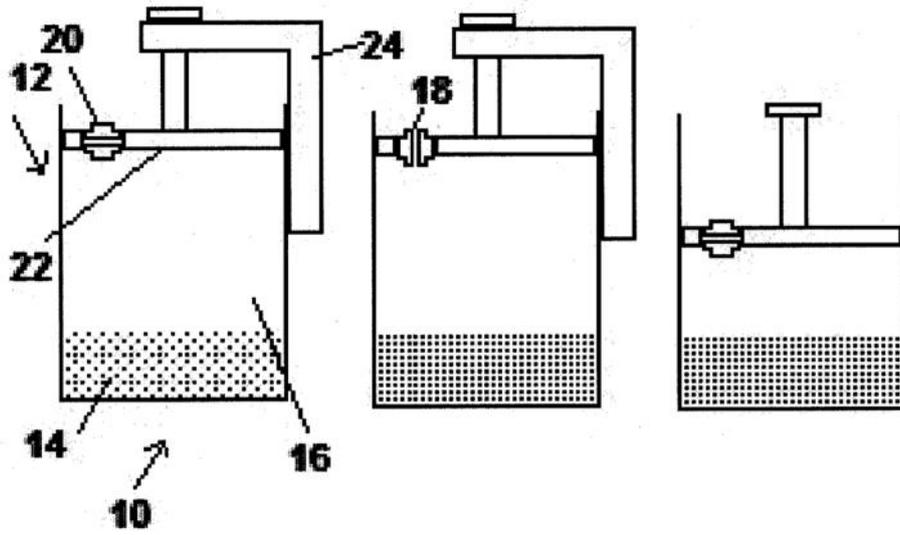
45

50

55

60

65



**Fig. 1A**

**Fig. 1B**

**Fig. 1C**

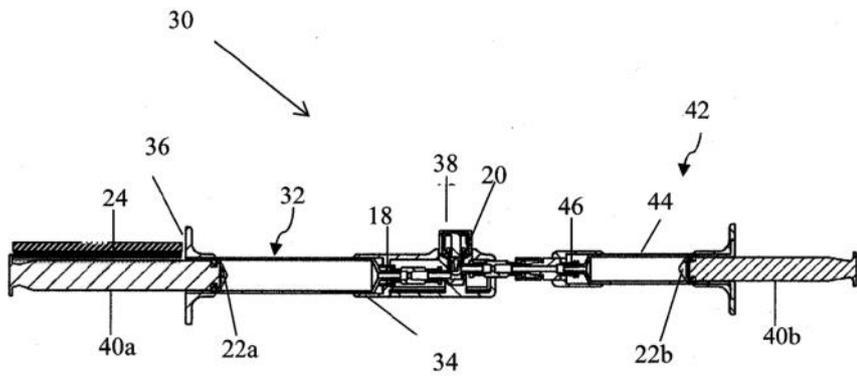


Fig. 2

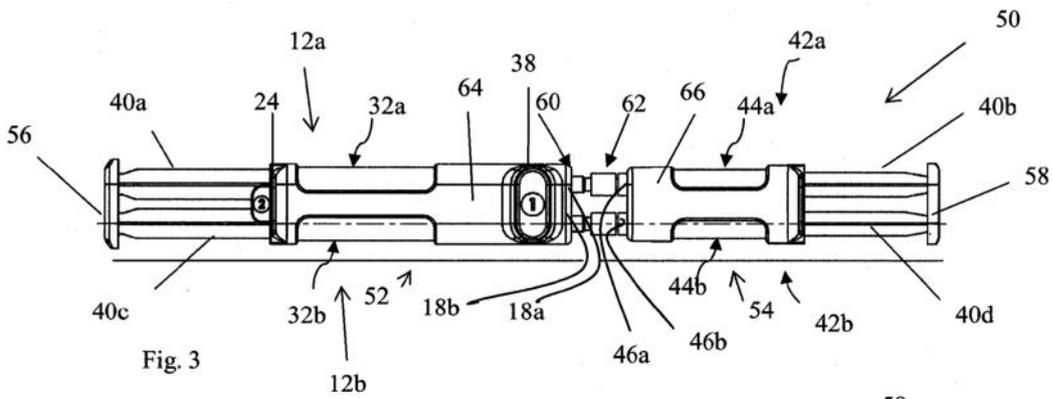


Fig. 3

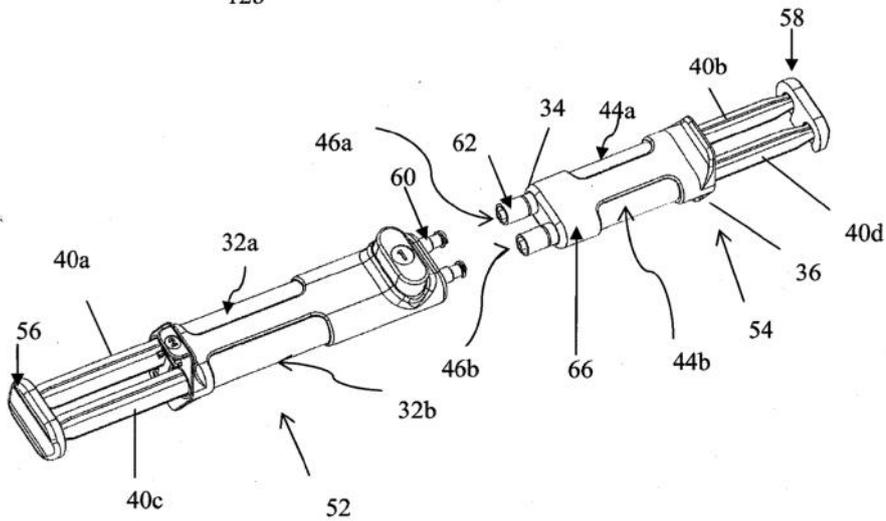


Fig. 4

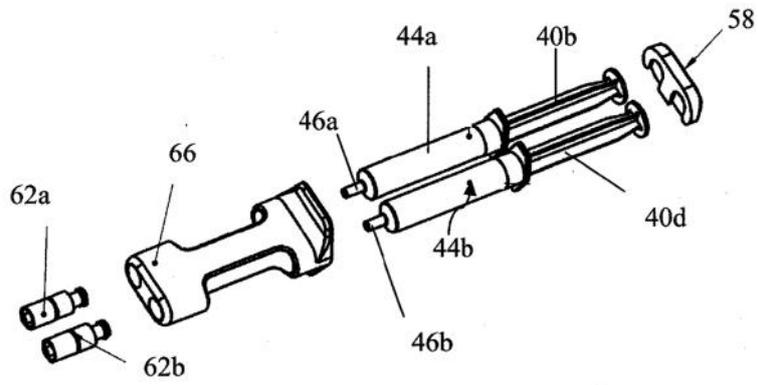


Fig. 5

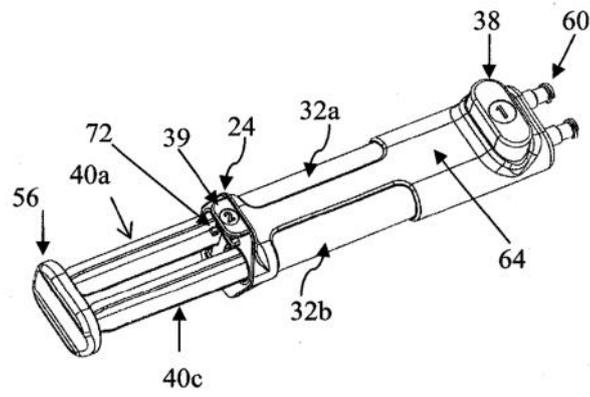


Fig. 6A

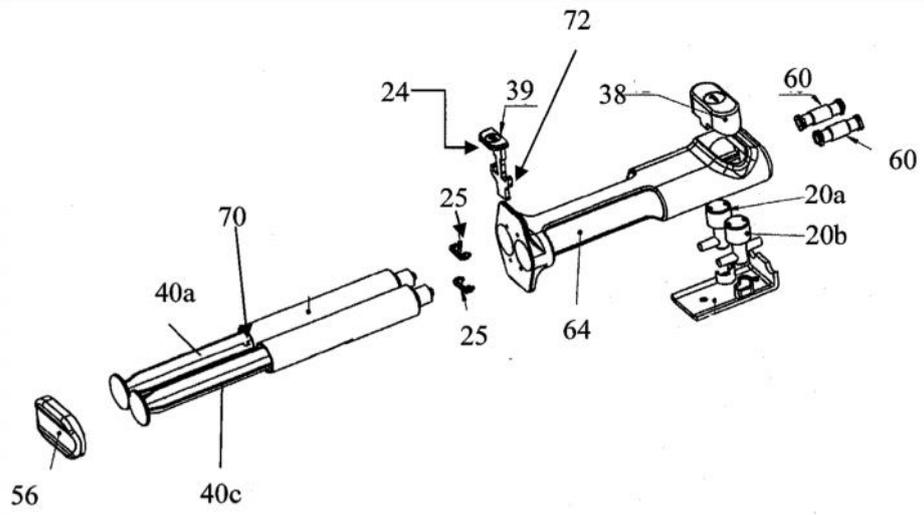


Fig. 6B

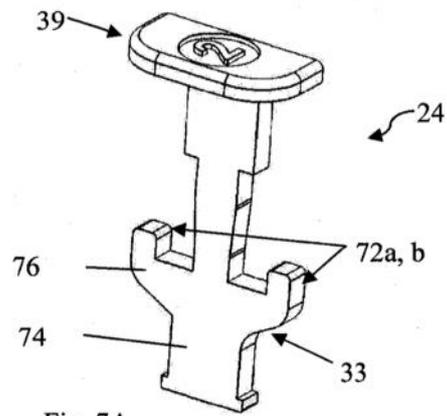


Fig. 7A

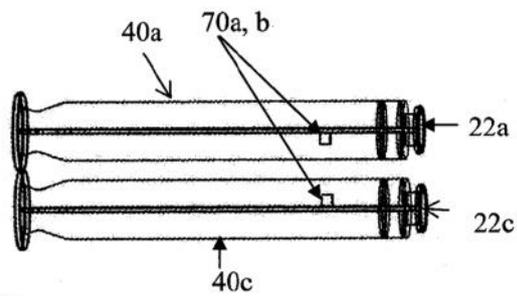


Fig. 7B

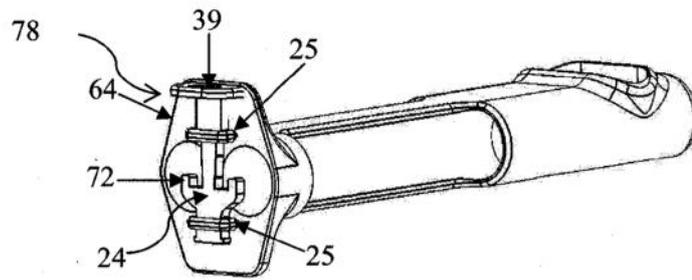


Fig. 8A

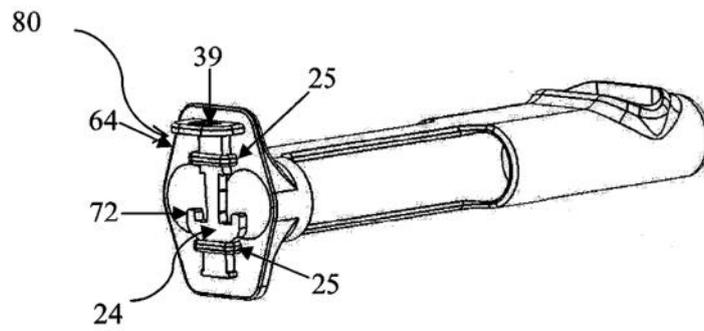


Fig. 8B

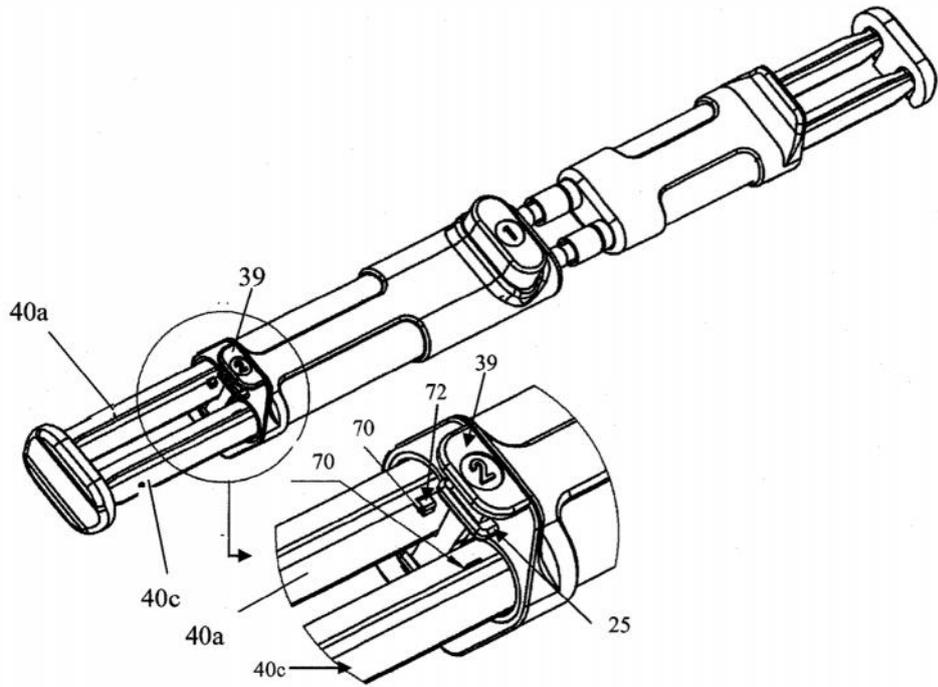


Fig. 9A

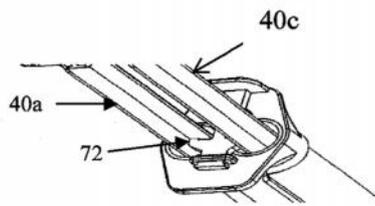


Fig. 9B

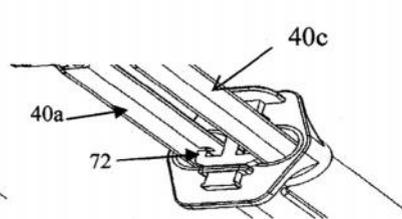


Fig. 9C

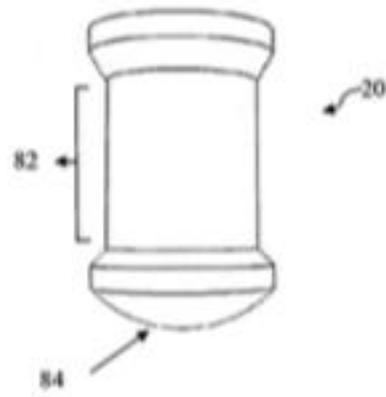


Fig. 10

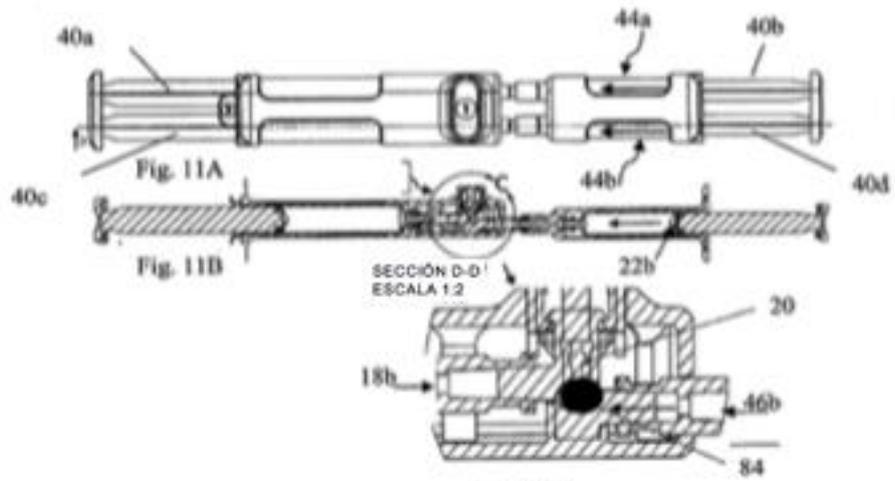


Fig. 11C

