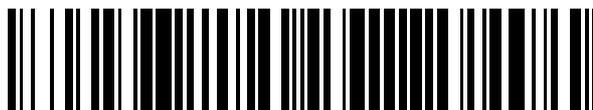


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 659 457**

51 Int. Cl.:

A61L 15/26 (2006.01)

A61L 15/42 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.11.2012 PCT/US2012/066737**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.06.2013 WO13082073**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.11.2012 E 12795313 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.01.2018 EP 2785386**

54 Título: **Dispositivo bioabsorbible hemostático con aglutinante de polietilenglicol**

30 Prioridad:

02.12.2011 US 201161566051 P
13.12.2011 US 201113324115

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.03.2018

73 Titular/es:

ETHICON, INC. (100.0%)
P.O. Box 151, U.S. Route 22
Somerville, NJ 08876, US

72 Inventor/es:

PESNELL, AARON D. y
LLANOS, GERARD

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 659 457 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).

Dispositivo bioabsorbible hemostático con aglutinante de polietilenglicol**Descripción****5 Campo de la Invención**

La presente invención se refiere de manera general a agentes y dispositivos para promover la hemostasis y sellado de tejidos y, más particularmente, a almohadillas hemostáticas que comprenden andamiajes bioabsorbibles que llevan fibrinógeno y trombina liofilizados.

10

Antecedentes

La sangre es un tejido líquido que incluye glóbulos rojos, glóbulos blancos, corpúsculos y plaquetas dispersados en una fase líquida. La fase líquida es plasma, que incluye ácidos, lípidos, electrolitos disueltos, y proteínas. Una proteína particular suspendida en la fase líquida es el fibrinógeno. Cuando hay sangrado, el fibrinógeno reacciona con agua y trombina (un enzima) para formar fibrina, que es insoluble en sangre y se polimeriza para formar coágulos.

15

En una amplia variedad de circunstancias, los animales, incluyendo humanos, pueden sufrir de sangrado debido a heridas o durante procedimientos quirúrgicos. En algunas circunstancias, el sangrado es relativamente menor, y las funciones de coagulación de la sangre normales además de la aplicación de primeros auxilios simples es todo lo que se requiere. En otras situaciones puede haber sangrado sustancial. Estas situaciones habitualmente requieren equipamiento y materiales especializados así como personal entrenado para proporcionar la asistencia apropiada.

20

25

En un esfuerzo por abordar los problemas descritos anteriormente, se han desarrollado materiales para controlar el sangrado excesivo. En aplicaciones quirúrgicas se usan ampliamente hemostatos bioabsorbibles tópicos (TAH). Los TAH abarcan productos basados en varias telas tejidas o no tejidas o esponjas, hechas típicamente de por lo menos materiales parcialmente reabsorbibles, que varían de polímeros naturales a sintéticos y combinaciones de los mismos, incluyendo copolímeros basados en lactida-glicólido como Poliglactina 910, celulosa oxidada (OC), celulosa regenerada oxidada (ORC), gelatina, colágeno, quitina, quitosano, etc. Para mejorar el rendimiento hemostático, pueden combinarse andamiajes basados en los materiales anteriores con factores de coagulación biológicamente derivados, como trombina y/o fibrinógeno.

30

35

Una variedad de formulaciones hemostáticas actualmente disponibles en el mercado o en desarrollo utilizan fibrinógeno liofilizado, frecuentemente en combinación con trombina liofilizada, con formulaciones hemostáticas aplicadas en la forma de polvo seco, pasta semi-líquida, formulación líquida, u opcionalmente dispuesta en un andamiaje de soporte como andamiaje de tela bioabsorbible.

40

Para los parches o almohadillas hemostáticos que contienen trombina y fibrinógeno liofilizado y fibrinógeno en andamiajes bioabsorbibles, hay una necesidad de mejorar el rendimiento y propiedades del dispositivo, con mejoras particularmente necesarias relacionadas con humectabilidad mejorada de las almohadillas, que lleven a reconstitución más rápida de las proteínas liofilizadas, y hemostasis más rápida; friabilidad reducida, es decir, pérdida reducida de polvos activos durante el manejo y/o corte de las almohadillas; y adhesión de tejido y propiedades de sellado de heridas mejorados.

45

La Patente U.S. N° 7.320.962 titulada "Composiciones hemoactivas y métodos para su fabricación y uso", divulga un material hemoactivo seco para inhibir sangrado o administrar un agente, que comprende: un polímero biológicamente compatible reticulado que forma un hidrogel cuando se expone a la sangre; y un polímero biológicamente compatible no reticulado que se solubiliza cuando se expone a la sangre: en donde el polímero reticulado se dispersa en una matriz seca del polímero no reticulado. La referencia divulga además un plastificante presente en por lo menos en polímero no reticulado y enseña que el plastificante se selecciona del grupo que consiste de polietilenglicol, sorbitol, y glicerol.

50

La Patente U.S. N° 6.706.690 titulada " Composiciones hemoactivas y métodos para su fabricación y uso", divulga un material seco que forma un hidrogel cuando se expone a la sangre, dicho material comprendiendo: un polímero biológicamente compatible reticulado que forma un hidrogel cuando se expone a la sangre; y un polímero biológicamente compatible no reticulado que se disuelve cuando se expone a la sangre; un plastificante presente en el polímero biológicamente compatible no reticulado; y en el que el polímero reticulado se dispersa en una matriz seca del polímero no reticulado, en el que el polímero biológicamente compatible no reticulado se disuelve en 15 minutos o menos cuando se expone a la sangre. La referencia divulga además un plastificante presente en el polímero no reticulado a del 1% de peso al 20% de peso del material, y enseña que el plastificante se selecciona del grupo que consiste de polietilenglicol, sorbitol, y glicerol.

60

65

La Solicitud de Patente U.S. N° 2011/0071499A1 titulada "PARCHE BIODEGRADABLE AUTONOMO",

divulga un dispositivo que comprende: una película que comprende una mezcla de fibrinógeno sólido y trombina sólida, en donde la película es autónoma y está configurada para formar un parche de fibrina tras la exposición a humedad y enseña además que la película comprende además un plastificante. Divulga además el dispositivo en donde la película comprende aproximadamente de 5 a aproximadamente 30 de porcentaje de peso de polietilenglicol.

La Solicitud de Patente U.S. N° 2009/0053288A1 titulada "tela tejida hemostática" divulga una tela tejida que tiene un patrón de tejido de pata de gallo modificado, que comprende además un agente hemostático. La referencia divulga además la tela tejida que comprende además un conservante seleccionado del grupo consistente de glicerol, propanediol, polioxietilenglicol (PEG), trehalosa, y combinaciones de los mismos.

La Solicitud de Patente U.S. N° 2007/0160653A1 titulada "Textil hemostático" divulga un textil hemostático, que comprende, un material que comprende fibras de vidrio y una o más fibras secundarias seleccionadas del grupo que consiste de fibras de seda, fibras de poliéster; fibras de nylon; fibras de cerámica; fibras de bambú crudas o regeneradas; fibras de algodón; fibras de rayón; fibras de lino; polímeros de lactida y/o glicólido; copolímeros de lactida/glicólido; trombina o una fracción que contiene trombina; y uno o más agentes hemostáticos seleccionados del grupo que consiste de plaquetas RL, glóbulos rojos RL; fibrina, y fibrinógeno; dicho textil hemostático capaz de activar sistemas hemostáticos en el cuerpo cuando se aplica a una herida. La referencia divulga además el textil hemostático que comprende además un conservante seleccionado del grupo que consiste de glicerol, propanediol, polioxietilenglicol (PEG), trehalosa y combinaciones de los mismos.

La Publicación de Patente PCT N° 1997028832 A1 titulada "COMPOSICION PARA SELLAR HERIDAS", divulga una venda hemostática que contiene fibrinógeno en polvo y trombina adherida a la matriz fibrosa con un adhesivo viscoso, no acuoso como polisacárido, glicol o vaselina viscosos. El adhesivo no acuoso no permite que tenga lugar una reacción hidrolítica entre el fibrinógeno y la trombina hasta que la venda se humedezca por un fluido corporal, como sangre y enseña que la venda puede prepararse y almacenarse durante periodos prolongados mientras retiene la actividad hemostática. La referencia divulga además una composición para disminuir un flujo de sangre de una herida, que comprende: un portador; constituyentes de la coagulación adheridos al portador por un adhesivo seleccionado del grupo que consiste de agua a un pH con el que la trombina y el fibrinógeno no interactúan para formar fibrina, y un adhesivo biocompatible no acuoso viscoso, los constituyentes de la coagulación estando presentes en una cantidad terapéuticamente suficiente para coagular y disminuir el flujo de sangre de la herida cuando la composición contacta con los fluidos corporales que activan la coagulación. La referencia divulga además la composición en la que el adhesivo es un líquido no acuoso a 20° C que adhiere los constituyentes de coagulación al portador. La referencia divulga además la composición, en donde el adhesivo no acuoso se selecciona del grupo que consiste de propilenglicol, glicerol, vaselina y polietilenglicol.

La referencia enseña además un vendaje para heridas hemostático, que comprende: una matriz fibrosa adecuada para su colocación como una almohadilla aplicada sobre o insertada en una herida sangrante abierta; una mezcla de partículas entremezcladas de factores de coagulación en polvo presentes en la superficie de la matriz, las partículas estando en contacto lo suficientemente cercano entre sí para formar una coágulo cuando se exponen a un medio acuoso a un pH fisiológico, las partículas estando adheridas a la matriz por un adhesivo no acuoso viscoso, que tiene una viscosidad de por lo menos 100 centipoises a 20° C, que inhibe una reacción de coagulación entre las partículas entremezcladas hasta que las partículas se exponen a un medio acuoso a pH fisiológico.

La referencia divulga además un vendaje para heridas hemostático, que comprende: una matriz fibrosa adecuada para su colocación como una almohadilla aplicada sobre o insertada en una herida sangrante abierta; una mezcla de partículas entremezcladas de factores de coagulación en polvo presentes en la superficie de la matriz, en contacto suficientemente estrecho para formar un coágulo cuando se expone a un medio acuoso a un pH fisiológico, las partículas estando adheridas a la matriz por un adhesivo no acuoso viscoso que inhibe una reacción de coagulación entre las partículas entremezcladas hasta que las partículas se exponen a un medio acuoso a pH fisiológico, en donde el adhesivo se selecciona del grupo que consiste de un polisacárido, polietilenglicol, propilenglicol, glicerol y vaselina, dicho adhesivo se ha aplicado a la matriz en una forma líquida que comprende menos del 3% por peso de agua.

Sumario de la Invención

Brevemente, en una realización, la presente invención está dirigida hacia una almohadilla hemostática que tiene friabilidad y humectabilidad mejoradas y un método para fabricar dicha almohadilla hemostática, dicha almohadilla hemostática comprendiendo: un material de andamiaje bioabsorbible o biorreabsorbible; un polvo de trombina liofilizado, un polvo de fibrinógeno liofilizado, y un polvo de polietilenglicol (PEG), todos dispuestos en el material de andamiaje bioabsorbible; en donde el polvo de PEG enlaza el polvo de trombina liofilizada y el polvo de fibrinógeno liofilizado con el material de andamiaje bioabsorbible pero no envuelve completamente las partículas de polvo de trombina liofilizada y/o de polvo de fibrinógeno liofilizado. Bioabsorbible y biorreabsorbible se usan de manera intercambiable en la presente para significar materiales que se pueden descomponer por el cuerpo y que no requieren eliminación mecánica.

En una realización, la presente invención está dirigida hacia un método para fabricar una almohadilla hemostática, que comprende los pasos de (a) formar una suspensión de un polvo de trombina liofilizada, un polvo de fibrinógeno liofilizado, y un polvo de polietilenglicol en un fluido no acuoso; (b) recubrir la suspensión sobre un andamiaje hecho de un material biorreabsorbible; (c) permitir que el fluido evapore, con el andamiaje llevando una parte del polvo de trombina, el polvo de fibrinógeno, y el polvo de polietilenglicol; (d) calentar el andamiaje a una temperatura que exceda el punto de fusión del polietilenglicol pero que no exceda la temperatura para la desnaturalización apreciable de trombina o fibrinógeno; (e) enfriar el andamiaje a temperatura ambiente para formar la almohadilla hemostática.

Breve Descripción de las Figuras

La Figura 1 muestra datos de la prueba de pelado de tejido y efectos del aditivo de PEG

La figura 2 muestra datos de prueba de fugas para varios sistemas probados

La Figura 3 muestra los resultados de la prueba de friabilidad para diferentes concentraciones de PEG3

Descripción Detallada de la Invención

Brevemente, en una realización, la presente invención está dirigida hacia una almohadilla hemostática que tiene friabilidad y humectabilidad mejoradas y un método para fabricar dicha almohadilla hemostática, dicha almohadilla hemostática comprendiendo: un material de andamiaje bioabsorbible; un polvo de trombina liofilizado, un polvo de fibrinógeno liofilizado, y un polvo de polietilenglicol, todos dispuestos en el material de andamiaje bioabsorbible; en donde el polvo de PEG enlaza el polvo de trombina liofilizada y el polvo de fibrinógeno liofilizado con el material de andamiaje bioabsorbible pero no envuelve completamente las partículas de polvo de trombina liofilizada y de polvo de fibrinógeno liofilizado.

De acuerdo con una realización de la presente invención, se usa PEG fundible, opcionalmente en presencia de CMC, para crear adhesión más fuerte de las proteínas liofilizadas con el material de andamiaje bioabsorbible y mejor humectabilidad/adhesividad de la almohadilla hemostática resultante, por lo que el PEG fundido y re-solidificado enlaza partículas o polvos próximos y fibras del andamiaje, pero no recubre o envuelve completamente los polvos/partículas para permitir que la humedad acceda y active fácilmente estos agentes biológicos en un entorno quirúrgico. Esto da como resultado una solución de bajo coste para la reducción de la friabilidad junto con adhesión y sellado de tejido mejorados.

En una realización, la presente invención está dirigida a un material o almohadilla hemostática o de sellado de tejido.

Almohadilla hemostática que contiene fibrinógeno y trombina liofilizados

De acuerdo con una realización, la presente invención está dirigida a una almohadilla hemostática que contiene agentes promotores de la hemostasis liofilizados, en un andamiaje o matriz bioabsorbibles. Los andamiajes hemostáticos preferidos con polímeros bioabsorbibles naturales o diseñados genéticamente o polímeros bioabsorbibles sintéticos, o mezclas de los mismos.

Ejemplos de polímeros bioabsorbibles naturales o diseñados genéticamente son proteínas polisacáridos y combinaciones de los mismos. Los polisacáridos incluyen, sin limitación, celulosa, celulosa oxidada, celulosa regenerada oxidada (ORC), alquil celulosa, por ejemplo metilcelulosa, alquilhidroxialquilcelulosa, hidroxialquilcelulosa, sulfato de celulosa, sales de carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa, carboxietilcelulosa, quitina, carboximetilquitina, ácido hialurónico, sales de ácido hialurónico, alginato, ácido algínico, alginato de propilenglicol, glucógeno, dextrano, sulfato de dextrano, curdlano, pectina, pululano, xantano, condroitina, sulfatos de condroitina, carboximetil dextrano, carboximetilquitosano, quitosano, almidón, amilosa, amilopectina, poli-N-glucosamina, ácido polimanurónico, ácido poliglucurónico, ácido poligulurónico y derivados de cualquiera de los anteriores.

Ejemplos de polímeros bioabsorbibles sintéticos son polímeros, copolímeros y/o combinaciones de los mismos. Los poliésteres se sintetizan típicamente en una polimerización por apertura de anillo de monómeros que incluyen, pero no están limitados a, ácido láctico, lactida (incluyendo las mezclas L-, D-, meso y D, L), ácido glicólico, glicólido, ε-caprolactona, p-dioxanona (1,4-dioxan-2-ona) y carbonato de trimetileno (1, 3-dioxan-2-ona).

Los agentes promotores de la hemostasis incluyen proteínas, protrombina, trombina, fibrinógeno, fibrina, fibronectina, heparinasa, factor X/Xa, factor VII/VIIa, factor IX/IXa, factor XI/XIa, factor XII/XIIa, factor tisular, batroxobina, ancrod, ecarina, factor de von Willebrand, colágeno, elastina, albúmina, gelatina, glucoproteínas de superficie plaquetaria, vasopresina, análogos de vasopresina, epinefrina, selectina, veneno procoagulante, inhibidor

del activador de plasminógeno, agentes activadores de plaquetas, péptidos sintéticos que tienen actividad hemostática, y/o combinaciones de los mismos.

5 Utilizada en las pruebas experimentales de la presente invención es referido como una almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos mejoradas y consiste de una matriz compuesta de fibras de Poliglactina 910 (PG910) que se han punzonado en una capa de respaldo de ORC. El lado de PG910 de la matriz está recubierto con polvos de fibrinógeno y trombina humanos en un estado seco, sin reaccionar. Cuando se aplica la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos mejorados a un sitio de sangrado, las proteínas se hidratan fácilmente (en segundos) dando lugar a la conversión de fibrinógeno a fibrina formando un coagulo de fibrina. La formación de fibrina en la superficie del tejido promueve la hemostasis y la adhesión al tejido. Cabe destacar que las proteínas permanecen en un estado sin reaccionar antes de la aplicación al tejido. La conversión prematura de fibrinógeno a fibrina (pre-activación) debido a la exposición de agua durante la producción o almacenamiento podría tener un impacto negativo en el rendimiento y la estabilidad.

15 La Patente de Estados Unidos 7.666.803 de Shetty, et al. titulada "Tela multicapa bioabsorbible reforzada para su uso en dispositivos médicos" enseña una tela multicapa que comprende una primera tela no tejida bioabsorbible y una segunda tela tejida o de punto bioabsorbible que comprende polisacáridos oxidados.

20 La publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos 2009/0246238 A1 por Gorman et al., titulada "VENDAJE PARA HERIDAS HEMOSTATICO MULTICAPA BIOABSORBIBLE REFORZADO" enseña un método para hacer un vendaje para heridas multicapa que tiene una primera tela no tejida, una o más segundas telas tejidas o de punto bioabsorbibles, trombina y/o fibrinógeno, que comprende los pasos de: (a) engarzar fibras o hilos de polímero bioabsorbibles en el intervalo de aproximadamente 4 a 12 rizos por cm (10 a 30 rizos por pulgada); (b) cortar las fibras o hilos engarzados a una longitud de fibra de entre aproximadamente 0,25 y 6,35 cm (0,1 y 2,5 pulgadas); (c) cardar la fibra para formar la primera tela no tejida bioabsorbible mientras se controla la humedad a aproximadamente del 20 al 60%, a una temperatura ambiente de aproximadamente 15 a 24° C; (D) unir la primera tela no tejida bioabsorbible con la segunda tela tejida o de punto bioabsorbible; (e) aplicar trombina y/o fibrinógeno a la primera tela no tejida bioabsorbible. La referencia divulga además un método para hacer un vendaje para heridas que comprende tela no tejida bioabsorbible, trombina y/o fibrinógeno, que comprende los pasos de: (a) suspender la trombina y/o fibrinógeno en un hidrocarburo perfluorado para formar una suspensión; y (b) aplicar la suspensión a la tela no tejida bioabsorbible.

35 La Publicación de Patente Europea EP 2.052.746 A2, titulada "Método para hacer un hemóstato bioabsorbible" por Gorman et al., divulga un método para hacer un vendaje para heridas, caracterizado porque dicho método comprende: suspender polvo de trombina y/o fibrinógeno en un fluido portador de hidrocarburo perfluorado en el que no son solubles, y aplicar la suspensión resultante a una primera tela no tejida bioabsorbible.

40 La Solicitud de Patente de Estados Unidos Publicada 2006/0088589 A1, titulada Método para hacer un hemóstato bioabsorbible, Gorman et al., divulga un método para hacer un vendaje para heridas, caracterizado porque en dicho método comprende: suspender polvo de trombina y/o fibrinógeno en un fluido portador de hidrocarburo perfluorado en el que no son solubles, y aplicar la suspensión resultante a una primera tela no tejida bioabsorbible.

45 Las almohadillas que contienen agentes biológicos hemostáticos hechas como se describe en las referencias anteriores se utilizaron en los experimentos llevados a cabo en la puesta en práctica de la presente invención.

50 El componente de la matriz de almohadillas que contienen agentes biológicos hemostáticos consiste de una capara de respaldo de ORC de punto bajo una capa de fibras no tejidas de Poliglactina 910 (PG910). Durante el proceso de fabricación de la matriz, las fibras de PG910 se cardan en una napa y se punzonan en el respaldo de ORC para producir la matriz para la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos mejorada.

55 Los componentes biológicos de la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos son preferiblemente las formas liofilizadas de sustancias de fármacos de fibrinógeno humano y trombina humana. Las sustancias de fibrinógeno y trombina pueden obtenerse alternativamente de fuentes animales no humanas o derivarse sintéticamente de manera conocida. La composición de la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos usada en los experimentos estará clara a partir de los datos presentados a continuación. Además de las cantidades de polvos activos como se describe a continuación, las almohadillas que contienen agentes biológicos hemostáticos de la invención también se recubrieron opcionalmente con cantidades variables de PEG3000 y CMC, como se describe posteriormente en el texto. Los componentes biológicos de la almohadilla que contiene fibrinógeno son preferiblemente formas liofilizadas del fibrinógeno humano y la trombina humana. Contienen respectivamente los ingredientes biológicamente activos, fibrinógeno y trombina, y otros excipientes. Las composiciones del fibrinógeno humano y la trombina humana como se aplican a la almohadilla que contiene fibrinógeno son 2-20 mg/cm² de fibrinógeno y 1-150 IU/cm² de trombina. La composición del componente de andamiaje o matriz de la almohadilla

que contiene agentes biológicos hemostáticos era de aproximadamente 5-30 mg/cm² de ORC (como una capa de respaldo); y 5-30 mg/cm² de PG910 (como una capa portadora), con la matriz total teniendo un peso de aproximadamente 10-60 mg/cm².

5 Las composiciones del fibrinógeno humano y la trombina humana como se aplican a la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos era de aproximadamente 2-20 mg/cm² de fibrinógeno y 1-150 IU/cm² de trombina, con otros excipientes presentes, como cloruro de calcio, arginina opcional, glicina, albúmina, manitol, sales tampón y otros componentes de proteínas opcionales encontrados convencionalmente en productos derivados de plasma sanguíneo.

10 **Ejemplo 1. Fabricación de muestras de prueba de almohadillas que contienen agentes biológicos hemostáticos**

15 Siguiendo procedimientos similares a los descritos en la publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos 2009/0246238 A1 y Publicación de Patente Europea EP 2.052.746 A2 anteriormente referenciados, se hiló en fundido Poli(glicólido-co-láctida) (PHLA, 90/10 mol/mol) en fibra. Un hilo multifilamento de 80 denier se consolidó en un hilo consolidado de 800 denier. El hilo consolidado se engarzó a aproximadamente 110° C. El hilo engarzado se cortó en fibras que tenían una longitud de aproximadamente 3,2 cm (1,25") de longitud se pesaron con precisión 20 gramos de fibra engarzada y se distribuyó uniformemente en la cinta transportador de alimentación de una 20 maquina de cardado multi-rodillo. Se controlaron las condiciones ambientales (temperatura: 21° C/55% RH). La fibra se cardó luego para crear una napa no tejida. La napa se retiró del rodillo de recogida y se cortó en 4 partes iguales. Estas se volvieron a alimentar en el cardador perpendiculares a la dirección de recogida. Tras este segundo pase, se peso la napa (19,8 g: 99% rendimiento de tela) y se compactó en un fieltro. El fieltro compacto se dispuso con precisión en una tela ORC y se unió firmemente mediante punzonado. La tela multicapa se recortó y se fregó en 3 25 baños de alcohol isopropílico discretos para eliminar el acabado de hilado y aceites de la máquina. La tela multicapa recortada se secó en un horno a 70° C durante 30 minutos, se enfrió y se pesó.

La tela multicapa fregada se cortó luego en piezas de 10x10 cm (4x4 pulgadas). Se mezclaron concienzudamente 1,70 gramos de BAC-2 (Omrix Biopharmaceuticals, Inc.) que tiene una actividad específica (por 30 Clauss) de 0.3 g/g y 0,30 g de polvo que contiene trombina (también de Omrix Biopharmaceuticals, Inc.) y opcionalmente 0,40 g de polietilenglicol (PEG) y opcionalmente 0,30 g de polvo de carboximetilcelulosa (CMC) con aproximadamente 14 mililitros de fluido no acuoso, hidrofluoroéter HFE-7000. La lechada se vertió en una bandeja con un pocillo ligeramente más grande de 10x10 cm (4x4 pulgadas) para acomodar la tela. La tela luego se recubrió por inmersión en la lechada para depositar sustancialmente los polvos en la tela. La almohadilla hemostática 35 multicapa resultante se secó al aire durante por lo menos 15 minutos.

Las pruebas de mezcla que contenían PEG, con algunas muestras conteniendo también opcionalmente CMC, se sometieron a tratamiento por calor a la temperatura que excedía el punto de fusión del PEG. Las muestras 40 se posicionaron en un horno de vacío estándar que tenía un ajuste de temperatura de 65-70° C y se calentaron durante aproximadamente 15 minutos. Las partículas trombina y fibrinógeno liofilizadas recubiertas en el andamiaje bioabsorbible, y opcionalmente las partículas de CMC, se fusionan así con el andamiaje por calentamiento a una temperatura que excede el punto de fusión del PEG. Se permitió luego que las muestras de prueba enfriasen a temperatura ambiente.

45 El fluido de hidrofluoroéter (HFE) era 3M Novec™ Fluido Diseñado HFE-7000, 1-metoxiheptafluoropropano que está disponible comercialmente de 3M Corporation. El HFE-7000 es un fluido de punto de ebullición bajo, no inflamable, inerte. El HFE-7000 se usa como un vehículo de administración inerte para la trombina y el fibrinógeno y opcionalmente polvo de PEG y/o CMC durante la fabricación, y se elimina sustancialmente completamente por evaporación durante el proceso de fabricación. Podría utilizarse cualquier otro fluido no acuoso de punto de 50 ebullición bajo, no inflamable, inerte como el vehículo de administración inerte para la trombina y el fibrinógeno y opcionalmente polvo de PEG y/o CMC durante la fabricación de las almohadillas hemostáticas de la invención.

Puede usarse cualquier polvo fundible biológicamente compatible y bioabsorbible para poner en práctica la presente invención, siempre que sea sólido a temperatura ambiente y tenga una temperatura de fusión por debajo 55 de la temperatura de desnaturalización apreciable de las proteínas liofilizadas. El aglutinante preferido es el PEG que tiene un peso molecular medio de 1000 a 20.000 Daltons, y más preferiblemente PEG 3000 a 8000. En el ejemplo actual se usó PEG 3000, obtenido de Fluka, con punto de fusión de aproximadamente 56-59° C y un número de tamaño de partícula medio de 45 micras. En una realización preferida, las partículas del aglutinante tiene por lo menos el 95% por número de partículas con un tamaño de partícula en el intervalo de aproximadamente 25-60 60 micras, más preferiblemente en el intervalo de 35-55 micras.

El CMC (30.000 PA Claro y Estable) se obtuvo de Dow Wolff Cellulosics y tenía un tamaño de partícula medio de 20 micras.

65 El BAC-2 (componente biológicamente activo 2) es un producto derivado de la sangre que contienen

principalmente fibrinógeno, el resto incluyendo albúmina, sales tampón y otros componentes de proteínas encontrados convencionalmente en productos derivados del plasma sanguíneo.

5 Se fabricaron tres tipos de muestras de almohadillas que contienen agentes biológicos hemostáticos de acuerdo con el proceso descrito anteriormente y probados experimentalmente:

- 10 a) Almohadillas que contienen agentes biológicos hemostáticos que contenían fibrinógeno y trombina;
 b) Almohadillas que contienen agentes biológicos hemostáticos que contenían fibrinógeno, trombina, y PEG;
 c) Almohadillas que contienen agentes biológicos hemostáticos que contenían fibrinógeno, trombina, PEG, y CMC.

15 Las almohadillas que contienen agentes biológicos hemostáticos que contenían pequeñas cantidades de PEG mostraron inesperadamente propiedades mejoradas, incluyendo fuerza de pelado, friabilidad y humectabilidad mejorados. El resultado funcional de estas mejoras son sellado y propiedades de adhesión de tejido mejorados, junto con friabilidad reducida de activos.

Ejemplo 2: Prueba de Pelado de Tejido

20 Se utilizaron los siguientes niveles variables de concentraciones de ingredientes activos: polvo que contiene fibrinógeno BAC-2: 5,0 y 6,7 mg/cm² de fibrinógeno o 1,27 gramos y 1,7 gramos de polvo BAC-2 que contiene fibrinógeno como por muestra de almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos de 4x4".

Polvo que contiene trombina: 300 mg de polvo que contiene trombina por muestra de almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos de 4x4".

25 PEG: 0; 100, 400 mg por muestra de almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos de 4"x4".
 CMC: 0; 300 mg por muestra de almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos de 4"x4".

30 La prueba de pelado de tejido se realizó como sigue. Se colocó una muestra de prueba de una almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos que tenía la anchura de 1,9 cm (0,75 pulgadas) y aproximadamente 10,2 cm (4 pulgadas) de largo en tejido de dermis bobino húmedo. Se colocó inmediatamente un peso de compresión aplicando 180 mm Hg de presión en la parte superior de la muestra de prueba de almohadilla que contenía agentes biológicos hemostáticos, y se permitieron tres minutos para la incubación y adherencia al tejido. Tras la incubación se retiró el peso y la muestra de almohadilla que contenía agentes biológicos hemostáticos se sujetó a una cruceta y luego se peló del tejido de dermis a 90 grados y se midió la fuerza de pelado usando un tensiómetro.

40 En referencia ahora a la Tabla 1 y a la Figura 1, se presentan los resultados de la prueba de pelado del tejido.

Tabla 1. Resultados de la Prueba de Pelado de Tejido

Nº de muestra de almohadilla	BAC2 (g)	Trombina (mg)	PEG3000 (mg)	CMC 30k (mg)	Fuerza de Pelado Media (N/m)
9,14 (n=6)	1.700	300	0	0	94.80
10	1.700	300	100	0	106.87
11	1.700	300	100	300	122.72
12	1.700	300	400	0	120.76
13	1.700	300	400	300	126.00
15	1.270	300	100	0	85.93
17	1.270	300	400	0	95.04
20	1.270	300	100	300	73.00
24	1.270	300	400	300	118.68

60 El análisis de los datos presentados en la Tabla 1 indica que la presencia de PEG3000 en la cantidad que varía de 100 a 400 mg mejoró significativamente la fuerza de pelado del tejido de la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos, con más PEG dando lugar a fuerza de pelado más alta. El análisis adicional de los datos indica que de manera similar, con una excepción de una prueba, la presencia de CMC 30k en la cantidad de 300 mg mejora la fuerza de pelado de tejido de la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos.

En referencia ahora a la Figura 1, se presentan los puntos de datos individuales así como los valores promedio para la prueba de pelado de tejido que muestran específicamente los efectos de 400 mg de PEG en el pelado de tejido. El gráfico presenta los datos para almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos que tienen una cantidad nominal de fibrinógeno y trombina (1700 mg y 300 mg respectivamente) en relación a la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos que tiene adicionalmente 400 mg de PEG 3000. El análisis de los datos indica que la presencia de PEG3000 mejoró significativamente la fuerza de pelado de tejido de la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos.

Ejemplo 3. Prueba de fugas

La prueba de fugas se realizó como sigue: Se sometió una muestra de prueba de la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos a incubación en plasma porcino bajo un peso de compresión durante tres minutos. La muestra se colocó luego en un accesorio de metal plano con una apertura de 4,5 mm, y se sujetó una parte superior de plástico claro con una apertura concordante sobre la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos. La muestra se sometió luego a plasma porcino derivado como un fluido hidráulico a través de la apertura a un caudal constante. La fuga era por lo tanto el único modo de fallo permitido, y se registraron los picos de presión como salidas.

En referencia ahora a la Tabla 2 y la Figura 2, se presentan los resultados de la prueba de fugas para dos cantidades diferentes de BAC2: 1,7 g y 1,27 g de polvo de BAC-2 que contiene fibrinógeno por muestra de almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos de 4"x4"; 0 y 400 mg de PEG3000; y 0 y 300 mg de CMC 30k; todas las cantidades son por muestra de almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos de 4"x4".

Tabla 2. Resultados de prueba de fugas

Nº de muestra de almohadilla	BAC2 (g)	Trombina (mg)	PEG3000 (mg)	CMC 30k (mg)	Pico de Fuga Medio P (mmHg)
14 (Nominal)	1.700	300	0	0	88±27
12	1.700	300	400	0	1226±523
13	1.700	300	400	300	1029±286
24	1.270	300	400	300	524±119

El análisis de los datos indica que la presencia de PEG3000 mejora significativamente la fuerza de la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos en las pruebas de fugas (Muestras 12, 13, 24) en relación a la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos sin la adición de PEG (muestra 14). La mejora en la presión de la prueba de fugas media varía de aproximadamente 6 veces mejor a aproximadamente 14 veces mejor.

Ejemplo 4. Prueba de Friabilidad

En referencia ahora a la Tabla 3 y a la Figura 3, los resultados de la prueba de friabilidad se presentan para cuatro concentraciones diferentes de PEG3000 (0, 100, 200, y 400 mg; todas las concentraciones por muestra de almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos de 4"x4") tras el manejo de almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos.

La prueba de friabilidad para la pérdida de peso del polvo tras el manejo se realizó como sigue. Se sometió una muestra de prueba de la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos a prácticas de manejo extremas empleadas. Se registró primero el peso de la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos de 4x4 pulgadas. Luego la almohadilla hemostática se mantuvo en un mano aproximadamente 7,6 cm (tres pulgadas) por encima de la parte superior del banco, con el lado recubierto encarando hacia abajo. La almohadilla se cortó usando tijeras quirúrgicas en dos piezas de aproximadamente 2x4 pulgadas. La pieza no sostenida se permitió que cayese en una gasa estéril en la parte superior del banco. Luego cada una de las dos piezas de 5x10 cm (2x4 pulgadas) se mantuvo a 30,5 cm (12 pulgadas) por encima de la gasa estéril en la parte superior del banco, y ambas se dejaron caer respectivamente tres veces. Las dos piezas se pesaron en la báscula, y se realizó un equilibrio de masas para calcular el porcentaje de pérdida de polvo de la muestra de 4x4 pulgadas original. Las muestras usadas contenían cantidades variables de PEG y no contenían CMC. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3 Prueba de Friabilidad. Pérdida de peso del polvo tras el manejo

Nº de muestra de almohadilla	BAC2 (g)	Trombina (mg)	PEG3000 (mg)	Porcentaje de Pérdida de Peso
5	1.700	300	0	16.0
6	1.700	300	100	2.6
7	1.700	300	200	2.2
8	1.700	300	400	1.4

El análisis de los datos de la Tabla 3 indica que la presencia de PEG3000 dio como resultado una friabilidad significativamente reducida de la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos en la prueba de friabilidad (Muestras 6, 7, 8) en relación a la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos sin la adición de PEG (muestra 5), con la pérdida de polvo disminuyendo por un factor de aproximadamente 11 en el contenido más alto de PEG de 400 mg a aproximadamente un factor de 6 en la cantidad de PEG más baja presente correspondiente a 100 mg de PEG.

Las muestras que se sometieron a prácticas de manejo extremo como se ha descrito anteriormente se probaron luego para pelado de tejido como se describe en el Ejemplo 2. Esta prueba demostró los efectos sinérgicos de friabilidad reducida y humectación y fuerza de pelado de tejido mejoradas para las muestras que contenían cantidades de PEG de 100, 200 y 400 mg por dispositivo de 4x4" en relación a las muestras que contenían 0 mg de PEG. Se midió la fuerza de pelado de tejido para las muestras de prueba de almohadillas que contienen agentes biológicos hemostáticos sometidas a manejo extremo estandarizado como se describe anteriormente, y los resultados reflejan una combinación sinérgica de reducción de friabilidad y mejora de la adhesión. Los análisis de los resultados experimentales presentados en la Figura 3 indican que la presencia de PEG3000 mejoró significativamente la fuerza de pelado después de que las muestras se hubieron sometido a manejo extremo. Se evidenció una respuesta a dosis de PEG positiva en los resultados de pelado de tejido, con contenidos de PEG crecientes dando como resultado fuerzas de pelado de tejido crecientes, con una mejora de factor 2-2,5 para las muestras que contenían 400 mg de PEG en relación a las muestras que no contenían PEG.

Ejemplo 5. Prueba de Gelificación de Fibrina

Se realizó una prueba de gelificación de fibrina que media el tiempo para que una muestra coagulase una solución de fibrinógeno (método de inclinación del tubo) como sigue. Se disolvió fibrinógeno (ERL FIB3) en 200 mM de solución salina tamponada Tris a una concentración de 10 mg/ml. Se colocó una muestra de almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos de la invención o una almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos de control, que media aproximadamente 1 cm² en la parte inferior de un tubo de vidrio de borosilicato de 12x75 mm. La mezcla se posicionó con el lado recubierto encarando hacia arriba en el tubo. Luego se añadieron 2 ml de la solución de fibrinógeno de 10 mg/ml al tubo, que se cubrió y luego se colocó inmediatamente la gradilla de tubos en un baño de agua a 37° C. Cada diez segundos se invirtió manualmente el tubo y luego se colocó de nuevo en la gradilla dentro del baño de agua. Se hicieron observaciones en cada inversión, y el punto final fue el momento en el que se observó formación de gel completa, es decir, no había movimiento de fluido en bruto en el tubo.

Los resultados de la prueba son como sigue. Para la muestra de almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos de control que no contenía PEG ni CMC, el tiempo de la muestra para coagular una solución de fibrinógeno en dos pruebas fue 230 y 270 segundos. Para la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos de la invención que contenía 400 mg de PEG3000 y 300 mg de CMC, todas las concentraciones por muestra de almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos de 4"x4", el tiempo para la muestra para coagular una solución de fibrinógeno en dos pruebas fue de 90 y 120 segundos.

Los resultados indican coagulación de la solución de fibrinógeno más rápida y por lo tanto humectación más rápida/menor hidrofobicidad/mejor disponibilidad de la trombina en las almohadillas que contienen agentes biológicos hemostáticos que contienen PEG y CMC.

Ejemplo 6. Estudio de ingreso de agua

Se realizó un estudio de ingreso de agua como sigue. Una muestra de almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos de aproximadamente 1 cm² se sometió a una gotita de agua administrada en su lado activamente recubierto por una jeringuilla. Se midió luego el tiempo que tardó la gotita de agua de absorberse en la muestra.

Los resultados de la prueba son como sigue. Para una almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos nominal que no contenía PEG, se observó que el tiempo que tardaba la gotita de agua en absorberse

en la muestra estaba en el orden de minutos, es decir más de aproximadamente 1-2 minutos. Para la almohadilla que contiene agentes biológicos hemostáticos de la invención que contiene 400 mg de PEG3000 y 200 mg de CMC, el tiempo de la gotita de agua para absorberse en la muestra fue del orden de milisegundos.

5 Los resultados indican humectación más rápida y menos hidrofobicidad de las almohadillas que contienen agentes biológicos hemostáticos. que contienen PEG y CMC.

10 Aunque los ejemplos anteriores demuestran ciertas realizaciones de la invención, no se deben interpretar como limitativos del alcance de la invención, más bien contribuyen a una descripción completa de la invención.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Reivindicaciones

1. Una almohadilla hemostática que comprende:

- 5 a) un material de andamiaje bioabsorbible;
 b) polvo de trombina liofilizado,
 c) polvo de fibrinógeno liofilizado, y
 d) polvo aglutinante fundible,

10 en donde dichos polvos de trombina y fibrinógeno están dispuestos en el material de andamiaje bioabsorbible y el polvo aglutinante fundible enlaza el polvo de trombina el polvo de fibrinógeno con el material de andamiaje bioabsorbible, y en donde el aglutinante fundible es polímero de polietilenglicol que tiene un peso molecular medio de 1000 a 20.000 Daltons.

15 2. La almohadilla hemostática de acuerdo con la reivindicación 1 en la que el aglutinante fundible no envuelve completamente el polvo de trombina liofilizada y/o el fibrinógeno liofilizado.

20 3. La almohadilla hemostática de acuerdo con la reivindicación 2 en la que el aglutinante fundible es polímero de polietilenglicol que tiene un peso molecular medio de 3000 a 8000 Daltons.

25 4. La almohadilla hemostática de acuerdo con la reivindicación 1 en la que las partículas de aglutinante tienen un número de tamaño de partícula medio de aproximadamente 45 micras.

30 5. La almohadilla hemostática de acuerdo con la reivindicación 1 en la que la fracción de peso del polvo de trombina liofilizada es de aproximadamente el 10-15%, el polvo de fibrinógeno liofilizado es de aproximadamente el 55-85%, y el polietilenglicol es del 2-20%, cada uno en relación al peso total de polvos de trombina, fibrinógeno y polietilenglicol en la almohadilla hemostática.

35 6. La almohadilla hemostática de acuerdo con la reivindicación 1 en la que el material de andamiaje bioabsorbible es un material bioabsorbible sintético o natural tejido o no tejido o combinaciones de los mismos.

40 7. La almohadilla hemostática de acuerdo con la reivindicación 1 en la que el material de andamiaje bioabsorbible es un material bi-capa que comprende una capa de fibras de Poliglactina 910 no tejidas que se han punzonado en una capa de celulosa regenerada oxidada de punto, en la que dichos polvos están dispuestos solamente en dicha capa de fibras de Poliglactina 910 no tejidas.

45 8. La almohadilla hemostática de acuerdo con la reivindicación 1 en la que dicho polvo de trombina liofilizada y dicho polvo de fibrinógeno liofilizado se enlazan con el material de andamiaje bioabsorbible elevando la temperatura de la almohadilla hemostática a un punto por encima del punto de fusión del polímero de polietilenglicol.

50 9. La almohadilla hemostática de acuerdo con la reivindicación 1 en donde dicha almohadilla hemostática contiene 200-600 IU de trombina por pulgada cuadrada de dicha almohadilla hemostática, como se mide cuando se aplica, contiene fibrinógeno en la cantidad de 3-12 mg por cm^1 (20-80 mg por pulgada cuadrada) de dicha almohadilla hemostática como se mide cuando se aplica, y el polietilenglicol está presente en la cantidad de 6-25 mg por pulgada cuadrada de dicha almohadilla hemostática.

55 10. La almohadilla hemostática de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende además polvo de CMC, opcionalmente donde dicho polvo de CMC tiene un número de tamaño de partícula medio de aproximadamente 20 micras y en donde dicho polvo de CMC está presente en una cantidad de 2,3-3,1 mg por cm^2 (15-20 mg por pulgada cuadrada) de dicha almohadilla hemostática.

11. Un método para fabricar una almohadilla hemostática que comprende los pasos de:

- 55 a) formar una suspensión no acuosa de polvo de trombina liofilizada, polvo de fibrinógeno liofilizado, polvo de polietilenglicol;
 (b) recubrir la suspensión sobre un andamiaje hecho de un material bioabsorbible,
 (c) permitir que el fluido se evapore con el andamiaje llevando una parte del polvo de trombina, el polvo de fibrinógeno, y el polvo de polietilenglicol;
 60 (d) calentar el andamiaje a una temperatura que exceda el punto de fusión del polvo de polietilenglicol;
 (e) enfriar el andamiaje a una temperatura por debajo del punto de fusión del polietilenglicol para formar la almohadilla hemostática;
 en donde el polvo de polietilenglicol tiene un peso molecular medio de 1000 a 20.000 Daltons, y en donde los pasos (d) y (e) dan como resultado la fusión de dicho polietilenglicol y la solidificación de dicho polietilenglicol para enlazar dicho polvos de trombina liofilizada y dicho polvo de fibrinógeno liofilizado en dicho andamiaje.
 65

5 **12.** El método de acuerdo con la reivindicación 11 en donde el polvo de polietilenglicol tiene un peso molecular medio de 3000 a 8000 Daltons y el material de andamiaje bioabsorbible es un material bioabsorbible sintético o natural tejido o no tejido o combinaciones de los mismos y dichos polvos de polietilenglicol tienen un número de tamaño de partícula medio de aproximadamente 45 micras.

10 **13.** El método de acuerdo con la reivindicación 11 en donde el material de andamiaje bioabsorbible es un material bi-capa que comprende una capa de fibras de Poliglactina 910 no tejidas que se han punzonado en una capa de celulosa regenerada oxidada de punto y en donde dichos polvos están dispuestos solo en dicha capa de fibras de Poliglactina 910 no tejida.

15 **14.** El método de acuerdo con la reivindicación 11 en donde dicha suspensión no acuosa comprende HFE-7000 y dicho paso de recubrir la suspensión sobre dicho andamiaje se realiza sumergiendo el andamiaje en la suspensión o pulverizando la suspensión sobre el andamiaje.

20 **15.** Fibrinógeno para su uso en un método para proporcionar tratamiento hemostático o sellado de tejido a un sitio de herida en donde el fibrinógeno está en la forma de una almohadilla hemostática de acuerdo con la reivindicación 1 y en donde el método comprende aplicar la almohadilla hemostática sobre el sitio de la herida.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

FIG. 1

Grafico de Valores Individuales de Fuerza de Pelado de Tejido (N/m)
Datos compilados del 16 de Mayo del 2011

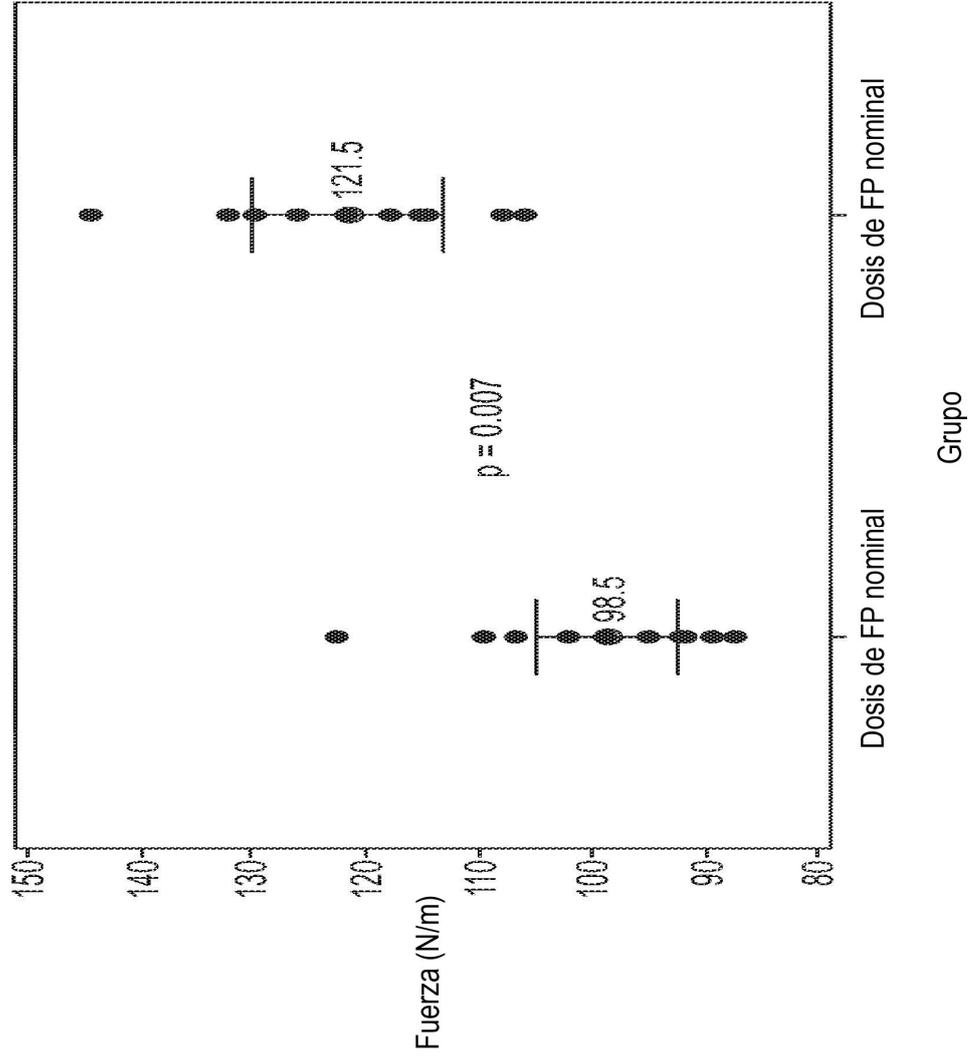


FIG. 2

Gráfico de Valores Individuales de Picos de Fugas de Presión (mmHg)
95% CI para la Media

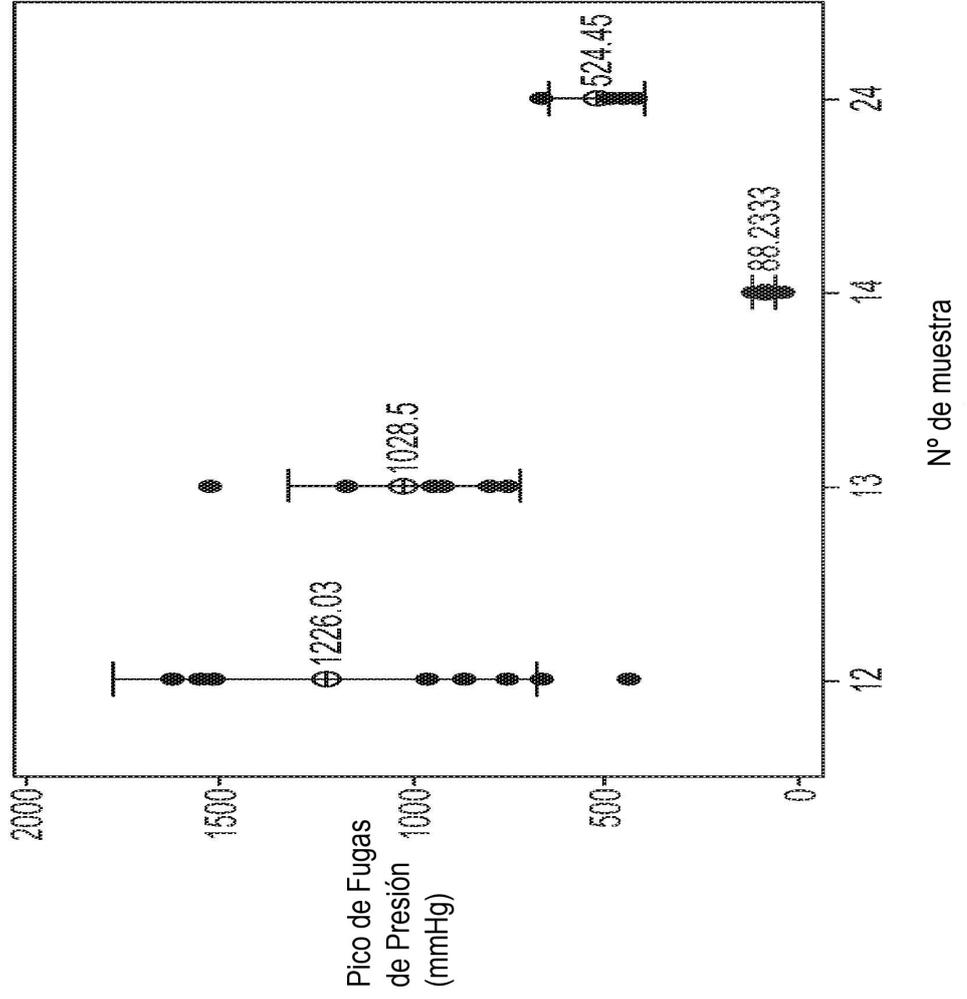


FIG. 3

Gráfico de Valores Individuales de Fuerza de Pelado (N/m)

