

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 626 118**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/14** (2006.01)

**A61K 31/7016** (2006.01)

**A61K 38/36** (2006.01)

**A61K 38/48** (2006.01)

**A61P 41/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.05.2010 PCT/EP2010/057478**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.12.2010 WO10136589**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.05.2010 E 10721165 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.04.2017 EP 2435026**

54 Título: **Tratamiento de adherencia tisular**

30 Prioridad:

**28.05.2009 GB 0909136**

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

**24.07.2017**

73 Titular/es:

**MALLINCKRODT PHARMA IP TRADING D.A.C.  
(100.0%)  
Damastown Industrial Estate Mulhuddar  
Dublin 15, IE**

72 Inventor/es:

**KOOPMAN, JACOB**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU SLP, .**

ES 2 626 118 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Tratamiento de adherencia tisular

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a una composición de polvo seco o sellante de fibrina en forma de polvo, para su uso en la prevención o reducción de adherencias tisulares, por ejemplo, adherencias posoperatorias.

**Antecedentes de la invención**

10 Las adherencias posquirúrgicas son de relevancia clínica y médico-económica significativas, ya que, por ejemplo, las adherencias posquirúrgicas causan aproximadamente el 40% de los casos de dolor pélvico crónico y aproximadamente el 20% de casos de infertilidad. En efecto, las adherencias no pueden prevenirse sin emplear terapia adyuvante y a cada minuto los traumatismos pueden resultar en su formación.

Se han encontrado muchos materiales que tienen un efecto positivo en la reducción de adherencias quirúrgicas, tales como películas de hialuronato de sodio/carboximetilcelulosa, películas y geles de colágeno, así como colas de fibrina.

15 El documento EP1905443 describe la administración de una solución que contiene trehalosa para la reducción y/o prevención de adherencia durante o después de la cirugía.

EL documento EP1157706 describe el uso de un adhesivo tisular que comprende una preparación de fibrinógeno estabilizada y una preparación de trombina para reducir o inhibir las adherencias tisulares postoperatorias.

20 Lee et al (*Japanese Journal of Veterinary Anesthesia & Surgery*, Vol. 40, pp.19-26 (2009) divulgan la reducción de adherencias posquirúrgicas inducidas experimentalmente de órganos internos después de una ovariectomía en un modelo de conejo al pulverizar soluciones de carboximetilcelulosa de sodio en conjunto con soluciones de trehalosa en la superficie de los órganos viscerales.

25 El efecto de colas de fibrina líquidas sobre la antiadherencia es algo controversial. Muchos informes implicaron la posible prevención de adherencias posquirúrgicas usando dichas colas de fibrina líquida (por ejemplo, Brands et al., *Chirurg* 61 (1990): 22-26; Lindenberg et al., *Ann. Chir. Gynecol.* 73 (1984): 11-13; De Iaco et al., *Fertility and Sterility* 62 (2) (94): 400-404; Takeuchi et al., *J. Am. Assoc. Gynecol. Laparosc.* 3 (4) (1996): 575-579; Martin-Cartez et al., *Surg Today*, 2008, 38(2): 135-40). Sin embargo, otros estudios no encontraron efecto significativo para prevenir la formación de adherencia o el efecto en la reproducción después de complicaciones de adherencia posquirúrgicas (ver por ejemplo Marana et al., *Gynecol. Obstet. Invest.* 41 (1996): 199-202 y Gauwerky et al., *Arch. Gynecol. Obstet.* 247 (1990): 161-166).

30 Recientes pruebas comparativas indicaron que los geles de colágeno, películas de colágeno y películas de hialuronato de sodio/carboximetilcelulosa redujeron efectivamente la formación de adherencia, mientras que el efecto de las colas de fibrina líquida sobre la formación de adherencia fue similar al testigo.

Es, por lo tanto, un objeto de la presente invención proporcionar composiciones para reducir o prevenir de manera eficiente la adherencia tisular en un paciente.

**35 Compendio de la invención**

En la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica en la forma de un polvo seco que contiene trehalosa, para su uso en el tratamiento o prevención de adherencias tisulares durante o después de la cirugía o durante la terapia para el tratamiento de heridas, en donde la composición en polvo seco comprende, además, fibrinógeno y trombina.

40 Sorprendentemente, se descubrió que las adherencias posquirúrgicas se reducen o previenen cuando dichas composiciones en polvo seco que contienen trehalosa se emplean como un complemento en la cirugía.

En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica en la forma de un sellante de fibrina en polvo seco, para su uso en el tratamiento o prevención de adherencias tisulares durante o después de la cirugía o durante la terapia para el tratamiento de heridas.

45 En otra realización, la invención proporciona una composición farmacéutica en la forma de un sellante de fibrina en polvo seco que comprende una mezcla de primeras micropartículas que comprenden fibrinógeno y segundas micropartículas que comprenden trombina, para su uso en el tratamiento o prevención de adherencias tisulares durante o después de la cirugía o durante la terapia para el tratamiento de heridas.

50 En una realización alternativa, la invención proporciona una composición farmacéutica en la forma de un sellante de fibrina en polvo seco que comprende una mezcla de primeras micropartículas que comprenden fibrinógeno y segundas micropartículas que comprenden trombina y que comprende, además, material aditivo, para su uso en el

tratamiento o prevención de adherencias tisulares durante o después de la cirugía o durante la terapia para el tratamiento de heridas.

En una realización diferente, la invención proporciona una composición farmacéutica en la forma de un sellante de fibrina en polvo seco que comprende primeras micropartículas que comprenden fibrinógeno y trehalosa y segundas micropartículas que comprenden trombina y trehalosa, para su uso en el tratamiento o prevención de adherencias tisulares durante o después de la cirugía o durante la terapia para el tratamiento de heridas.

En otra realización, la invención proporciona una composición farmacéutica en la forma de un sellante de fibrina en polvo seco que comprende una mezcla de primeras micropartículas que comprenden fibrinógeno y trehalosa, segundas micropartículas que comprenden trombina y trehalosa, y que comprende, además, material aditivo, para su uso en el tratamiento o prevención de adherencias tisulares durante o después de la cirugía o durante la terapia para el tratamiento de heridas.

En otra realización, la invención proporciona una composición farmacéutica en la forma de un sellante de fibrina en polvo seco que comprende una mezcla de primeras micropartículas que comprenden fibrinógeno, segundas micropartículas que comprenden trombina y que comprende, además, material aditivo, en donde el material aditivo comprende un polisacárido o polisacárido modificado químicamente, para su uso en el tratamiento o prevención de adherencias tisulares durante o después de la cirugía o durante la terapia para el tratamiento de heridas.

El documento W097/44015 describe un sellante de fibrina en polvo seco en base a micro-partículas de fibrinógeno y trombina. Formulaciones optimizadas adicionalmente de estas composiciones de micropartículas se describen en la solicitud US 2010-0150900, pendiente conjuntamente con la presente. En el ejemplo de esta solicitud de los EE. UU., los componentes se preparan secando por pulverización por separado fibrinógeno con trehalosa y trombina con trehalosa. Cada producto tiene un tamaño de partícula predominante de hasta 50  $\mu\text{m}$  de diámetro. El sellante de fibrina, una mezcla de estos componentes, ha demostrado que es un hemostato tópico fácil de usar, estable y eficaz. El producto puede usarse inmediatamente, sin reconstitución. En contacto con fluido acuoso tal como sangre, la trombina activa expuesta convierte el fibrinógeno expuesto en los polímeros de fibrina insoluble.

#### **Descripción detallada de la invención**

La presente invención se basa en el descubrimiento de un nuevo uso de trehalosa cuando está presente en una composición en polvo. La composición es eficiente para reducir o prevenir las adherencias tisulares en un paciente cuando se administra a un sitio quirúrgico o una herida. Las adherencias a reducir o prevenir en un paciente con la composición de acuerdo con la presente invención pueden ser adherencias a o entre órganos, partes de órganos u otros tejidos. Las adherencias también pueden definirse como uniones anormales entre órganos y/u otros tejidos.

Administrar tópicamente una cantidad efectiva de un sellante de fibrina en polvo seco a tejidos expuestos o separados durante la cirugía o terapia para el tratamiento de heridas reduce o previene las adherencias en un paciente.

Administrar tópicamente una cantidad efectiva de un sellante de fibrina en polvo seco a tejidos expuestos o separados durante cirugía o terapia para el tratamiento de heridas reduce o previene adherencias en un paciente, en donde dicha composición de sellante de fibrina en polvo seco comprende una mezcla de primeras micropartículas que comprenden fibrinógeno y/o segundas micropartículas que comprenden trombina.

Se conoce que la fibrina juega un papel en la reducción o prevención de la adherencia. Sin ánimo de ceñirse a ninguna teoría, se cree que la reacción de la trombina y fibrinógeno en una forma en polvo, por la cual el polvo seco se disuelve en pequeñas cantidades de sangre o plasma, etc. resulta en la formación de una capa de fibrina más densa que la encontrada cuando se usa un sellante de fibrina líquido o cola de fibrina. Esta barrera densa de fibrina mejora el efecto antiadherencia.

Debido a que la adherencia a menudo inhibe el movimiento normal de los tejidos, incluyendo órganos, se considera por lo tanto que es una complicación seria después de una cirugía. Por ejemplo, las adherencias después de una cirugía de tendón pueden resultar en disquinesia. Más aun, la adherencia de órganos después de la cirugía intraabdominal puede causar complicaciones tales como íleo, dolor y esterilidad.

Cuando se usa una preparación de trombina en polvo seco y/o una preparación de fibrinógeno en polvo seco se pueden proporcionar como un conjunto, preferiblemente junto con dispositivos de administración adecuada.

Las adherencias que preferiblemente se reducen o previenen pueden resultar de cirugía reproductiva ginecológica, cirugía abdominal o cirugía espinal y laparoscópica, pero la composición puede usarse ampliamente no solo en toracotomía o laparotomía, sino también en cirugía hepática, procedimientos neuroquirúrgicos, procedimientos ortopédicos relacionados, por ejemplo, con tendones o ligamentos, así como en terapia para el tratamiento de heridas.

Una "cantidad efectiva" de una preparación es cualquier cantidad que es capaz de reducir o prevenir la formación de adherencia en un paciente significativamente en comparación con un grupo testigo sin dicha administración.

La presente invención se refiere a un sellante/composición de fibrina en polvo seco que comprende trehalosa o sales de la misma, para su uso en la reducción o prevención de la formación de adherencia en un paciente durante o después de la cirugía.

5 La composición también puede incluir al menos uno o más polisacáridos, mucopolisacáridos, sales de polisacáridos y sales de mucopolisacáridos que tienen propiedades lubricantes. Derivados modificados químicamente de mucopolisacáridos, tales como ácido hialurónico bencilado, también pueden estar presentes en la composición.

En esta memoria descriptiva, "tejido" se refiere a un tejido corporal tal como piel, órgano, músculo, nervio, cartílago o hueso. El polvo seco para la prevención de adherencia de tejido de la invención puede aplicarse a varios animales, especies de mamíferos, más particularmente en humanos.

10 La trehalosa está presente ampliamente en la naturaleza incluyendo animales, vegetales y microorganismos. Está contenida en las levaduras tales como levadura de panadería y levadura de elaboración de cerveza y es un sacárido a menudo encontrado en los alimentos.

15 Formas o isoformas adecuadas de trehalosa que pueden emplearse en la invención incluyen trehalosa cristalina hidratada, trehalosa cristalina anhidra, trehalosa amorfa anhidra,  $\alpha,\alpha$ -trehalosa,  $\alpha,\beta$ -trehalosa (neo-trehalosa),  $\beta,\beta$ -trehalosa (iso-trehalosa) o mezclas de las mismas.

20 También pueden estar presentes polisacáridos que contienen grupos carboxilo, por ejemplo, carboximetilcelulosa, carboximetilquitina, carboximetilquitosano, almidón de carboximetilo, ácido algínico, pectina y carboximetildextrano. Los mucopolisacáridos que también pueden estar presentes incluyen ácido hialurónico (HA), heparina, sulfato de heparina y sulfato de condroitina. Como sales solubles en agua pueden usarse sales de sodio, sales de metal alcalino o sales de metal alcalinotérreo. También pueden incluirse combinaciones, tales como carboximetilcelulosa y ácido hialurónico modificado químicamente.

Las micropartículas solubles que contienen fibrinógenos y trombina respectivas que comprenden trehalosa pueden formularse y mezclarse juntas, en forma seca y estable. Esta formulación puede emplearse por consiguiente como un sellante de fibrina que es útil en la terapia para el tratamiento de heridas y reparación quirúrgica.

25 El fibrinógeno y la trombina pueden aislarse de la sangre de donantes humanos o pueden realizarse mediante tecnología de ADN recombinante en células cultivadas o animales o plantas transgénicos.

30 El fibrinógeno o la trombina pueden ser de longitud completa o cualquier fragmento activo de los mismos. El contenido de fibrinógeno en las micropartículas que lo contienen puede ser de aproximadamente 0,1 a 50% p/p, preferiblemente aproximadamente 0,5 a 20 p/p, así como 5 a 10% p/p o aproximadamente 6,5% p/p. El contenido de trombina en las micropartículas que la contienen puede ser de aproximadamente 10 a 20.000 UI/g, preferiblemente aproximadamente 25 a 1000 UI/g o 100 a 500 UI/g.

35 Las micropartículas y/o material aditivo que contienen material activo pueden ser sólidos o huecos, tal como en el caso de las microcápsulas. Las micropartículas que comprenden fibrinógenos o trombina pueden prepararse por métodos conocidos en la técnica, por ejemplo como se describe en los documentos WO 92/18164, WO 96/09814, WO 96/18388 o WO 97/44015. Estos procesos de manipulación de partículas asociados y secados por pulverización permiten la producción de microcápsulas de proteína solubles con una distribución de tamaño definida, por ejemplo de hasta 50  $\mu\text{m}$  de diámetro. Por ejemplo, como se describe en esos documentos, las micropartículas pueden producirse de manera reproducible, por ejemplo con 90% o más (en volumen) de hasta 30  $\mu\text{m}$ , por ejemplo 10 a 20  $\mu\text{m}$ , de tamaño. Los aglomerados fluidos de estas partículas pueden obtenerse *in situ* al ajustar la configuración de flujo de aire en la secadora por pulverización a contracorriente o disponiendo los múltiples atomizadores en una configuración de "aglomeración primaria forzada", como apreciarán los expertos en la técnica. Dichos aglomerados pueden tener un diámetro de 50 a 1000  $\mu\text{m}$  o 100 a 500  $\mu\text{m}$  o 125 a 250  $\mu\text{m}$ . Micropartículas solubles que contienen fibrinógeno y que contienen trombina respectivas pueden formularse y mezclarse juntas en un aparato de secado por pulverización mediante el uso de un atomizador de múltiples boquillas, como se describe en el documento WO03/037303.

40 Aunque el método de preparación preferido de la formulación en polvo seco incluye secado por pulverización, también pueden usarse otras técnicas de secado para preparar la formulación en polvo seco. También se conocen métodos adecuados e incluyen secado por lecho fluidizado y secado por congelación, con micronización posterior o secado por pulverización-congelación. Las micropartículas pueden esterilizarse, si es necesario o deseado, usando técnicas conocidas en la técnica.

50 Las micropartículas de la invención se preparan preferiblemente por secado por pulverización. Típicamente, se usa una boquilla de 2 fluidos que utiliza aire comprimido durante el proceso de atomización; esto resulta en la producción de micropartículas huecas. El tamaño de partícula máximo de micropartículas (X50, según se midió por Sympatec) que puede fabricarse usando este sistema de atomización en la secadora por pulverización Niro Mobile Minor es  $\sim 30$   $\mu\text{m}$ . Los valores X50 preferidos para las micropartículas de la invención son entre 5 y 50  $\mu\text{m}$ , más preferiblemente entre 10 y 20  $\mu\text{m}$ . Las micropartículas pueden ser huecas o sólidas.

- Las primeras y segundas micropartículas de la invención pueden prepararse por secado por pulverización de una solución del componente activo, por ejemplo fibrinógeno o trombina, con un material portador tal como un sacárido. Un procedimiento alternativo comprende un cosecado por pulverización, en el cual el componente activo y otro material que forma paredes se formulan y secan por pulverización para proporcionar micropartículas en las cuales se incorpora el componente activo en la partícula.
- En una realización de la invención, la composición en polvo seco comprende trehalosa con fibrinógeno adecuado para su uso en la prevención o reducción de adherencias durante o después de la cirugía. El fibrinógeno y la trehalosa pueden combinarse juntos en una micropartícula compuesta por secado por pulverización como se describe en la presente o cualquier otra técnica conocida para un experto en la técnica.
- En una realización de la invención, las micropartículas separadas que comprenden fibrinógeno y micropartículas separadas que comprenden trombina se mezclan con trehalosa para producir una composición en polvo seco adecuada para su uso en la prevención o reducción de adherencias durante o después de la cirugía.
- En una realización de la invención, las micropartículas sólidas o huecas que contienen fibrinógeno se mezclan con micropartículas sólidas o huecas que contienen trombina y con un material aditivo como se describe en la presente, en cualquier secuencia que produzca una mezcla homogénea. Dicha mezcla puede llevarse a cabo usando mezclado de bajo esfuerzo cortante o alto esfuerzo cortante, o cualquier otra técnica conocida por los expertos en la técnica.
- El fibrinógeno o la trombina pueden ser de longitud completa o cualquier fragmento activo de los mismos. Los fragmentos son conocidos; ver Coller *et al*, J. Clin. Invest. 89:546-555 (1992). La materia prima de fibrinógeno puede ser una solución congelada, aunque puede usarse el polvo liofilizado que requiere reconstitución antes del secado por pulverización.
- Otras proteínas adecuadas pueden ser naturales o pueden producirse mediante tecnología de ADN recombinante en células cultivadas o animales o plantas transgénicos. El fibrinógeno o la trombina pueden ser de longitud completa o cualquier fragmento activo de los mismos. Estos pueden actuar como "materiales formadores de paredes", como se describe en el documento WO92/18164, donde se proporcionan varios ejemplos. Un material preferido es HSA (albúmina de suero humano). Por ejemplo, el fibrinógeno se seca por pulverización solo o en presencia de diversas cantidades de excipientes tales como HSA (por ejemplo relaciones fibrinógeno: HSA de 1:1, 1:3, 3:1) y trehalosa. Otros sustitutos adecuados para HSA incluyen surfactantes, tales como Tween 20, Tween 80, Poloxámero 407 o Poloxámero 188. Iones de calcio, por ejemplo como cloruro de calcio, pueden incorporarse en la materia prima de trombina. Alternativamente, puede agregarse cloruro de calcio a las micropartículas después del procesamiento.
- En ciertas realizaciones de la invención, el material aditivo usado en la invención típicamente tiene un tamaño de partícula promedio de 10 a 1000  $\mu\text{m}$  o 100 a 500  $\mu\text{m}$  o 125 a 250  $\mu\text{m}$  o posiblemente, por ejemplo, 10 a 40  $\mu\text{m}$ . El aditivo puede comprender un material o puede ser una mezcla de materiales. Dicho material aditivo puede actuar como un portador y/o diluyente para los materiales activos.
- Los materiales aditivos que pueden estar presentes en forma de partículas que tienen tamaños de partícula del orden establecido en el párrafo precedente incluyen aditivos tales como materiales absorbentes de agua y/o hinchables en agua, polisacáridos y materiales porosos y/o huecos biocompatibles.
- En estos casos, el material aditivo puede comprender aproximadamente 1%, aproximadamente 2%, aproximadamente 3%, aproximadamente 4%, aproximadamente 5%, aproximadamente 6%, aproximadamente 7%, aproximadamente 8%, aproximadamente 9%, aproximadamente 10%, aproximadamente 11%, aproximadamente 12%, aproximadamente 13%, aproximadamente 14%, aproximadamente 15%, aproximadamente 16%, aproximadamente 17%, aproximadamente 18%, aproximadamente 19%, aproximadamente 20%, aproximadamente 21%, aproximadamente 22%, aproximadamente 23%, aproximadamente 24%, aproximadamente 25%, aproximadamente 26%, aproximadamente 27%, aproximadamente 28%, aproximadamente 29%, aproximadamente 30%, aproximadamente 31%, aproximadamente 32%, aproximadamente 33%, aproximadamente 34%, aproximadamente 35%, aproximadamente 36%, aproximadamente 37%, aproximadamente 38%, aproximadamente 39%, aproximadamente 40%, aproximadamente 41%, aproximadamente 42%, aproximadamente 43%, aproximadamente 44%, aproximadamente 45%, aproximadamente 46%, aproximadamente 47%, aproximadamente 48%, aproximadamente 49%, aproximadamente 50%, aproximadamente 51%, aproximadamente 52%, aproximadamente 53%, aproximadamente 54%, aproximadamente 55%, aproximadamente 56%, aproximadamente 57%, aproximadamente 58%, aproximadamente 59%, aproximadamente 60%, aproximadamente 61%, aproximadamente 62%, aproximadamente 63%, aproximadamente 64%, aproximadamente 65%, aproximadamente 66%, aproximadamente 67%, aproximadamente 68%, aproximadamente 69%, aproximadamente 70%, aproximadamente 71%, aproximadamente 72%, aproximadamente 73%, aproximadamente 74%, aproximadamente 75%, aproximadamente 76%, aproximadamente 77%, aproximadamente 78%, aproximadamente 79%, aproximadamente 80%, aproximadamente 81%, aproximadamente 82%, aproximadamente 83%, aproximadamente 84%, aproximadamente 85%, aproximadamente 86%, aproximadamente 87%, aproximadamente 88%, aproximadamente 89%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%,

aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, en peso de la composición, o cualquier rango o valor entre los mismos.

5 Típicamente, la composición en dichos casos comprenderá al menos 1% o al menos 5% o al menos 10% p/p de material aditivo y hasta 60%, hasta 70% o hasta 80% de material aditivo. Por lo tanto, el aditivo puede estar presente a un nivel de 1% (o 5% o 10%) a 80%, o de 1% (o 5% o 10%) a 70% o de 1% (o 5% o 10%) a 60% p/p de la composición.

En otras realizaciones de la invención, el material aditivo típicamente tiene un tamaño de partícula promedio de aproximadamente 10 nm a 10  $\mu$ m, y puede comprender un material o puede ser una mezcla de materiales.

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

10 Varios materiales pueden estar presentes como partículas aditivas, para mejorar, por ejemplo, el flujo y la humectabilidad. Preferiblemente, el material es insoluble o muy lentamente soluble. Dichos materiales pueden incluir polímeros de dextrano, por ejemplo Sephadex, que están disponibles en diferentes tamaños de partícula, almidones incluyendo hetaalmidón, derivados de pululano, ácido hialurónico y ésteres de los mismos. Los productos de celulosa tales como celulosa microcristalina (rango de Avicel), metilcelulosa, carboximetilcelulosa, celulosa microfina  
15 o hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilcelulosa de baja sustitución, hidroxietilcelulosa y otros materiales tales como pirrolidona polivinílica (PVP) reticulada pueden usarse solos o en una mezcla. Asimismo, los materiales aditivos adecuados que actúan como portadores incluyen polietilenglicol (PEG), que tiene preferiblemente un peso molecular de aproximadamente 1000; polivinilpirrolidona (PVP), que tiene preferiblemente un peso molecular promedio de aproximadamente 50.000; poli(ácido acrílico), poliacrilamida, alcohol  
20 polivinílico (PVA), Anhídrido co-maleico de Poli(metilviniléter), Óxido de poli(etileno), y dextrano, que tiene típicamente un peso molecular promedio de aproximadamente 40.000.

Otros materiales aditivos adecuados pueden ser solubles tales como sacáridos que incluyen mono-y di-sacáridos, incluyendo lactosa, monohidrato de lactosa, lactosa anhidra, sacarosa, maltosa, maltosa anhidra, fructosa, maltitol, sorbitol, xilitol, manitol o trehalosa en sí cuando el material portador en el fibrinógeno y/o la trombina que contiene  
25 micropartículas no comprende trehalosa. Oligosacáridos adecuados incluyen dextrina, sulfato de dextrano, pululano, ácido hialurónico y sales de los mismos, ya sea solos o en combinación.

En otras realizaciones de la invención, el aditivo es un cristal de filamento entrelazado altamente poroso y altamente soluble, por ejemplo de sorbitol y/o manitol. Dichos materiales se venden con el nombre PARTECK SI y PARTECK M (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania). Estos grados tienen una alta capacidad de adsorción y son entonces  
30 adecuados para mezclarse con una composición en polvo sellante de fibrina en polvo seco de la invención, para producir un polvo novedoso que reduce la dispersión y mejora la humectabilidad, solubilización y rendimiento del sellante de fibrina en polvo seco, al permitir que la sangre se remoje a través del lecho en polvo aplicado y evitar así la coagulación en la interfaz de polvo sola.

35 Las micropartículas de la invención pueden esterilizarse, si es necesario o deseado. El procesamiento estéril, irradiación de haces electrónicos, y-irradiación y óxido de etileno son ejemplos de técnicas adecuadas.

Los materiales aditivos pueden estar presentes en la composición de la invención como componentes solos o en combinación y pueden estar presentes en la materia prima o agregarse ya sea a la trombina o fibrinógeno seca por pulverización antes de mezclarse juntos o agregarse a la mezcla final y someterse a mezclado adicional. Dicha  
40 mezcla puede llevarse a cabo usando mezclado de bajo esfuerzo cortante o alto esfuerzo cortante, unión mecanoquímica, hibridación o cualquier otra técnica conocida por los expertos en la técnica.

Aunque los componentes de las micropartículas en un sellante de fibrina de la invención son preferiblemente solubles en agua, y las micropartículas se obtienen preferiblemente secando por pulverización una solución adecuada, las micropartículas que son obtenibles pueden ser de flujo libre, discretas y básicamente secas o anhidras, con un contenido de humedad residual preferiblemente no mayor que aproximadamente 8% p/p o  
45 aproximadamente 5% p/p, más preferiblemente no mayor que 3% p/p. Esto significa que los compuestos de sellante de fibrina de acuerdo con la presente invención no se activan hasta que se humectan, por ejemplo mediante el contacto con líquido en un sitio de una herida. Los componentes activos pueden administrarse por lo tanto como una mezcla seca, aunque también se prevé la aplicación separada de las diferentes micropartículas. Las micropartículas que contienen material activo son preferiblemente amorfas o en la forma de un vidrio a temperatura ambiente (por ejemplo 25°C) con el fin de estabilizar la proteína encerrada así como para presentar el material activo en dicho estado rápidamente soluble. Preferiblemente, la composición de micropartículas que contiene material activo exhibe una temperatura de transición vítrea de más de aproximadamente 25°C o aproximadamente 30°C o aproximadamente 40°C o aproximadamente 50°C o más, según se mide por calorimetría de barrido diferencial o calorimetría de barrido diferencial modulada. El material aditivo también puede ser amorfo o en la forma de un vidrio a temperatura ambiente (por ejemplo 25°C) con el fin de estar en un estado rápidamente soluble. Preferiblemente el  
50 material aditivo exhibe una temperatura de transición vítrea de más de aproximadamente 25°C o aproximadamente 30°C o aproximadamente 40°C o aproximadamente 50°C, según se mide por calorimetría de barrido diferencial o calorimetría de barrido diferencial modulada. Dichas composiciones vítreas permiten que la composición se  
55

almacene a temperatura ambiente, por ejemplo 25°C, durante periodos de tiempo extendidos, por ejemplo mayores que 3 meses o mayores que 6 meses, sin pérdidas significativas de actividad.

5 El material aditivo también puede estar en un estado cristalino o amorfo pero también puede ser de flujo libre, discreto y básicamente anhidro, con un contenido de humedad residual preferiblemente mayor que 5% p/p, más preferiblemente no mayor que 3% p/p.

La composición en polvo puede aplicarse usando el dispositivo de administración en polvo de la solicitud PCT/GB2009/051714, pendiente conjuntamente con la presente.

La invención será ahora descrita, a modo de ilustración solamente, con referencia a los siguientes Ejemplos.

### Ejemplo 1

10 Este estudio investigó el efecto de un polvo de acuerdo con la invención en un modelo de herida de hígado porcino. La respuesta tisular a la aplicación del sellante de fibrina que comprende trehalosa también se examinó y la respuesta tisular y la hemostasia usando dicho sellante de fibrina también se comparó con Tisseel - un sellante de fibrina de aplicación de líquido disponible comercialmente.

#### Materiales del estudio

15 Se preparó un sellante de fibrina en polvo seco, como se describió en la solicitud US 2010-0150900, pendiente conjuntamente con la presente. En resumen, se prepararon partículas esféricas huecas de Fibrinógeno (ZLB, Marburg, Alemania) y trehalosa (Pfanstiehl, Waukegan, IL, Estados Unidos). La concentración de fibrinógeno en las partículas es 12% (p/p).

20 La trombina (SNBTS, Glasgow, Escocia) y la trehalosa se secaron por pulverización para obtener partículas huecas. La trombina estuvo presente en una concentración de 1000 UI por gramo de partícula. Las partículas se mezclaron en una relación de 1:1; el polvo resultante tiene una concentración de fibrinógeno de 6% p/p y 500 UI/gramos de polvo. Esta mezcla se denomina como el polvo de la invención.

El polvo de la invención se preparó y aprontó para la aplicación, mientras que el Tisseel se compró y preparó según las instrucciones del proveedor.

25 Animales

Se usó un cerdo cruzado Large White/Landrace de 45 kg de peso corporal.

#### Protocolo experimental

El polvo de la invención y Tisseel se aplicaron a sitios de herida de biopsia de hígado.

#### Protocolo quirúrgico

30 Se realizó una laparotomía media, usando diatermia, para exponer la superficie ventral del hígado. El ligamento hepático dorsal entre el hígado y diafragma se cortó transversalmente para permitir el movimiento distal del hígado. El lóbulo lateral izquierdo hepático se elevó y exteriorizó en hisopos húmedos. Una herramienta de biopsia por punzón de 10 mm se ajustó para cortar 4 mm de profundidad. Se realizaron seis biopsias por punzón, una a la vez, en la superficie parenquimal del lóbulo izquierdo hepático permitiendo al menos 3 cm de tejido normal entre los  
35 bordes de cada sitio de biopsia. El tejido de biopsia por punzón se retiró para dejar un defecto de cráter de 10 mm x 4 mm en la superficie del lóbulo hepático. Tan pronto como se retiró el tejido, los hisopos lavados previamente se usaron para extraer sangre del sitio a la tasa de uno por minuto. Los hisopos se pesaron para establecer la tasa de sangrado del sitio durante tres minutos. El sitio se trató entonces de acuerdo con el protocolo experimental y la extracción con hisopos continuó durante 5 minutos o hasta que hubo hemostasia. Una vez creados y tratados los 6  
40 sitios en el lóbulo izquierdo, esto se volvió a colocar en su posición original dentro de la cavidad peritoneal y el lóbulo central se elevó y se exteriorizó sobre hisopos húmedos. Se llevaron a cabo procedimientos idénticos para 5 sitios en el lóbulo hepático central. Una vez que se completaron todos los procedimientos quirúrgicos y se alcanzó la hemostasia satisfactoria para todos los sitios de biopsia, la superficie del hígado en la cavidad peritoneal se enjuagó con 500 ml de solución salina. La capa de peritoneo y de músculo interno de la laparotomía se cerró con Vicryl 2/0  
45 en una aguja atraumática semicircular. El músculo externo y la incisión de piel de la laparotomía se cerraron con Proleno 2/0 en una aguja de corte semicircular. El sitio de laparotomía cerrado se trató con polvo Cicatrin y se sobrepulverizó con Opsite.

El sujeto se recuperó de la anestesia, se extubó y se regresó a la alojamiento de animales. El sujeto se monitoreó para detectar cualquier signo clínico adverso durante 14 días.

50 Terminación

El sujeto se premedicó y anestesió. Se inició una incisión de laparotomía media al nivel de fosa iliaca y se extendió proximalmente para revelar la superficie del hígado y los sitios operatorios. Se registraron observaciones macroscópicas. Los lóbulos lateral y central izquierdo del hígado se retiraron por completo.

#### Resultados

##### 5 Clínicos

No se notaron signos clínicos adversos durante el periodo de monitoreo posoperatorio; toda la fisiología pareció normal durante este tiempo.

#### Macroscopía

10 En la laparotomía terminal no había adherencias presentes entre el aspecto interno de la línea de sutura peritoneal y el intestino, omentum o baso subyacentes. Sin embargo, hubo adherencias de las puntas de los lóbulos hepáticos al peritoneo ipsilateral que se extendieron sobre todas las superficies del hígado que habían sido manipuladas durante los procedimientos operatorios. El lóbulo central y el lóbulo lateral izquierdo se adhirieron juntos a lo largo de la intersección donde el lóbulo central se estaba superponiendo al lóbulo lateral izquierdo. La mayoría de estas adherencias, excepto la región de la punta del lóbulo central, se liberaron todas fácilmente mediante suave presión con el dedo. Hubo dos regiones que parecían coincidir con un sitio de biopsia tratado, que eran más difíciles de separar, una de estas áreas estaba tan adherida que el hígado se rompió durante la separación. Otras regiones que coincidían con los sitios de biopsia tratados fueron subjetivamente más fáciles de separar que las áreas parenquimales del hígado circundante. También hubo una pieza de lo que parecía ser un material de tratamiento que se desplazó de su unión durante la separación de la adherencia. Todos los sitios de herida parecían bien cerrados y se caracterizaban por pequeñas depresiones en la superficie parenquimal de los lóbulos hepáticos. No parecía ser una inflamación significativa de los bordes de defecto de biopsia y no hubo evidencia macroscópica de material de tratamiento presente en la superficie del hígado. Hubo áreas de material membranoso opaco sobre tres de los sitios que parecían ser fibrosas y estar unidas al defecto de la biopsia. En la superficie interna del diafragma había dos áreas que mostraban una cantidad de lo que parecía ser material de tratamiento unido al diafragma y rodeado con tejido fibroso, membranoso opaco.

15 Se encontró sorprendentemente que había diferencias en la adherencia entre Tisseel y el Polvo de la invención. En todos los sitios tratados con Tisseel hubo adherencias tenaces entre el material de relleno y el diafragma superpuesto o lóbulo hepático. Fueron tan tenaces en un sitio que la separación causó que el sitio de herida perdiera un poco del material de relleno y volviera a sangrar. Por el contrario, en todos menos uno de los sitios tratados con el Polvo de la invención, si bien hubo adherencias entre la superficie del hígado sin operar adyacente al sitio de tratamiento y el diafragma superpuesto, no hubo adherencias entre el sitio de tratamiento en sí y el diafragma superpuesto, incluso en un caso que mostró una reacción inflamatoria aumentada.

#### Ejemplo 2

##### Materiales y métodos

35 Se usaron conejos para este estudio debido a los datos publicados y la experiencia propia. El Polvo de la invención del Ejemplo 1 y Seprafilm (ex Genzyme), un producto antiadherencia disponible comercialmente, se compararon con el tejido sin tratar usado como testigo. Todos los materiales evaluados se almacenaron y aplicaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

##### Procedimiento quirúrgico

40 La cirugía se llevó a cabo usando una técnica aséptica, usando el cirujano un gorro, mascarilla y guantes estériles. Los instrumentos se esterilizaron mediante autoclave en primera instancia pero posteriormente se limpiaron con clorhexidina en alcohol entre animales.

- Se realizó una incisión media abdominal de grosor completo y los bordes de la herida fueron retraídos con fórceps para tejido.
- 45 • El cuerno uterino de un lado se ubicó y elevó desde la cavidad para facilitar el acceso.
- Una plantilla rectangular que medía 26 mm x 3 mm se posicionó en el cuerno y la superficie se raspó diez veces con un rascador de metal dentado hecho para tal fin (5 veces en cada dirección) para crear una abrasión.
- Una plantilla que medía 24 mm x 3 mm se posicionó entonces en la pared peritoneal ipsilateral y se creó una abrasión como se describió anteriormente.
- 50 • En el caso de sitios testigo sin tratar, las dos heridas se aproximaron y aseguraron con dos suturas de Prolene 5/0, una en cada extremo del área raspada. En el caso de sitios tratados, los artículos de prueba se aplicaron entre los sitios raspados antes de la aproximación y fijado.

- Entonces se realizó un procedimiento similar en el cuerno opuesto.
- Cuando se completó, el músculo abdominal se cerró con suturas Vicryl 2/0 interrumpidas mientras que la piel se cerró usando primero una sutura de seda 3/0 subcuticular continua seguida por suturas de seda 2/0 interrumpidas.

5 Terminación

El día 14 después de la cirugía todos los sujetos fueron sometidos a eutanasia usando una sobredosis de barbiturato. Ambos sitios operatorios de cada sujeto fueron escindidos, junto con tejidos asociados adyacentes y estas muestras se colocaron en 10% de solución salina formal amortiguada neutra para fijación.

Resultados

- 10 En los animales tratados con el Polvo de la invención, no hubo separación distintiva de las dos superficies raspadas de manera que estas superficies se curaron independientemente una de la otra. Esto también fue cierto para las muestras tratadas con Seprafilm. A partir de los resultados de histología (no se muestran) se encontró que el Polvo de la invención puede reducir o prevenir las adherencias posquirúrgicas.

15

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición farmacéutica en forma de un polvo seco que comprende trehalosa o sus sales, para su uso en el tratamiento o prevención de adherencias tisulares durante o después de la cirugía o durante la terapia para el tratamiento de heridas, en donde la composición en polvo seco comprende, además, fibrinógeno y trombina.
- 5 2. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha composición en polvo seco contiene aproximadamente 0,5 a 20% p/p de fibrinógeno y/o aproximadamente 25 a 1000 UI/g de trombina.
3. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la composición en polvo seco comprende, además, una mezcla de primeras micropartículas que comprenden fibrinógeno y segundas micropartículas que comprenden trombina.
- 10 4. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde dichas primeras micropartículas contienen 0,5 a 20% p/p de fibrinógeno.
5. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la composición en polvo seco comprende trehalosa cristalina hidratada, trehalosa cristalina anhidra, trehalosa amorfa anhidra,  $\alpha,\alpha$ -trehalosa,  $\alpha,\beta$ -trehalosa (neo-trehalosa),  $\beta,\beta$ -trehalosa (iso-trehalosa) o una mezcla de las mismas.
- 15 6. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha composición en polvo seco es un sellante de fibrina.
7. Una composición para su uso como se reivindica en la reivindicación 6 que comprende 0,001 a 95% p/p de material aditivo.
- 20 8. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el material aditivo comprende un material biocompatible absorbente de agua.
9. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el material aditivo comprende un material biocompatible hinchable en agua, un material biocompatible insoluble en agua o un polisacárido.
10. Una composición para su uso como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en donde el material aditivo tiene un tamaño de partícula promedio de aproximadamente 10 nm a 1000  $\mu\text{m}$ .
- 25 11. Una composición para su uso como se reivindica en la reivindicación 10, en donde el tamaño de partícula promedio es de aproximadamente 10 a 500  $\mu\text{m}$ .