

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 668 503**

51 Int. Cl.:

**A61L 31/04** (2006.01)

**A61L 31/14** (2006.01)

**A61L 31/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.03.2012 PCT/KR2012/001689**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.09.2013 WO13129719**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.03.2012 E 12869906 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.03.2018 EP 2821087**

54 Título: **Composición de polímero anti-adhesión capaz de soportar un factor de crecimiento**

30 Prioridad:

**28.02.2012 KR 20120020554**

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

**18.05.2018**

73 Titular/es:

**CG BIO CO., LTD. (100.0%)  
223-23 Sangdaewon-dong Jungwon-gu  
Seongnam-si, Gyeonggi-do 462-807, KR**

72 Inventor/es:

**KIM, JUNG JU;  
SO, JUNG WON;  
RYU, HYUN SEUNG y  
SEO, JUN HYUK**

74 Agente/Representante:

**VEIGA SERRANO, Mikel**

ES 2 668 503 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

Composición de polímero anti-adhesión capaz de soportar un factor de crecimiento

5 **Sector de la técnica**

La presente invención se refiere a una composición de polímero anti-adhesión capaz de soportar un factor de crecimiento, y más particularmente a una composición de polímero anti-adhesión capaz de soportar un factor de crecimiento, que presenta eficazmente función anti-adhesiva y, al mismo tiempo, tiene una excelente propiedad adhesiva de manera que es capaz de adherirse fácilmente y continuamente a un sitio de herida, tiene propiedades antibacterianas y hemostáticas, y está compuesta por una formulación inyectable adecuada para su uso en cirugía mínimamente invasiva, cirugía laparoscópica o similares.

15 **Estado de la técnica**

Como se usa en el presente documento, el término "adhesión" se refiere a un fenómeno en el que la sangre sale y coagula durante la cicatrización de una herida producida por inflamación, fricción, cirugía o similares y se adhiere al órgano o tejido circundante y las células penetran en la sangre adherida para producir una excesiva cantidad de tejido fibroso. Alternativamente, el término se refiere a un fenómeno en el que la sangre sale y coagula durante la cicatrización de manera que los órganos o tejidos circundantes, que tienen que separarse entre sí, se adhieren entre sí. Además, el nivel de fibrina alrededor de un sitio quirúrgico aumenta por una reacción inflamatoria que se produce en el sitio quirúrgico, y en este caso, cuando normalmente se produce la fibrinólisis, no se produce adhesión, pero cuando la fibrinólisis se inhibe por cualquier causa, se produce adhesión.

Este fenómeno de adhesión produce graves problemas, particularmente después de la cirugía. El fenómeno de adhesión puede generalmente producirse después de todos los tipos de cirugía, y por este motivo, órganos o tejidos alrededor del sitio quirúrgico pueden adherirse entre sí durante la recuperación posquirúrgica, causando graves secuelas clínicas. Generalmente, la adhesión se produce a una frecuencia de aproximadamente el 67-93 % después de la laparotomía, y en algunos casos, la adhesión se degrada espontáneamente, pero en la mayoría de los casos, la adhesión sigue incluso después de la cicatrización, causando diversas secuelas. Las secuelas que se producen por adhesión después de la cirugía laparoscópica incluyen disfunciones intestinales, obstrucción intestinal, dolor crónico y similares, y particularmente, se sabe que la adhesión después de la cirugía obstétrica produce esterilidad (Eur. J. Surg. 1997, Suplemento 577, 32-39). Un agente anti-adhesivo sirve para prevenir que ocurra la adhesión entre tejidos después de la cirugía para así eliminar la posibilidad de manifestación de enfermedades secundarias, y así es un producto médico muy importante que contribuye directamente a la seguridad del paciente.

Con el fin de prevenir esta adhesión, se han desarrollado y usado los siguientes métodos: 1) un método de minimización de las heridas durante la cirugía; 2) un método de uso de un agente antiinflamatorio o activación de tejido con un activador tisular del plasminógeno con el fin de prevenir la fibrogénesis; y 3) un método que usa una barrera anti-adhesión.

Entre estos métodos, el uso de la barrera anti-adhesión previene que se produzca la adhesión entre tejidos adyacentes durante la cicatrización de una herida de tejido. Esta barrera anti-adhesión debe prevenir la adhesión de una herida de tejido al tejido adyacente durante la cicatrización de la herida y debe ser degradada naturalmente o eliminada por absorción después de un periodo de tiempo específico, y cualquiera de un material que se usa en la barrera anti-adhesión o un producto de degradación del mismo debe ser inocuo para el cuerpo humano.

Los agentes anti-adhesión actualmente comercialmente disponibles incluyen polietilenglicol-polipropilenglicol (PEG-PPG), poli(óxido de etileno) (PEO), poli(ácido láctico) (PLA), ácido hialurónico, carboximetilcelulosa (CMC), fibrinógeno, solución de cloruro de calcio, dextrano, un compuesto de icodextrina, Teflon™, celulosa regenerada oxidada, éster de poliglicano, Poloxamer y similares.

Entre tales agentes anti-adhesión, la celulosa o el dextrano es un polímero natural, pero no es un componente derivado de un cuerpo vivo, y así se sabe que produce una reacción de cuerpos extraños cuando se inserta *in vivo*. Además, se sabe que las enzimas que degradan tales materiales no están presentes *in vivo* y no ocurre la degradación de tales materiales *in vivo* y, por este motivo, tales materiales deben ser operados de manera que puedan ser oxidados o hidrolizados. Mientras tanto, está siendo usada una solución anti-adhesión basada en ácido hialurónico, pero la función anti-adhesión de la misma es limitada, debido a que el ácido hialurónico tiene una semivida *in vivo* de solo 3 días y así es fácilmente degradado. Entre los polímeros sintéticos, el poli(ácido láctico) (PLA) tiene una desventaja ya que puede producir una reacción inflamatoria y una reacción de cuerpos extraños, debido a que un producto de degradación del mismo es ácido en la naturaleza.

Además, los materiales usados como agentes anti-adhesión incluyen un copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG. El polímero sintético el copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG es un polímero producido por BASF y es conocido como un material sensible a la temperatura que está presente en solución a baja temperatura, pero gelifica a alta temperatura (patentes de EE.UU. N.º 4.188.373, 4.478.822 y 4.474.751). El copolímero de bloque de PEG-PPG-

PEG se divide, según la relación de PEG con respecto a PPG, en diversos tipos. Específicamente, un copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG conocido como Poloxamer 407 tiene una masa molecular de polioxipropileno (PPG) de 4.000 g/mol y un contenido de polioxietileno (PEG) del 70 %. Además, un polímero conocido como Poloxamer 188 tiene una masa molecular de polioxipropileno (PPG) de 1.800 g/mol y un contenido de polioxietileno (PEG) del 80 %.

5 La relación entre el resto de PEG y el resto de PPG, la masa molecular y acidez de los mismos, y aditivos, influyen en las propiedades físicas de la gelatina y el polímero.

Además, las formulaciones anti-adhesión actualmente comercialmente disponibles se dividen en un tipo solución, un tipo película y un tipo gel.

10 Primero, las formulaciones anti-adhesión de tipo solución tienen una desventaja ya que pueden fluir a otros sitios antes de presentar la función anti-adhesión o pueden ser degradadas en una etapa demasiado temprana, y así no presentan suficientemente la función anti-adhesión en muchos casos.

15 Segundo, las formulaciones anti-adhesión de tipo película incluyen Seprafilm (ácido hialurónico-CMC), Medishield (CMC-PEO), INTERCEED™ (celulosa regenerada oxidada), Surgi-Wrap (PLA) y similares, pero se informó que estos productos tenían problemas ya que éstos no se adherían fácilmente a la superficie de órganos internos, o no eran continuamente mantenidos en un sitio de herida aún cuando se adhirieran a los órganos, y ya que son reconocidos como materia extraña por el tejido para aglomerarse entre sí, y así tienen un efecto insuficiente sobre la anti-adhesión de órganos. A pesar de tales desventajas, estas formulaciones pueden seguramente proporcionar una barrera anti-adhesión que es un mecanismo anti-adhesión, y así todavía no se ha informado de un producto fiable capaz de sustituir a estas formulaciones. Tales productos de tipo película se han usado principalmente en cirugía obstétrica o espinal de una forma limitada, y la aplicación de los mismos a cirugía mínimamente invasiva, cirugía laparoscópica y similares, que son tendencias quirúrgicas actuales, está enormemente limitada. Así, con el fin de garantizar la función anti-adhesión, existe una necesidad de un agente anti-adhesión que tenga una excelente propiedad adhesiva de manera que sea capaz de adherirse fácilmente y continuamente a un sitio de herida producido por cirugía, y tenga una formulación inyectable adecuada para su uso en cirugía mínimamente invasiva, cirugía laparoscópica y similares, que son tendencias quirúrgicas actuales.

30 Finalmente, las formulaciones anti-adhesión de tipo gel son formulaciones inyectables que se han desarrollado con el fin de vencer las desventajas de las formulaciones de tipo película y de tipo solución. Las formulaciones anti-adhesión de tipo gel actualmente comercialmente disponibles incluyen Hyskon™ basado en dextrano 70, Flowgel™ basado en un copolímero de PEG-PPG-PEG, ADCON basado en gelatina, INTERGEL basado en ácido hialurónico, y GUARDIX-sol basado en ácido hialurónico-carboximetilcelulosa (CMC). El tiempo requerido para la cicatrización varía dependiendo del grado de la herida, pero es generalmente aproximadamente 7 días. Para garantizar efectos anti-adhesión, las formulaciones anti-adhesión deben ayudar en la regeneración normal de un sitio de herida durante aproximadamente 7 días, y deben prevenir la formación de tejido adyacente a la herida y tejido fibroso durante aproximadamente 7 días, después lo cual deben ser naturalmente degradadas, absorbidas y eliminadas. Sin embargo, las formulaciones anti-adhesión de tipo gel se disuelven y son liberadas antes de la cicatrización y quedan en el tejido cicatricial durante una cantidad de tiempo insuficiente, y así no presentan efectos anti-adhesión suficientes. Además, los no biomateriales tales como carboximetilcelulosa y dextrano tienen el problema de causar una reacción de cuerpos extraños *in vivo*.

45 La patente coreana N.º 1082935 (7 de noviembre de 2011) se refiere a un método de preparación de una película de formulación de liberación sostenida porosa para prevenir la adhesión de tejido y desvela disolver polilactida en un disolvente orgánico tal como alcohol metílico, alcohol etílico o acetona, preparar una película porosa a partir de la solución y aplicar un antibiótico y un agente antiinflamatorio a los microporos formados sobre la superficie y dentro de la película. Sin embargo, la polilactida, un polímero sintético conocido como ácido poliláctico (PLA), tiene desventajas ya que produce un entorno ácido peligroso para el cuerpo humano cuando se degrada, debido a que un producto de degradación del mismo es ácido en la naturaleza, y ya que tiene baja biocompatibilidad. Además, una película preparada a partir del mismo tiene un problema ya que, debido a que la polilactida se disuelve en disolventes orgánicos tóxicos tales como alcohol metílico, alcohol etílico y acetona, es altamente probable que estos disolventes orgánicos muestren toxicidad *in vivo* cuando no sean completamente eliminados durante el proceso de preparación.

55 La patente coreana N.º 1070358 (28 de septiembre de 2011) desvela una película anti-adhesión no tejida médica hecha de una fibra corta basada en celulosa que es gelificada. Esta patente tiene un inconveniente ya que, debido a que se usa una celulosa natural o material de celulosa reciclada, que es un polímero natural pero no es un biomaterial, puede producir una reacción de cuerpos extraños cuando se inserta *in vivo*. Además, hay una desventaja ya que, debido a que las enzimas que degradan los materiales basados en celulosa no están presentes *in vivo*, el material basado en celulosa no se degrada completamente *in vivo* y no se libera del cuerpo en forma de productos de degradación.

65 La patente de EE.UU. N.º 6.294.202 desvela una composición anti-adhesión en forma de gel insoluble en agua, membrana, espuma o fibra, que se produce combinando polisacáridos aniónicos tales como ácido hialurónico (HA) o carboximetilcelulosa (CMC) con un polímero hidrófobo de poliglicolida. Sin embargo, la carboximetilcelulosa no es un

biomaterial, y así puede producir una reacción de cuerpos extraños o una reacción inflamatoria *in vivo*. Mientras tanto, el ácido poliglicólico (PGA) puede liberar ácido glicólico como producto de degradación del mismo reduciendo la acidez circundante a un pH ácido que irrita el tejido circundante para producir una reacción inflamatoria. Además, cuando la composición se prepara en forma de una membrana, es dura y tiende a ser frágil en un estado seco y se enrolla tras el contacto con agua. Cuando la composición se prepara en forma de una membrana, espuma o fibra, se pliega *in vivo* sin ser fijada o no se adhiere a una porción que requiere anti-adhesión, que indica que la composición es incómoda de manipular.

La patente de EE.UU. N.º 6.280.745 B1 desvela una composición para la administración de fármacos, que se usa con el fin para prevenir adhesiones. La composición comprende al menos un polímero constitutivo seleccionado del grupo que consiste en copolímeros de bloque de polioxialquileno, incluye además un polímero modificador seleccionado del grupo que consiste en éteres de celulosa, carboximetilcelulosa de sodio y poliácridatos, incluye además un co-tensioactivo que comprende al menos un jabón de ácido graso y seleccionado de entre oleato de sodio, laurato de sodio, caprato de sodio o caprilato de sodio, e incluye además un agente bioactivo seleccionado de diversos fármacos que incluyen antibióticos y agentes antiinflamatorios. Entre los componentes de la composición, la carboximetilcelulosa de sodio (CMC-Na) no es un biomaterial, se prepara por el procesamiento de celulosa obtenida de plantas y se sabe que es capaz de producir una reacción de cuerpos extraños *in vivo*, y otros polímeros modificadores que incluyen poliácridatos no son biomateriales, y así tienen baja biocompatibilidad y pueden producir una reacción de cuerpos extraños *in vivo*. El documento US 5.126.141 A desvela una composición de polímero anti-adhesión que comprende 15-30 % de Poloxamer con peso molecular de 15000, 0,2-2,5 % de quitosano y gelatina. Por consiguiente, todavía existe la necesidad de un agente anti-adhesión que pueda presentar eficazmente función anti-adhesión y, al mismo tiempo, tenga una propiedad adhesiva excelente de manera que sea capaz de adherirse fácilmente y continuamente a un sitio de herida que se produce durante la cirugía, y esté compuesto por una formulación inyectable adecuada para su uso en cirugía mínimamente invasiva, cirugía laparoscópica y similares, que son tendencias quirúrgicas actuales.

### Objeto de la invención

#### Problema técnico

La presente invención se ha hecho con el fin de resolver los problemas anteriormente descritos que se producen en el estado de la técnica, y es un objeto de la presente invención proporcionar una composición de polímero anti-adhesión que presente eficazmente función anti-adhesión y, al mismo tiempo, tenga una excelente propiedad adhesiva de manera que sea capaz de adherirse fácilmente y continuamente a un sitio de herida que se produce durante la cirugía, tenga propiedades antibacterianas o hemostáticas, y sea adecuada para su uso en cirugía mínimamente invasiva, cirugía laparoscópica y similares, que son tendencias quirúrgicas actuales.

Es otro objeto de la presente invención una composición de polímero anti-adhesión que tiene excelente biocompatibilidad para inhibir reacciones inflamatorias o reacciones de cuerpos extraños *in vivo* al mayor grado posible.

#### Solución técnica

Con el fin de lograr los objetivos anteriores, la presente invención proporciona una composición de polímero anti-adhesión capaz de soportar un factor de crecimiento, comprendiendo la composición: 24-50 % en peso de un copolímero de bloque de polietilenglicol-polipropilenglicol-polietilenglicol (PEG-PPG-PEG) que tiene un contenido de polietilenglicol (PEG) del 65-85 % en peso y un peso molecular de 6.000-20.000 Da; 0,03-5 % en peso de gelatina; y 3 % en peso de quitosano; y agua destilada.

#### Efectos ventajosos

Según la presente invención, es posible proporcionar una composición de polímero anti-adhesión que comprenda un biopolímero tal como quitosano o gelatina, y así presente eficazmente función anti-adhesión y, al mismo tiempo, tenga una excelente propiedad adhesiva de manera que sea capaz de adherirse fácilmente y continuamente a un sitio de herida que se produce durante la cirugía, tenga propiedades antibacterianas o hemostáticas, y esté compuesto por una formulación inyectable adecuada para su uso en cirugía mínimamente invasiva, cirugía laparoscópica y similares, que son tendencias quirúrgicas actuales.

Además, según la presente invención, es posible proporcionar una composición de polímero anti-adhesión que comprende un biopolímero, y así tiene excelente biocompatibilidad para inhibir reacciones inflamatorias o reacciones de cuerpos extraños *in vivo* al mayor grado posible.

#### Descripción de las figuras

La FIG. 1 muestra los resultados de evaluar la actividad antibacteriana de una composición de polímero de la presente invención en comparación con una composición de polímero del estado de la técnica.

**Descripción detallada de la invención**

En lo sucesivo, la presente invención se describirá en más detalle.

- 5 Una composición de polímero anti-adhesión según la presente invención se inyecta en solución y se aplica a un sitio de herida producido por una operación quirúrgica, cirugía laparoscópica o cirugía endoscópica. La composición aplicada es gelificada por la temperatura corporal, funcionando así para inhibir la adhesión del sitio de herida.
- 10 El copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG que se usa en la presente invención puede ser, por ejemplo, Pluronic™ o Poloxamer™, que está comercialmente disponible de BASF (Alemania). Usando la propiedad de sensibilidad a la temperatura del copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG inocua para el cuerpo humano, es posible preparar una composición de polímero anti-adhesión que sea conveniente de usar y tenga un efecto mejorado para prevenir la adhesión.
- 15 Particularmente, el copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG que se usa en la presente invención está preferentemente compuesto de dos tipos de copolímeros de bloque de PEG-PPG-PEG que tienen diferentes contenidos de PEG, y en este caso, el contenido de cada uno de los copolímeros de bloque en la composición está preferentemente en el intervalo del 12-25 % en peso.
- 20 El contenido de polioxietileno (PEG) en el copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG que se usa en la presente invención es un factor importante que determina la hidrofilia de la formulación, y así si el contenido de polioxietileno (PEG) es demasiado bajo, será difícil formar la formulación. Por este motivo, el copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG que se usa en la presente invención tiene un contenido de polioxietileno (PEG) del 65-85 % en peso, y más preferentemente del 68-82 % en peso.
- 25 Además, la composición de polímero de la presente invención puede comprender, si fuera necesario, además aproximadamente el 5-25 % en peso de un estabilizador de fases tal como glicerol con el fin de suprimir la separación de fases de la composición de polímero.
- 30 El quitosano y la gelatina que se añaden a la composición de la presente invención son biopolímeros y se unen al copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG por un enlace de hidrógeno entre iones  $O^{2-} \cdots H^+$  y  $N^3 \cdots H^+$  y/o un enlace iónico entre grupos funcionales  $NH_3^+ \cdots OH^-$ . Tales biopolímeros sirven para aumentar la capacidad de la composición de polímero para adherirse a un sitio de herida para potenciar el efecto para prevenir la adhesión del sitio de herida, fijando así la composición al sitio de herida y previniendo que la composición se mueva a otros sitios.
- 35 La gelatina tiene una fuerte propiedad de absorber agua para hincharse. Se sabe generalmente que la superficie intestinal lleva una carga negativa, mientras que la gelatina que es un polímero de adherencia a la superficie intestinal que pertenece a un grupo catiónico generalmente lleva una carga positiva. Así, se producen enlaces electrostáticos entre la superficie intestinal y la gelatina para mantener la adhesión de la gelatina a la superficie intestinal, que indica que la gelatina tiene excelente adhesión a la superficie intestinal, es decir, una excelente propiedad bioadhesiva. Además, se sabe que la gelatina aumenta la presión osmótica de un sitio de herida y promueve la activación de plaquetas (TISSUE ENGINEERING, Volumen 11, Número 7/8, 2005), y así la composición de polímero inventiva que comprende gelatina también tiene una propiedad hemostática que promueve la coagulación de la sangre.
- 40 El quitosano, un polímero que pertenece a un grupo catiónico entre los polímeros de hidrogel que se adhieren al intestino, generalmente lleva una carga positiva, y así puede formar enlaces electrostáticos con la superficie intestinal. Por tanto, según una teoría electrónica sobre la adhesión a la superficie intestinal, el quitosano puede adherirse a la superficie del intestino mientras que siga sobre la superficie intestinal. Así, el quitosano que se usa en la presente invención ayuda en la adhesión de la gelatina a la superficie intestinal para potenciar la adhesión de la composición a la superficie intestinal. Además, también se sabe que el quitosano presenta un efecto antibacteriano debido a grupos funcionales  $-NH_2$  (J. Ocul. Pharmacol. Ther. 16 (2000) 261-270) (J. Appl. Polym. Sci. 79 (2001) 1324-1335), y así la composición de polímero inventiva que comprende quitosano también presenta excelentes propiedades antibacterianas.
- 45 Además, el factor de crecimiento puede añadirse a la composición de polímero anti-adhesión de la presente invención durante la preparación de la composición o antes de la aplicación de la composición a un sitio de herida. Esta composición de polímero anti-adhesión forma una película por la temperatura corporal para prevenir la adhesión en un sitio de herida y gelifica para liberar el factor de crecimiento.
- 50 Un método de aplicación de la composición de polímero anti-adhesión según la presente invención comprende las etapas de: (1) inyectar la composición de polímero en solución a un sitio de herida durante o después de la cirugía; (2) fijar la composición de polímero al sitio de herida por el biopolímero contenido en la composición de polímero; (3) gelificar la composición de polímero en solución mientras se aumenta la temperatura de la composición por la temperatura corporal; y (4) degradar y liberar la composición por enzimas *in vivo* y metabolismo.
- 55
- 60
- 65

Debido a la sensibilidad a la temperatura del copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG químicamente unido para tener una composición adecuada, la composición de polímero anti-adhesión de la presente invención está presente en solución a temperatura ambiente por el copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG, y cuando se aplica *in vivo*, gelifica a una temperatura de 37 °C para actuar de barrera que previene la adhesión de un sitio de tejido cicatricial.

5 Debido a que la composición está presente en solución a temperatura ambiente, puede inyectarse en un sitio de herida, y gelifica después de la aplicación de manera que se concentra localmente en el sitio de herida, potenciando así un efecto barrera contra la adhesión.

10 Con el fin de que la composición de polímero anti-adhesión de la presente invención presente propiedades de gelificación preferidas a la temperatura corporal, la composición se formula según la reivindicación 1. Particularmente, preferentemente se usan dos tipos de copolímeros de bloque de PEG-PPG-PEG que tienen diferentes contenidos de PEG después de mezclarlos en agua destilada estéril en una cantidad del 12-25 % en peso para cada copolímero y estabilizar la mezcla por enlaces químicos. Si el contenido del copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG en la composición es demasiado bajo, será difícil formar un gel incluso cuando la temperatura  
15 aumente, y si el contenido es demasiado alto, la composición gelificará incluso a baja temperatura de manera que será incómodo de usar. Así, se requiere que el contenido del copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG sea controlado a un nivel adecuado. Si el contenido de quitosano y gelatina es demasiado bajo, será difícil esperar los efectos de adición de estos componentes, y si el contenido de cada uno de estos componentes es superior al 5 % en peso, una porción de estos componentes puede seguir sin disolver en la composición de polímero, y el quitosano y la gelatina en la composición pueden separarse cuando la composición se almacene durante un largo periodo de tiempo (aproximadamente 3 meses), sugiriendo que un contenido de quitosano o gelatina superior al 5 % en peso no es preferible en términos de la estabilidad a largo plazo de la composición, tales composiciones no forman parte de la invención.

25 A medida que aumenta el peso molecular del copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG, aumenta la temperatura de gelificación del mismo y disminuye la miscibilidad del mismo en la preparación de la composición. Así, el copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG que se usa en la presente invención tiene un peso molecular de 6.000-20.000 Da. El motivo es debido a que la temperatura de gelificación y miscibilidad del copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG están influidas por el peso molecular del mismo. En vista de este hecho, se selecciona un copolímero de bloque el  
30 copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG que tiene un peso molecular adecuado con el fin de optimizar la formulación de la composición de polímero anti-adhesión.

La composición de polímero anti-adhesión de la presente invención puede comprender un factor de crecimiento. El factor de crecimiento puede añadirse a la composición durante la preparación de la composición o inyectarse en la  
35 composición por una jeringa *in situ* antes de la aplicación de la composición a un sitio de herida. Ejemplos de factor de crecimiento que pueden usarse en la presente invención incluyen factor de crecimiento epidérmico (EGF, beta-urogastrona), factor de crecimiento de tipo EGF que se une a heparina (HB-EGF), factor de crecimiento transformante- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y similares. Este crecimiento se usa preferentemente en una cantidad de 1  $\mu$ g/ml a 1 mg/ml basándose en estudios previos en animales en vista de  
40 mantener la homeostasis y reducir los efectos secundarios.

### **Ejemplos**

45 En lo sucesivo, la presente invención se describirá en detalle con referencia a ejemplos. Debe entenderse, sin embargo, que estos ejemplos son para fines ilustrativos solo y no pretenden limitar el alcance de la presente invención.

#### **Ejemplos 1 a 9**

50 Se añadieron 3 % en peso de quitosano, 15 % en peso de Poloxamer 188 (copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG) y 16 % en peso de Poloxamer 407 (copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG) a agua destilada estéril y se disolvieron completamente agitándolos usando un agitador físico a 400-500 rpm durante aproximadamente 2 horas en un proceso en frío a 5~8 °C. A la mezcla resultante de los polímeros de bloque de PEG-PPG-PEG y quitosano se añadieron 0,03-5 % en peso de gelatina y 10 % en peso de glicerol, y entonces la mezcla se agitó durante 1 hora,  
55 preparando así las composiciones de polímero anti-adhesión.

#### **Ejemplo comparativo**

60 Se preparó una composición de polímero anti-adhesión del mismo modo que se describe en los Ejemplos 1 a 9, excepto que no se añadió gelatina.

#### **Medición de viscosidad**

65 Se midieron las viscosidades a temperaturas variables de las composiciones de polímero preparadas en los Ejemplos 1 a 9 y el ejemplo comparativo usando un viscosímetro de Brookfield, y los resultados de la medición se muestran en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1: Cambios en la viscosidad (cP) con cambios en el contenido de gelatina y la temperatura de la composición de polímero

	Contenido de gelatina	Viscosidad (cP) de la composición de polímero			
		20 °C	25 °C	30 °C	35 °C
Ejemplo 1	0,03 % en peso	2280	2340	17040	17120
Ejemplo 2	0,1 % en peso	2930	3140	18840	19300
Ejemplo 3	0,5 % en peso	3460	3550	21300	21500
Ejemplo 4	1 % en peso	3620	3700	25290	25640
Ejemplo 5	1,5 % en peso	3770	3820	28330	28990
Ejemplo 6	2 % en peso	3860	4050	35460	35760
Ejemplo 7	3 % en peso	4150	5216	48210	51260
Ejemplo 8	4 % en peso	5500	7840	56730	59340
Ejemplo 9	5 % en peso	7100	9567	64940	67850
Ejemplo comparativo	-	1980	2000	9050	10203

Como puede apreciarse de los resultados en la Tabla 1 anterior, a medida que aumentó el contenido de gelatina del 0,03 % en peso al 5 % en peso, aumentó la viscosidad a 35 °C 3,96 veces, sugiriendo que la composición tiene excelente adhesión a los intestinos cuando se aplica a un sitio de herida. Los valores de viscosidad de la composición de los ejemplos son aproximadamente 1,7-6,6 veces superiores a aquellos de la composición del ejemplo comparativo, que indica que la composición del ejemplo comparativo tiene baja adhesión a los intestinos en comparación con las composiciones de los ejemplos.

### **Medición de la tensión**

Debido a que la tensión también es un índice para evaluar una propiedad adhesiva, se midió la tensión del polímero del Ejemplo 7 en la Tabla 1 y se comparó con la de agua destilada estéril y Poloxamer.

Específicamente, se aplicó 1 ml de una muestra de composición de polímero y se dispuso en una estufa de incubación a 37 °C durante aproximadamente 10 minutos de manera que gelificara. Entonces, se fijó un portaobjetos que tenía la muestra aplicada al mismo a un medidor universal, y se dejó que la composición de polímero se adhiriera a la superficie del adaptador, después de que se midiera la máxima tensión cuando la composición de polímero se separó del adaptador después de la adhesión. Los resultados de la medición se muestran en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2: Tensiones máximas de agua destilada, Poloxamer y la composición de polímero de la presente invención

Muestra	Tensión máxima (MPa)
Agua destilada estéril	0,01
Control de Poloxamer	0,01
Ejemplo 7	0,03

Como puede apreciarse de los resultados en la Tabla 2 anterior, la tensión (fuerza de atracción) del agua destilada estéril o Poloxamer fue solo 0,01 MPa, pero la composición de polímero del Ejemplo 7 de la presente invención mostró una tensión máxima de 0,03 MPa, que fue tres veces superior a la del agua destilada estéril o Poloxamer. Esto sugiere que, cuando la composición de polímero de la presente invención se aplica a un sitio de herida, puede disminuir la fluidez de la misma por un fluido tal como la corriente sanguínea, y la composición puede seguir estando localmente en el sitio de herida, que indica que la composición tiene una alta propiedad adhesiva.

### **Prueba para actividad antibacteriana**

Se sabe que cuando una composición de polímero anti-adhesión se aplica durante o después de la cirugía, es probable que se infecte por superbacterias con resistencia a antibióticos tales como *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (MRSA) en el campo quirúrgico. Por este motivo, se evaluó la actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (MRSA).

Específicamente, se mezclaron 20 ml de cada uno de una dilución de bacterias MRSA en medio TSB y se mezcló medio TSB con 4 g de cada una de la muestra de composición de polímero (A) del Ejemplo 7 de la Tabla 1 y un producto de gel anti-adhesión comercial (B). Entonces, se añadieron gota a gota 100 µl de la mezcla de cada una de las composiciones de polímero anti-adhesión y las bacterias sobre el centro de un medio de placa y se extendieron uniformemente en todo el medio usando una espátula estéril. A continuación, las bacterias se cultivaron a 35 °C durante 24 horas, y se analizó la distribución de las bacterias. Los resultados del análisis se muestran en la FIG. 1.

A partir de los resultados mostrados por el gráfico en la FIG. 1, la composición de polímero anti-adhesión según la presente invención mostró una actividad antibacteriana de aproximadamente el 81 %, que es aproximadamente 1,79 veces superior a la actividad antibacteriana del gel anti-adhesión comercial (45,1 %). Así, cuando la composición de polímero de la presente invención se aplica a un paciente durante o después de la cirugía, puede destruir el 81 % de

las superbacterias resistentes a antibiótico (que es probable que infecten al paciente en el campo quirúrgico) en el plazo de 24 horas en la etapa inicial, y así pueden reducirse riesgos mortales tales como complicaciones producidas por la infección.

#### 5 **Prueba para propiedades hemostáticas**

Se analizó el tiempo de la coagulación de la sangre por cada una de las composiciones de polímero preparadas en los ejemplos de la presente invención usando un kit de tiempo tromboplastina parcial activado. Específicamente, se dispusieron 0,1 ml de plasma en un tubo de ensayo y se incubaron a 37 °C durante 2 minutos, y entonces se añadieron al mismo 0,1 ml de reactivo de aPPT. La mezcla se incubó a 37 °C durante 3 minutos. Entonces, se añadieron 0,1 ml de la composición de polímero de la presente invención a la mezcla, y se midió el tiempo de coagulación durante 10 minutos.

Tabla 3: Evaluación de las propiedades hemostáticas de las composiciones de polímero de la presente invención

	Tiempo de coagulación (min)
Ejemplo 3	6
Ejemplo 4	3,5
Ejemplo 5	2,6
Ejemplo 6	2
Ejemplo 7	1,2
Ejemplo comparativo	Sin coagulación

A partir de los resultados en la Tabla 3 anterior, puede observarse que la composición de polímero inventiva que contiene gelatina causó la coagulación de la sangre en el plazo de 6 minutos, a diferencia de la composición del ejemplo comparativo, y particularmente, el tiempo de coagulación se diferenció dependiendo del contenido de gelatina. Así, puede observarse que la composición de polímero inventiva que contiene gelatina tiene un efecto hemostático.

#### **Prueba para la prevención de la adhesión por la composición de polímero de la presente invención**

Se hirieron artificialmente la superficie del ciego y peritoneo de ratones para producir adhesiones, y se trataron los sitios de herida con las composiciones de polímero de los Ejemplos 5 y 7 de la presente invención. Después de 1 semana, se observaron los efectos de las composiciones sobre la prevención de la adhesión del ciego y peritoneo de ratón. Los resultados se muestran en la Tabla 4 a continuación junto con los resultados para agua destilada estéril, Poloxamer y el ejemplo comparativo para comparación. Se evaluó el grado de adhesión en una escala de seis puntos del siguiente modo: 0 = sin adhesión; 1 = algunas adhesiones focales; 2 = muchas adhesiones focales; 3 = adhesión superficial; 4 = adhesión superficial profunda; 5 = formación de vasos sanguíneos junto con adhesión superficial.

Tabla 4

Muestra	Puntuación de adhesión media
Agua destilada estéril	2,5
Poloxamer	1,9
Ejemplo comparativo	1,3
Ejemplo 4	1,0
Ejemplo 7	0,6

Como puede apreciarse en la Tabla 4 anterior, el grado de adhesión fue aproximadamente 4 veces más bajo en el uso de la composición de polímero del Ejemplo 7 de la presente invención que en el uso de agua destilada estéril. Por tanto, fue 2 veces más baja en el uso de la composición de polímero del Ejemplo 7 que en el uso de la composición del ejemplo comparativo, sugiriendo que la propiedad anti-adhesión de la composición de la presente invención es superior a la de la composición del estado de la técnica.

#### **Ejemplo 10: Medición de la viscosidad de la composición de polímero según el tipo de copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG**

Se midieron las viscosidades de las composiciones de polímero que contenían agua destilada estéril, 3 % en peso de quitosano, 3 % en peso de gelatina y cantidades variables de Poloxamer 188 (copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG) y Poloxamer 407 (copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG) usando un viscosímetro de Brookfield, y los resultados de la medición se muestran en la Tabla 5 a continuación.



Tabla 5: Viscosidad de la composición de polímero según el tipo de copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG

Poloxamer 407: 188	10 °C	20 °C	25 °C	30 °C	35 °C
16:0	3042	9590	21780	43873	48974
16:15	1012	4150	5216	48210	51260
16:17	1278	5583	6245	59735	64146
16:20	2860	7981	18978	64754	65191

5 Como puede apreciarse de los resultados en la Tabla 5 anterior, el valor de viscosidad varió dependiendo del tipo y composición de copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG, y la composición de polímero que contenía quitosano, gelatina y el copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG que consiste en Poloxamer 407 solo gelificó con un rápido aumento en la viscosidad a 20 °C, mientras que la composición que comprendía dos tipos de copolímeros de bloque de PEG-PPG-PEG a una relación del 16 % en peso: 15 % en peso gelificó a aproximadamente 30 °C y mostró un valor de viscosidad inicial más bajo. Así, puede observarse que la composición de polímero anti-adhesión que comprende quitosano, gelatina y un único tipo de copolímero de bloque de PEG-PPG-PEG es algo difícil de inyectar en un sitio de herida, debido a que su valor de viscosidad inicial es alto, mientras que la composición de polímero anti-adhesión que comprende dos tipos de copolímeros de bloque de PEG-PPG-PEG (Poloxamer 407 y Poloxamer 188) es más fácilmente inyectada en un sitio de herida debido a que su valor de viscosidad inicial es bajo, se adhiere más fuertemente al sitio de herida debido a que su valor de viscosidad final es más alto, y es fácil de guardar y usar debido a que tiene una temperatura de gelificación de aproximadamente 30 °C.

10

**Aplicabilidad industrial**

15 Como se ha descrito anteriormente, la composición de polímero anti-adhesión de la presente invención presenta eficazmente función anti-adhesión y, al mismo tiempo, tiene una excelente propiedad adhesiva de manera que es capaz de adherirse fácilmente y continuamente a un sitio de herida, tiene propiedades antibacterianas y hemostáticas, y es para su uso en prevenir eficazmente la adhesión de un sitio de herida durante o después de cirugía mínimamente invasiva o cirugía laparoscópica.

20

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una composición de polímero anti-adhesión capaz de soportar un factor de crecimiento, comprendiendo la composición: 24-50 % en peso de un copolímero de bloque de polietilenglicol-polipropilenglicol-polietilenglicol (PEG-PPG-PEG) que tiene un contenido de polietilenglicol (PEG) del 65-85 % en peso y un peso molecular de 6.000-20.000 Da; 0,03-5 % en peso de gelatina; 3 % en peso de quitosano; y agua destilada.
- 10 2. La composición de polímero anti-adhesión de la reivindicación 1, en la que el copolímero de bloque está compuesto por dos tipos de copolímeros de bloque que tienen diferentes contenidos de PEG.
3. La composición de polímero anti-adhesión de la reivindicación 2, en la que el contenido de cada uno de los copolímeros de bloque en la composición es del 12-25 % en peso.
- 15 4. La composición de polímero anti-adhesión de la reivindicación 1, que comprende además glicerol como estabilizador para suprimir la separación de fases de la composición.
- 20 5. La composición de polímero anti-adhesión de la reivindicación 1, que comprende además al menos un factor de crecimiento seleccionado de entre factor de crecimiento epidérmico (EGF, beta-urogastrona), factor de crecimiento de tipo EGF que se une a heparina (HB-EGF), factor de crecimiento transformante- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ) y factor de crecimiento de fibroblastos (FGF).

FIG. 1

