

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 657 339**

51 Int. Cl.:

A61L 15/18 (2006.01)

A61L 15/44 (2006.01)

A61L 26/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.10.2014 PCT/EP2014/073274**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.05.2015 WO15063190**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.10.2014 E 14793503 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.12.2017 EP 3062830**

54 Título: **Medio hemostático que contiene polifosfato cristalino**

30 Prioridad:

31.10.2013 DE 102013222223

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

02.03.2018

73 Titular/es:

**BK GIULINI GMBH (100.0%)
Giulinistr. 2
67065 Ludwigshafen, DE**

72 Inventor/es:

**THAUERN, HENRIKE y
STAFFEL, THOMAS**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 657 339 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

Medio hemostático que contiene polifosfato cristalino

5 La presente invención se refiere a polifosfato en forma cristalina para su uso en el tratamiento de heridas sangrantes, a medios que contienen polifosfato cristalino así como a procedimientos para la producción de tales medios. Debido a lesiones de capas tisulares humanas y animales se pueden dañar los vasos sanguíneos que se encuentran en su interior, lo que puede conducir a la extravasación de sangre en el punto afectado sobre la piel o en el interior del cuerpo. Después de una fase de extravasación de sangre comienza la coagulación sanguínea natural.

10 La coagulación sanguínea describe la coagulación de la sangre líquida como mecanismo de protección fisiológico. La coagulación sanguínea se basa en dos vías de reacción enzimáticas complejas, que se desarrollan a modo de cascada, en las que colaboran varios factores de coagulación. Ambas vías, que habitualmente se denominan vía intrínseca y extrínseca, desembocan en la formación de hilos insolubles de fibrina que intervienen de forma decisiva en la formación de coágulos de sangre que cierran la herida. La trombina, denominada también factor de coagulación IIa, ocupa en este caso una posición clave, ya que no solo causa la formación de fibrina, sino que también interviene con efecto de activación por retroalimentación positiva en varios puntos de la cascada de coagulación.

20 Es cierto que la coagulación sanguínea natural comienza casi inmediatamente después de la aparición del traumatismo, pero es un proceso relativamente lento que requiere cierto tiempo para el cierre de la herida y la hemostasia que esto conlleva. Por tanto, en muchos casos es deseable una hemostasia acelerada, por ejemplo, por motivos higiénicos o cuando, a causa del tamaño de la herida o la intensidad del flujo de sangre, es de temer una pérdida excesiva de sangre. Los métodos conocidos desde hace tiempo para la hemostasia, tales como por ejemplo el cubrimiento de la herida, la aplicación de vendajes compresivos y el grapado o el suturado de la herida con frecuencia son insuficientes. Por tanto, por el estado de la técnica se conocen procedimientos que deben contribuir a mejorar la hemostasia, por ejemplo la introducción de sustancias con actividad de coagulación sanguínea, tales como adhesivos de fibrina, en la zona de la herida. En tiempos recientes se han descrito usos de sustancias inorgánicas como medios hemostáticos, por ejemplo en los siguientes documentos de patente:

30 El documento US 2007/0160653 se refiere a tejidos textiles que contienen fibras de vidrio, que activan la hemostasia propia del cuerpo.

35 Los métodos descritos en el documento US 2006/0039994 para favorecer la coagulación sanguínea se basan en el efecto de tamices moleculares a base de fosfato de aluminio.

En el documento US 2008/0145447 y en el documento US 2009/0047366 se describen tierra de diatomeas, gel de sílice, fibras de vidrio, arena de sílice, silicato de calcio y polifosfato de calcio amorfo como las sustancias que estimulan la coagulación sanguínea.

40 Las influencias de activación de polifosfatos solubles en agua sobre la coagulación sanguínea se discuten por S. A. Smith *et al.*, PNAS 2006, 103(4), 903-908; S. A. Smith *et al.*, J. Thromb. Haemost. 2008, 6(10), 1750-1756; S. A. Smith *et al.*, Blood 2008, 112, 2810-2816; F. Müller *et al.*, Cell 2009, 139, 1143-1156; y S. A. Smith *et al.*, Blood 2010, 116, 4353-4359. Además, el documento EP 1 869 082 describe el uso de polifosfato soluble en agua con una longitud de cadena de al menos 25 para detener o ralentizar el sangrado de una herida. El documento US 45 2007/154510 A desvela un artículo hemostático que comprende un soporte poroso y vidrio de polifosfato (hexametáfosfato sódico) para una hemostasia efectiva.

50 En el caso de las sustancias en partículas conocidas por el estado de la técnica para la hemostasia se trata, la mayoría de las veces, de sustancias no fisiológicas, cuya compatibilidad con el organismo humano o animal en caso de contacto con el tejido de la herida con frecuencia es dudosa y que posiblemente son desencadenantes de alergias. Además, para muchas de las sustancias en partículas mencionadas no queda garantizado que estén exentas de impurezas potencialmente tóxicas o incompatibles de otro modo. También el polifosfato completamente soluble en agua usado por ejemplo en el documento EP 1869 082 conlleva desventajas. Así, en caso de intensas hemorragias es arrastrado rápidamente lejos del campo de la herida y con ello carece de utilidad, mientras que en caso de hemorragias más débiles puede llegar fácilmente a la circulación sanguínea y puede tener efectos indeseados en puntos del cuerpo muy alejados de la herida, tales como, por ejemplo, la formación de coágulos sanguíneos trombóticos. Por tanto, el objetivo de la invención radica en la facilitación de una sustancia hemostática fisiológicamente compatible y de un medio correspondiente para el tratamiento de la herida, que superen los problemas de los productos del estado de la técnica, se puedan producir de forma sencilla y económica y se puedan aplicar en la práctica médica mediante métodos habituales de forma sencilla y fiable. Sorprendentemente, se encontró que el objetivo planteado se resuelve gracias al tratamiento de heridas con polifosfato en forma cristalina, presentando el anión del polifosfato como media (media en número) al menos 4 átomos de fósforo por anión de polifosfato.

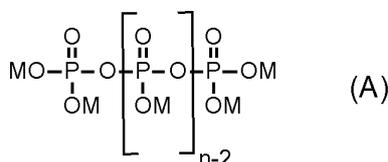
65 Los polifosfatos cristalinos mencionados poseen no solo un efecto hemostático muy bueno, sino que también son fáciles de manejar, son fisiológicamente compatibles y se pueden producir de forma económica en una forma de alta

pureza.

Por lo tanto, el objeto de la invención es polifosfato en forma cristalina para su uso en el tratamiento de heridas, en particular de heridas sangrantes, presentando el anión del polifosfato como media (media en número) al menos 4 átomos de fósforo por anión de polifosfato. Otro objeto de la invención son medios que comprenden un polifosfato presente en forma cristalina de acuerdo con la invención y un material de soporte. Estos medios son adecuados para el tratamiento de heridas, en particular de heridas sangrantes. Otro objeto de la invención son procedimientos para la producción del medio de acuerdo con la invención, que comprende la introducción del polifosfato y, dado el caso, otros agentes hemostáticos en el material de soporte o en un componente o en un precursor del material de soporte. Por norma general, los polifosfatos cristalinos de acuerdo con la invención presentan un grado de cristalinidad de al menos el 90 %, preferentemente al menos el 95 % y en particular al menos el 98 %. El grado de cristalinidad del polifosfato se puede determinar de forma en sí conocida mediante difracción de rayos X o mediante mediciones de DSC.

Los aniones de los polifosfatos cristalinos de la invención por norma general son en esencia, es decir, en al menos el 80 % en moles, preferentemente al menos el 90 % en moles y en particular al menos el 95 % en moles, lineales con respecto al polifosfato. En el caso de los cationes de los polifosfatos cristalinos se trata preferentemente de iones de metal alcalino, de metal alcalinotérreo, de metal o de amonio que están seleccionados independientemente entre sí en particular entre Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Sn^{2+} , Fe^{3+} y Al^{3+} , preferentemente entre Na^+ , K^+ , NH_4^+ y Ca^{2+} . En una forma de realización preferente de la invención, los aniones de polifosfato de los polifosfatos de acuerdo con la invención presentan como media (media en número) de 8 a 500, preferentemente de 12 a 300 y en particular de 15 a 150 átomos de fósforo por anión de polifosfato. La cantidad promedio en número de los átomos de fósforo en el anión de polifosfato se puede determinar de forma en sí conocida, por ejemplo mediante RMN de estado sólido de ^{31}P , por ejemplo mediante la forma de proceder que se describe con más detalle en lo sucesivo.

En el contexto de la presente invención, "polifosfatos lineales" se refiere a las sales de aniones de polifosfatos no cíclicos. Por ello, en el caso de los polifosfatos lineales de la invención se trata de cadenas de unidades de metafosfato PO_3^- , en las que están unidos entre sí en cada caso dos átomos de fósforo a través de un átomo de oxígeno. Correspondientemente, en el presente documento por "longitud de cadena" se entiende la cantidad de las unidades de metafosfato PO_3^- contenidas en el anión de polifosfato. Los polifosfatos cristalinos lineales de la invención se pueden describir mediante la fórmula A:



En la fórmula A, n como media (media en número) se refiere a un número de 4 a 1000, preferentemente de 8 a 500, en particular de 12 a 300 y en especial de 15 a 150. M se refiere a un catión o un equivalente de catión que está seleccionado en cada independientemente con preferencia entre Na^+ , K^+ , $\frac{1}{2}\text{Ca}^{2+}$ y NH_4^+ . Por tanto, la variable n en la fórmula A se corresponde con la longitud de cadena promedio en número del polifosfato lineal o la cantidad promedio en número de los átomos de fósforo del anión de polifosfato. En el presente caso, la expresión " $\frac{1}{2}\text{Ca}^{2+}$ " aclara que cada Ca^{2+} que está en contenido en el polifosfato de la fórmula A, a causa de su carga doblemente positiva, se refiere a dos cationes M en la fórmula A.

Los polifosfatos cristalinos usados de acuerdo con la invención se caracterizan por elevadas purzas. Así, la proporción de agua que puede estar contenida como humedad residual todavía en el polifosfato cristalino asciende habitualmente a menos del 1 % en peso, preferentemente a menos del 0,5 % en peso y en particular a menos del 0,3 % en peso, con respecto al peso total del polifosfato. La proporción de ingredientes en cuyo caso no se trata de fosfatos o de agua, por norma general, se encuentra en menos del 0,1 % en peso, preferentemente menos del 0,05 % en peso y en particular menos del 0,01 % en peso, en relación con el peso total del polifosfato. En este contexto se entiende por fosfatos mono-, meta-, piro-, tri- y polifosfatos. Además, la proporción de mono-, meta-, piro- y trifosfatos así como polifosfatos cuya longitud de cadena se aparta al menos el 20 % de la longitud de cadena promedio en número del respectivo polifosfato de acuerdo con la invención, por norma general, es menor del 10 % en peso, preferentemente menor del 7,5 % en peso y en particular menor del 5 % en peso con respecto al peso total del polifosfato.

Los polifosfatos cristalinos usados de acuerdo con la invención además se caracterizan por que en esencia son insolubles en agua. Así, su proporción en constituyentes solubles en agua por norma general asciende a menos del 8 % en peso, preferentemente a menos del 5 % en peso y en particular a menos del 3 % en peso con respecto al peso total del polifosfato. En el presente documento se denominan solubles en agua los constituyentes que se disuelven en forma de un polvo a 25 °C con una velocidad de al menos el 50 % en peso por hora en agua. En el caso de tales constituyentes solubles en agua se trata, prácticamente en exclusiva, de los mono-, meta-, piro- y trifosfatos que se han mencionado anteriormente, que poseen una elevada solubilidad en agua.

En una forma de realización preferente de la invención, todos los cationes del polifosfato de acuerdo con la invención están seleccionados de Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y NH_4^+ y en particular de Na^+ , K^+ y NH_4^+ . De forma particularmente preferente, todos los cationes del polifosfato son Na^+ , K^+ , Ca^{2+} o NH_4^+ y en particular Na^+ , K^+ o NH_4^+ , es decir, el polifosfato no contiene cationes diferentes.

5 Los polifosfatos presentes en forma cristalina de acuerdo con la presente invención se pueden preparar con procedimientos conocidos por el estado de la técnica, que están descritos, por ejemplo, por K. Schrödter *et al.* en: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, "Phosphoric Acid and Phosphates", páginas 32 - 41, 2008 (7ª edición), Nueva York, NY, Wiley-VCH Verlag. Así se pueden preparar polifosfatos de sodio cristalinos, tales como la sal de Kurrol y la sal de Maddrell, por ejemplo mediante atemperado de polifosfato de sodio vítreo amorfo, que a su vez se puede preparar al calentar dihidrogenofosfato de sodio e hidrogenofosfato de sodio con liberación del agua de condensación y al enfriar bruscamente a continuación la masa fundida obtenida. Se pueden preparar polifosfatos de potasio y calcio cristalinos de forma similar, por ejemplo, mediante calentamiento de KH_2PO_4 o $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$. Frente a esto se pueden preparar polifosfatos de amonio cristalinos, por ejemplo, al hacer reaccionar ácido fosfórico con compuestos que liberan amoniaco, tales como por ejemplo urea, melamina o urotropina, o al hacer reaccionar como alternativa pentóxido de fósforo con fosfato de diamonio hasta dar amoniaco.

En una forma de realización particularmente preferente de la invención, los polifosfatos presentes en forma cristalina están seleccionados de polifosfatos de sodio lineales, es decir, polifosfatos de fórmula A, en la que cada M se refiere a Na^+ , con una longitud de cadena promedio en número de 15 a 100, preferentemente de 20 a 80, en particular de 30 a 60 y en especial de 35 a 55, polifosfatos de amonio lineales, es decir, polifosfatos de fórmula A, en la que cada M se refiere a NH_4^+ , con una longitud de cadena promedio en número de 12 a 200, preferentemente de 17 a 150, en particular de 20 a 135 y en especial de 22 a 125, polifosfatos de calcio lineales, es decir, polifosfatos de fórmula A, en la que cada M se refiere a $\frac{1}{2} \text{Ca}^{2+}$, con una longitud de cadena promedio en número de 8 a 100, preferentemente de 10 a 60, en particular de 10 a 40 y en especial de 12 a 25, así como polifosfatos de potasio lineales, es decir, polifosfatos de fórmula A, en la que cada M se refiere a K^+ , con una longitud de cadena promedio en número de 12 a 100, preferentemente de 18 a 70, en particular de 22 a 50 y en especial de 25 a 40.

Los polifosfatos cristalinos de la invención se emplean en los usos de acuerdo con la invención para la hemostasia y en los medios de acuerdo con la invención para el tratamiento de heridas habitualmente en forma de partículas. Por ello se entiende en el presente documento que el polifosfato está compuesto en al menos el 90 % en peso de partículas que tienen, por norma general, un diámetro de como máximo 5 mm y en particular como máximo 2 mm. El tamaño de partícula promedio en peso del polifosfato empleado con fines de hemostasia se encuentra, por norma general, en el intervalo de 0,1 μm a 5 mm, preferentemente de 0,5 μm a 2 mm, en particular de 1 μm a 1 mm y en especial de 5 μm a 0,5 mm. Los tamaños de partícula indicados aquí y en lo sucesivo se pueden determinar de forma en sí conocida mediante análisis granulométrico o mediante dispersión de luz. Se pueden obtener polifosfatos en partículas correspondientes con una distribución adecuada del tamaño de partícula mediante trituración de los polifosfatos cristalinos de acuerdo con la invención de forma en sí conocida, en particular mediante molienda, por ejemplo con un molino de bolas.

En los usos de acuerdo con la invención para el tratamiento de heridas sangrantes se ponen en contacto los polifosfatos cristalinos presentes preferentemente en forma de partículas de la invención con la sangre que sale de la herida. Gracias al contacto con la sangre, el polifosfato cristalino activa uno o varios procesos propios del cuerpo que tienen como consecuencia un efecto hemostático, es decir, que reducen, ralentizan o detienen el flujo sanguíneo. En el caso de estos procesos activados por el polifosfato cristalino se trata probablemente sobre todo de aquellos que se ven influidos y en particular activados por la trombina. En este caso se consideran probablemente en primer lugar procesos que causan la coagulación sanguínea por formación de fibrina insoluble. Así, por ejemplo, es concebible que la activación por contacto, conocida para el sistema intrínseco, de la cascada de la coagulación se desencadene por el polifosfato cristalino de acuerdo con la invención.

Se ha encontrado que el contacto del polifosfato cristalino con la sangre en los usos de acuerdo con la invención conduce a un aumento del contenido de trombina en la sangre. A este respecto se trata en particular de un aumento exponencial del contenido de trombina.

El uso de acuerdo con la invención de polifosfatos cristalinos para la hemostasia se puede producir de tal manera que el polifosfato presente preferentemente en forma de partículas se emplee como tal. A este respecto se puede introducir por ejemplo polifosfato en partículas en la herida sangrante o la herida se puede cubrir parcial o completamente con polifosfato en partículas, de tal manera que queda garantizado un contacto lo más intenso posible entre polifosfato y sangre. A continuación, la herida tratada de esta manera se puede cubrir o cerrar mediante materiales conocidos, tales como en particular materiales de vendaje, para la protección de la herida y para la fijación de las partículas de polifosfato.

Preferentemente se produce el uso de acuerdo con la invención de polifosfatos cristalinos para la hemostasia, sin embargo, de tal manera que se trata la herida con un medio de acuerdo con la invención que comprende el polifosfato cristalino y un material de soporte. A este respecto, el material de soporte tiene en particular la tarea de sujetar o fijar el polifosfato preferentemente en partículas de tal modo que se evita una penetración del polifosfato en

zonas de la herida situadas más profundamente, pero al mismo tiempo está asegurado un contacto intenso de las partículas de polifosfato con la sangre saliente.

5 Los materiales de soporte contenidos en los medios de acuerdo con la invención se seleccionan preferentemente de materiales textiles, líquidos, geles, polvos y combinaciones de los mismos, tratándose en el caso de estos materiales en particular de aquellos cuya idoneidad para el tratamiento de heridas es conocida y que se emplean ya para este fin.

10 Como materiales de soporte textiles son adecuados en particular tejidos en forma plana y telas no tejidas. Los tejidos y las telas no tejidas están estructurados, por ejemplo, a partir de fibras naturales, por ejemplo, algodón, fibras sintéticas, por ejemplo fibras de poliéster o poliamida o mezclas de fibras. Estos materiales textiles en forma plana se pueden emplear en forma de uno o varios estratos en los medios de acuerdo con la invención, pudiéndose usar estratos de tejido con aquellos de tela no tejida también en combinación. Son ejemplos de materiales textiles en forma plana adecuados gasa, gasa hidrófila y otros revestimientos de herida de forma plana que contienen fibras.
15 Además se pueden usar también materiales textiles no en forma plana, tales como, por ejemplo, algodones, bolas de fibras y tapones como material de soporte. Los medios para el tratamiento de heridas que se basan en tales materiales de soportes textiles son, por ejemplo, apósitos de herida, materiales de vendaje, vendas, compresas, vendajes y parches.

20 Como materiales de soporte líquidos son adecuados sobre todo líquidos hidrófilos, en particular acuosos, y líquidos hidrófobos, en particular que contienen aceite o grasa así como mezclas de los mismos. Estos líquidos pueden contener otras sustancias, tales como por ejemplo sales, principios activos en partículas o gases en forma disuelta o no disuelta. Son mezclas adecuadas de líquidos hidrófilos e hidrófobos en particular emulsiones de aceite en agua y de agua en aceite que pueden contener, dado el caso, sustancias emulsionantes y otros ingredientes. Los ejemplos
25 de tales líquidos son agua, soluciones acuosas, lociones, cremas y pomadas. Son medios para el tratamiento de heridas que se basan en tales líquidos, por ejemplo, cremas para heridas, pastas para heridas, emulsiones para heridas, pulverizadores para heridas en los que el líquido se convierte en un aerosol por un gas propelente y espumas para heridas.

30 Los geles adecuados como material de soporte son en particular hidrogeles con una fase sólida que se basa en polímeros naturales o sintéticos. Los ejemplos de tales polímeros son polivinilalcoholes, polímeros y copolímeros basados en acrilato, polisacáridos de efecto espesante, tales como agarosa, metilcelulosa, ácido hialurónico así como derivados y mezclas de estos polímeros. La fase acuosa de estos geles puede contener otros componentes en forma disuelta. Los medios para el tratamiento de heridas que se basan en tales geles son, en particular, geles
35 para heridas.

Como material de soporte en forma de polvo son adecuados por ejemplo minerales en partículas finas, tales como zeolitas, gel de sílice, tierra de diatomeas o caolín y polisacáridos en partículas finas, tales como celulosa o derivados de celulosa así como mezclas de estos materiales. Estos polvos pueden contener otras sustancias sólidas que están unidas mediante enlace no covalente a las partículas de polvo fino. Los medios para el tratamiento de las
40 heridas que se basan en tales polvos son particularmente partículas polvos finos para heridas.

Por consiguiente, se prefieren los medios de acuerdo con la invención que están presentes en forma de un apósito para heridas, de un material de vendaje, de un polvo fino para heridas, de un pulverizador para heridas, de una espuma para heridas, de un gel para heridas, de una crema para heridas o de una pasta para heridas.
45

Además, se prefieren los medios de acuerdo con la invención en cuyo material de soporte está presente el polifosfato cristalino distribuido en forma de partículas, pudiendo estar distribuidas las partículas de polifosfato en todo el material de soporte o solo en una parte del mismo. Preferentemente, las partículas de polifosfato están
50 distribuidas de forma uniforme o aproximadamente uniforme en el material de soporte o en una parte del mismo, es decir, el material de soporte o la parte del mismo en el que se encuentran las partículas se podría subdividir en segmentos del mismo tamaño o aproximadamente del mismo tamaño en los que se encuentra en cada caso solo una partícula.

55 En una forma de realización de la invención, el polifosfato cristalino está presente en forma de partículas distribuido en una o varias capas del material de soporte aproximadamente bidimensionales. Por ejemplo, las partículas de polifosfato pueden estar incluidas entre dos estratos de un material de soporte permeable a sangre, de forma plana, en particular, de un tejido o un no tejido.

60 En otra forma de realización de la invención, el polifosfato cristalino está presente en forma de partículas distribuido en un material de soporte tridimensional o en una zona tridimensional del material de soporte. Por ejemplo, las partículas de polifosfato pueden estar distribuidas en el volumen de una bola de fibras, una bola de algodón o un gel.

65 El medio de acuerdo con la invención puede contener, de acuerdo con una forma de realización de la invención, adicionalmente al menos otro agente hemostático, en cuyo caso se trata preferentemente de una sustancia cuyo efecto hemostático se conoce por el estado de la técnica. Preferentemente, este agente hemostático adicional está

seleccionado de quitosano, sus derivados, trombina, fibrina, fibrinógeno y sustancias que contienen iones Ca^{2+} que son distintos del polifosfato de calcio cristalino, tal como por ejemplo cloruro de calcio.

5 Los medios de acuerdo con la invención pueden contener otros componentes que han resultado ser de ayuda en los medios para el tratamiento de las heridas, tales como, por ejemplo, elementos adhesivos para la fijación sobre la piel o un recubrimiento exterior que protege la herida de influencias externas o que minimiza la salida de sangre.

10 En una forma de realización preferente de la invención se emplea el medio de acuerdo con la invención para el tratamiento de las heridas en forma estéril. Por consiguiente, la invención se refiere también a medios de acuerdo con la invención que son estériles, así como a medios de acuerdo con la invención en forma estéril que están encerrados en un envase, de tal manera que no pierden su esterilidad ni siquiera a lo largo de periodos de almacenamiento prolongados.

15 Los procedimientos preferentes para la producción de los medios de acuerdo con la invención para el tratamiento de heridas sangrantes comprenden una o varias etapas que son adecuadas para incorporar el polifosfato cristalino presente en forma de partículas, así como dado el caso uno o varios agentes hemostáticos adicionales, en el material de soporte, en un componente del material de soporte o en un precursor del material de soporte. En este contexto, "componente del material de soporte" se refiere a una determinada parte del material de soporte, tal como por ejemplo un estrato de tejido en el interior de un material de soporte textil de varios estratos, o la fase líquida de un gel compuesto de fase sólida y líquida. En el presente documento, "precursor del material de soporte" se refiere a una sustancia a partir de la cual mediante transformación química se puede generar el material de soporte o una parte del mismo, tal como por ejemplo un monómero, que sirve para la producción de un material de soporte polimérico.

25 La incorporación del polifosfato cristalino en el material de soporte, un componente o un precursor del mismo se realiza por norma general al poner en contacto el material de soporte, el componente o el precursor con el polifosfato. En caso de que el material de soporte, el componente o el precursor esté presente en forma líquida o en partículas, se lleva a cabo la incorporación preferentemente mediante mezcla con las partículas de polifosfato. De este modo se pueden incorporar partículas de polifosfato en particular en los materiales de soporte polvo fino y líquidos, pudiendo ser los últimos también componentes de material de soporte, por ejemplo, de una emulsión o de un gel. En el caso de un monómero líquido o disuelto como precursor de material de soporte, las partículas de polifosfato se pueden mezclar con el monómero y a continuación a partir de esto se puede obtener el material de soporte polimérico que comprende las partículas mediante polimerización.

35 En el caso de que el material de soporte, el componente o el precursor del mismo sea un material textil u otro material no en forma de partículas sólido que sea permeable a gases o líquidos, la incorporación se puede realizar por ejemplo al insuflarse las partículas de polifosfato en el material, por ejemplo, mediante un corriente de aire, o al tratar el material con una suspensión que contiene las partículas. Por ejemplo, mediante inmersión de un no tejido en una suspensión acuosa agitada de las partículas, posterior retirada de la fase acuosa y secado del no tejido se puede obtener un no tejido cargado en esencia de forma uniforme con partículas de polifosfato, que es adecuado como medio de acuerdo con la invención para el tratamiento de heridas.

45 Para el tratamiento de una herida sangrante, el medio de acuerdo con la invención se aplica en la zona de la herida por norma general en la zona de la herida de tal modo que la herida o la zona de la herida se cubre, al menos en parte, preferentemente por completo o en su mayor parte, con el medio. Después de la aplicación, el material de soporte se encuentra preferentemente en proximidad directa con o en contacto con el tejido de la herida. Por consiguiente, el material de soporte, de acuerdo con una forma de realización preferente, está en disposición de adaptarse a la forma de la herida en un cierto grado o presenta, ya antes de la aplicación, aproximadamente la forma de la herida. Por tanto, el experto en la materia está en disposición de seleccionar sin problemas para una pluralidad de las más diversas heridas el medio de acuerdo con la invención en cada caso mejor para el tratamiento hemostático al identificar para la respectiva herida un material de soporte adecuado o una combinación adecuada de materiales de soporte.

55 Los polifosfatos cristalinos de acuerdo con la invención y los medios para el tratamiento de heridas que contienen tales polifosfatos se caracterizan por un excelente efecto hemostático. Además, se pueden producir de forma económica, se pueden manipular fácilmente, son adecuados para el tratamiento de las más diversas heridas sangrantes y fisiológicamente son muy compatibles.

60 Los usos y medios de acuerdo con la invención se explican con más detalle mediante las siguientes figuras y ejemplos.

Figuras

65 Las Figuras 1 a 4 muestran diagramas que representan las concentraciones de trombina establecidas con el ensayo descrito en el presente documento para la medición en tiempo real de la formación de trombina en plasma sanguíneo después de la adición de polifosfato en función del tiempo (los denominados trombogramas). La

abreviatura "w/o" significa en cada caso que no se añadió polifosfato. Los trombogranas medidos sin polifosfato (es decir, las líneas w/o) se encuentran en cada caso en el eje x del diagrama.

5 Figura 1: trombograma establecido en presencia de polifosfato de amonio 1 cristalino 0, 1, 5, 10 y 50 µg/ml (longitud de cadena K: 38).

Figura 2: trombograma establecido en presencia de polifosfato de potasio cristalino 0, 1, 5, 10 y 50 µg/ml (longitud de cadena K: 31).

10 Figura 3: trombograma establecido en presencia de polifosfato de sodio cristalino 0, 1, 5, 10 y 50 µg/ml (longitud de cadena K: 44).

15 Figura 4: trombograma establecido en presencia de polifosfato de sodio 3 soluble en agua, amorfo, 0, 1, 5, 10 y 50 µg/ml (longitud de cadena K: aproximadamente 27).

Ejemplos

Determinación de la solubilidad:

20 Los polifosfatos que se iban a examinar se pesaron en cada caso en un matraz Erlenmeyer de 250 ml ($5 \text{ g} \pm 0,01 \text{ g}$) y se mezclaron con agua destilada (50 ml, 20-22 °C). La mezcla obtenida de este modo se agitó durante 20 min con 200 revoluciones por minuto (rpm, movimientos circulares). Después se trasvasó la mezcla a un tubo de centrifuga y se centrifugó durante 20 min a 5000 rpm. Se pipetearon 10 ml de la solución sobrenadante a una placa de aluminio secada previamente (diámetro 60 mm, altura 15 mm), que después se secó a 105 °C en una estufa de aire circulante durante 150 min. La solubilidad en g por 100 g de agua resultó después a partir de la fórmula $\text{TR} \times 10$, en la que TR se refiere al residuo de secado establecido en gramos.

Determinación de la longitud de cadena de polifosfatos:

30 Para los polifosfatos usados se tomó un espectro de RMN de estado sólido de ^{31}P y se estableció la integral de las señales de los grupos fosfato de posición media (a) y también las integrales de las señales de los grupos fosfato de posición terminal (b). Entonces se pudo determinar la longitud de cadena promedio en número K en cada caso con ayuda de la fórmula $K = 2(a/b+1)$. Para algunos de los polifosfatos solubles en agua que sirvieron de comparación se estableció la longitud de cadena promedio en número K correspondientemente también mediante RMN de ^{31}P en solución (D_2O). Los valores obtenidos para las longitudes de cadena K de los polifosfatos examinados están enumerados en la Tabla 1.

Determinación del grado de cristalinidad de polifosfatos

40 Los grados de cristalinidad de los polifosfatos examinados se establecieron mediante sus difractogramas en polvo de rayos X. A este respecto se recurrió a las anchuras de media altura de las señales registradas de los difractogramas de forma así conocida para la cuantificación de la cristalinidad.

Se emplearon los siguientes polifosfatos:

- 45 (1): tripolifosfato de sodio; tripolifosfato de sodio 1331 (BK Giulini);
- (2) oligofosfato de sodio: polifosfato de sodio P60 (BK Giulini);
- 50 (3) polifosfato de sodio A: polifosfato de sodio P64 (BK Giulini);
- (4) polifosfato de sodio B: polifosfato de sodio P68 hexametáfosfato (BK Giulini);
- (5) polifosfato de sodio C: polifosfato de sodio P70 (BK Giulini);
- 55 (6) polifosfato de sodio D: polifosfato de sodio ácido P70,5 (BK Giulini);
- (7) polifosfato de sodio E: sal de Maddrell (BK Giulini);
- 60 (8) polifosfato de amonio A: Phos-Chek P30 (BK Giulini);
- (9) polifosfato de amonio B: Phos-Chek P42 (BK Giulini);
- (10) polifosfato de calcio: producto de laboratorio de BK Giulini;
- 65 (11) polifosfato de potasio: metafosfato de potasio (BK Giulini);

(12) trimetafosfato de sodio: trimetafosfato de sodio (BK Giulini);

(13) hidrogenofosfato de calcio: DCP-D, fosfato dicálcico dihidrato (BK Giulini);

5 Ensayo para la medición de la formación de trombina en tiempo real

Con este procedimiento se estableció la formación de trombina, desencadenada en cada caso por los polifosfatos, en el plasma sanguíneo en función del tiempo y las cantidades empleadas de polifosfato. Con ayuda de los denominados trombogranas obtenidos de este modo se pueden realizar deducciones en cuanto a la velocidad de respuesta y el alcance de la formación de trombina. Las mediciones se llevaron a cabo de forma correspondiente a las instrucciones de Thrombinoscope BV (fabricante del sustrato fluorógeno mencionado más adelante) en un fluorómetro (Fluoroscán Ascent, Thermo Scientific), que estaba equipado con un dispensador (véase F. Müller *et al.*, Cell 2009, 139, 1143-1156 y datos suplementarios). La formación de trombina se realizó a este respecto en un volumen total de 120 µl, que contenía plasma pobre en trombocitos (80 µl), factor tisular (0,5 pM o 0,0 pM), factor VIIa inhibido en el centro activo, fosfolípido (4 µM) compuesto de fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina y fosfatidilcolina en una relación de 20 % en moles/20 % en moles/60 % en moles, Ca²⁺ (20 mM) y el sustrato fluorógeno Z-Gly-Gly-Arg-7-amino-4-metilcumarina (2,5 mM, ZGGR-AMC, Thrombinoscope BV). Se añadieron inhibidor de tripsina de maíz, anticuerpo monoclonal frente al "inhibidor de la vía del factor tisular" (*tissue factor pathway inhibitor* TFPI) humano o "inhibidor de fibrinólisis activable por trombina" (*thrombin activatable fibrinolysis inhibitor* TAFI) e inhibidor de carboxipeptidasa (todos Sigma-Aldrich GmbH) hasta concentraciones finales de 40 µg/ml, 1 µg/ml o 10 µg/ml. Para la corrección de efectos de filtros internos y del consumo de sustrato, cada medición se calibró con respecto a una curva de fluorescencia que se estableció mediante una mezcla del plasma (80 µl) con una cantidad fija de complejo de trombina-α2-macroglobulina (Thrombin Calibrator, Thrombinoscope BV). Todas las mediciones se dejaron correr durante en cada caso 60 min y se llevaron a cabo por duplicado. Los valores obtenidos para la formación de trombina se calibraron con el software de Thrombinoscope (Versión 3.0.0.29). Los datos establecidos para polifosfato de amonio 1 (longitud de cadena K: 38), polifosfato de potasio (longitud de cadena K: 31), polifosfato de sodio (longitud de cadena K: 44) así como polifosfato de sodio 3 soluble en agua (longitud de cadena K: aproximadamente 27) como ejemplo comparativo están resumidos en los trombogranas de las Figuras 1 a 4.

Los trombogranas se caracterizan en particular por el tiempo de retraso y el potencial de trombina endógeno (ETP). En el caso del tiempo de retraso se trata del periodo de tiempo del momento 0 hasta el comienzo del aumento explosivo de la concentración de trombina. Se denomina ETP la integral de la curva medida de la concentración de trombina. El tiempo de retraso coincide en una primera aproximación con el tiempo hasta el comienzo de la coagulación sanguínea, mientras que el ETP es un buen indicador del grado de la coagulación sanguínea (compárese con Hemker *et al.*, Thromb. Haemost. 2006, 96 (55), 553-561).

La comparación de los trombogranas para los polifosfatos cristalinos de acuerdo con la invención con el trombograma del polifosfato de sodio 3 soluble en agua muestra que los polifosfatos de acuerdo con la invención presentan un tiempo de inercia aproximadamente 3 a 5 veces más corto y además presentan ETP que son un múltiplo mayores. A partir de esto se puede deducir que frente al polifosfato de sodio 3 soluble en agua, los polifosfatos cristalinos insolubles en agua de la invención no solo tienen como consecuencia un periodo de tiempo acortado espectacularmente hasta el comienzo de la coagulación sanguínea, sino que también conducen a un enorme aumento de la concentración de trombina y, por tanto, a una coagulación sanguínea mucho más intensa.

En la Tabla 1 indicada en lo sucesivo se caracterizan los fosfatos examinados en relación con su solubilidad en agua, su longitud de cadena, su estructura de sólidos y su efecto hemostático. Se denominan solubles en agua en el presente documento los fosfatos que presentan una solubilidad en agua determinada con el método que se ha descrito anteriormente de al menos 1 g por 100 g de agua. En el presente documento se denominan hemostáticos los fosfatos cuyos trombogranas establecidos según el método que se ha descrito anteriormente presentan una concentración máxima de trombina de al menos 50 nM. Como se puede leer inequívocamente en la Tabla 1, todos los polifosfatos insolubles en agua cristalinos de acuerdo con la invención se caracterizan por un efecto hemostático, mientras que los polifosfatos solubles en agua amorfos así como los mono- tri- y metafosfatos cristalinos no son hemostáticos.

Tabla 1: efecto hemostático de los polifosfatos de acuerdo con la invención de acuerdo con los ejemplos 1 a 5 y de los fosfatos o polifosfatos no de acuerdo con la invención de acuerdo con los ejemplos V1 a V8.

Ejemplo	Fosfatos examinados	Estructura	Longitud de cadena K por RMN de ³¹ P en:		Soluble en agua	Hemostático
			Fase sólida	Solución		
V1	trifosfato de sodio	cristalino	3	3	sí	no
V2	oligofostato de sodio	amorfo	-	5	sí	no
V3	polifosfato de sodio A	amorfo	-	7	sí	no
V4	polifosfato de sodio B	amorfo	-	15	sí	no

ES 2 657 339 T3

Ejemplo	Fosfatos examinados	Estructura	Longitud de cadena K por RMN de ³¹ P en:		Soluble en agua	Hemostático
			Fase sólida	Solución		
V5	polifosfato de sodio C	amorfo	aprox. 27	31	99 %	no
V6	polifosfato de sodio D	amorfo	-	-	98 %	no
1	polifosfato de sodio E	crystalino	44	-	no	sí
2	polifosfato de amonio A	crystalino	38	-	no	sí
3	polifosfato de amonio B	crystalino	110	-	no	sí
4	polifosfato de calcio	crystalino	16	-	no	sí
5	polifosfato de potasio	crystalino	31	-	no	sí
V7	trimetafosfato de sodio	crystalino	anillo de tres miembros	-	sí	no
V8	hidrogenofosfato de calcio	crystalino	1	-	no	no

REIVINDICACIONES

- 5 1. Polifosfato en forma cristalina para su uso en el tratamiento de heridas, en particular de heridas sangrantes, presentando el anión del polifosfato como media (media en número) al menos 4 átomos de fósforo por anión de polifosfato.
- 10 2. Polifosfato en forma cristalina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, presentando el polifosfato un grado de cristalinidad, determinado mediante difracción de rayos X, de al menos el 90 %, en particular de al menos el 95 %.
- 15 3. Polifosfato en forma cristalina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, siendo el anión del polifosfato en esencia lineal.
- 20 4. Polifosfato en forma cristalina para su uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 3, presentando el anión de polifosfato como media de 8 a 500, preferentemente de 12 a 300 y en particular de 15 a 150 átomos de fósforo.
- 25 5. Polifosfato en forma cristalina para su uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, estando seleccionados los cationes del polifosfato independientemente entre sí entre Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Sn^{2+} , Fe^{3+} y Al^{3+} , en particular entre Na^+ , K^+ , NH_4^+ y Ca^{2+} .
- 30 6. Polifosfato en forma cristalina para su uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5, estando seleccionados todos los cationes del polifosfato entre Na^+ , K^+ , NH_4^+ y Ca^{2+} , en particular entre Na^+ , K^+ y NH_4^+ .
- 35 7. Polifosfato en forma cristalina para su uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6, presentando las partículas del polifosfato cristalino un tamaño de partícula promedio en peso en el intervalo de $1\ \mu\text{m}$ a $1\ \text{mm}$, en particular de $1\ \mu\text{m}$ a $0,5\ \text{mm}$.
- 40 8. Medio para el tratamiento de heridas que comprende un polifosfato cristalino tal como está definido en una de las reivindicaciones 1 a 7 y un material de soporte.
- 45 9. Medio de acuerdo con la reivindicación 8, que contiene adicionalmente al menos otro agente hemostático que está seleccionado en particular entre quitosano, sus derivados, trombina, fibrina, fibrinógeno y sustancias que contienen iones Ca^{2+} que son distintas del polifosfato de calcio cristalino.
- 50 10. Medio de acuerdo con una de las reivindicaciones 8 o 9, siendo el material de soporte un material textil, un líquido, un gel, un polvo o una combinación de los mismos.
11. Medio de acuerdo con una de las reivindicaciones 8 a 10, estando presente el polifosfato cristalino en forma de partículas distribuido en el material de soporte.
12. Medio de acuerdo con una de las reivindicaciones 8 a 11 en forma de un apósito para heridas, de un material de vendaje, de un polvo fino para heridas, de un pulverizador para heridas, de una espuma para heridas, de un gel para heridas, de una crema para heridas o de una pasta para heridas.
13. Medio de acuerdo con la reivindicación 11, estando incluido el polifosfato cristalino en forma de partículas entre dos estratos de un material de soporte permeable a sangre, de forma plana, en particular de un tejido o de un no tejido.
14. Medio de acuerdo con una de las reivindicaciones 8 a 13 que es estéril y dado el caso está envasado.
15. Procedimiento para la producción del medio de acuerdo con una de las reivindicaciones 8 a 14, que comprende la incorporación del polifosfato y dado el caso otros agentes hemostáticos en el material de soporte, en un componente o en un precursor del mismo.

Figura 1

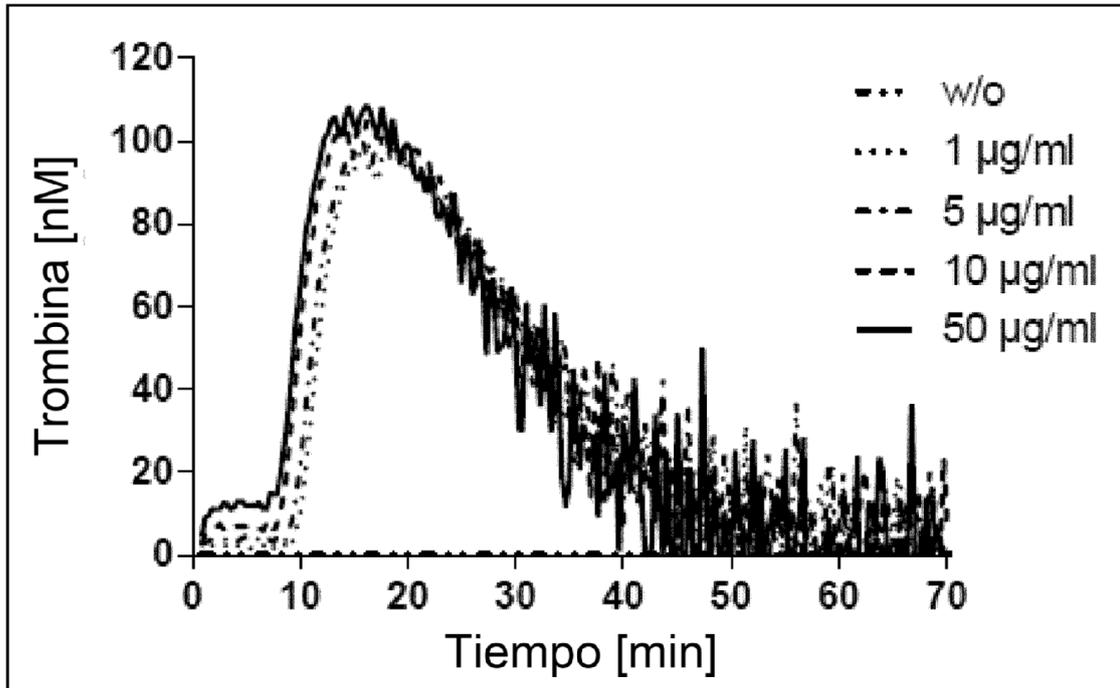


Figura 2

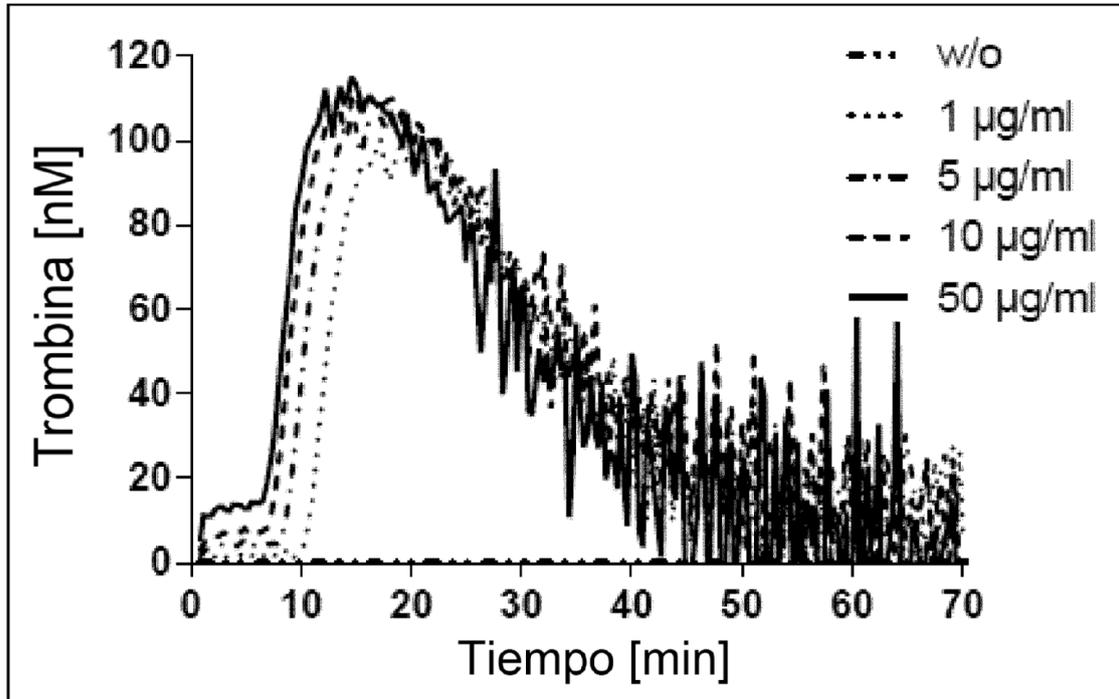


Figura 3

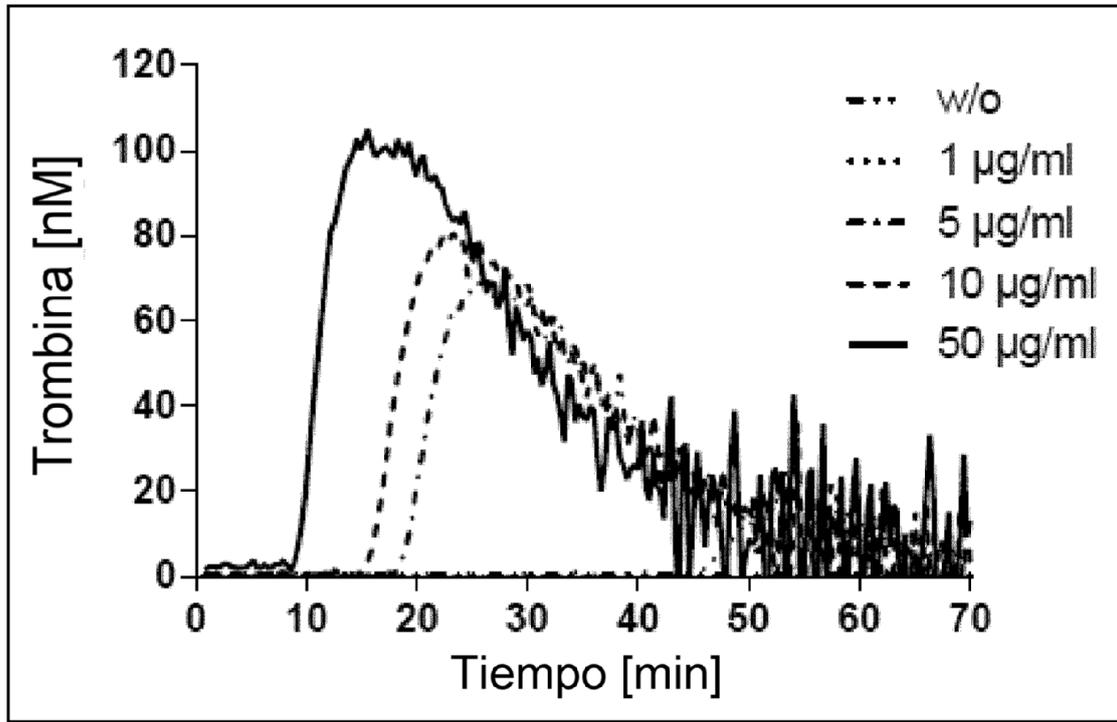


Figura 4

