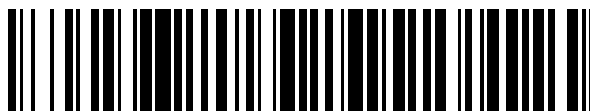


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 694 000**

51 Int. Cl.:

**A61L 17/00** (2006.01)  
**A61K 38/00** (2006.01)  
**A61L 31/00** (2006.01)  
**A61P 7/04** (2006.01)  
**A61L 31/04** (2006.01)  
**A61L 31/14** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.10.2009 E 17152928 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.09.2018 EP 3238749**

54 Título: **Tapón de tejido**

30 Prioridad:

**06.10.2008 JP 2008259860**  
**11.12.2008 JP 2008316133**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la  
traducción de la patente:  
**17.12.2018**

73 Titular/es:

**3-D MATRIX LTD. (100.0%)**  
**3-2-4 Kojimachi, Chiyoda-ku**  
**Tokyo 102-0083, JP**

72 Inventor/es:

**TAKAMURA, KENTARO;**  
**GOJO, SATOSHI y**  
**KOBAYASHI, SATORU**

74 Agente/Representante:

**CAMPELLO ESTEBARANZ, Reyes**

ES 2 694 000 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

Tapón de tejido

## 5 TÉCNICA ANTECEDENTE

La oclusión tisular para evitar la filtración de líquidos corporales (sangre, fluidos tisulares y similares) provocada por daño tisular tiene una gran importancia en situaciones clínicas, incluyendo cirugía. La inhibición eficaz de la filtración de líquidos corporales de sitios dañados está asociada con mejora del soporte vital durante la cirugía y mejora de la calidad de vida (CDV) postquirúrgica.

La hemostasia se considera clínicamente importante por las siguientes razones.

1. La pérdida de sangre es una causa importante de muerte, incluyendo las causas de pérdida de sangre traumatismo grave, aneurisma, úlceras esofágicas y gástricas, y ruptura de varices esofágicas. La probabilidad de muerte es alta cuando no puede detenerse inmediatamente la hemorragia.
2. La hemorragia durante la cirugía es una preocupación importante, ya que la hemorragia puede conducir a infección sistémica o disfunción orgánica. La hemorragia no solamente interfiere con el objeto de la cirugía, sino que la retirada de sangre de hemorragia también es un factor retardante en la cirugía.
3. La hemorragia también es un problema con cirugía mínimamente invasiva (cirugía laparoscópica, y similares), y puede ser necesario cambiar a cirugía incisiva cuando la hemorragia no puede evitarse lo suficiente.

Para la hemostasia existen los siguientes métodos.

1. Métodos para comprimir directamente los vasos sanguíneos en el sitio de hemorragia (astricción). El inconveniente de este método es que se requieren tiempo y esfuerzo para mantener la presión, mientras que el paciente también está en riesgo de hematoma.
2. Otros métodos para detener la hemorragia por medios físicos, tales como métodos de pinzamiento o corte cerca del sitio de hemorragia, o métodos de colocación de un tapón o una esponja en el sitio de hemorragia. El inconveniente de estos métodos de detención de la hemorragia es la dificultad del control cuando la hemorragia es de numerosos microvasos.
3. Métodos para coagular la sangre por calor y cauterización del vaso sanguíneo hemorrágico (electrocauterización). El inconveniente de dichos métodos es que el tejido circundante se somete a lesión térmica y el paciente experimenta invasión aumentada, mientras que los instrumentos médicos usados requieren una habilidad experta (el método no puede usarse fuera de una institución médica).

Para la hemostasia existen los siguientes agentes.

1. Ácido algínico
2. Esponjas de gelatina
3. Fibras de colágeno
4. Pasta de fibrina

Se usan con frecuencia clínicamente fibras de colágeno y pasta de fibrina como materiales de detención de la hemorragia eficaces, pero sus inconvenientes incluyen el hecho de que (1) la gelatina y las fibras de colágeno son colágeno animal y la pasta de fibrina es un producto derivado de animales obtenido usando una preparación sanguínea y trombina bovina, y por lo tanto, existe el riesgo de infección, y (2) no son transparentes y, por lo tanto, interfieren en el sitio de cirugía.

Pueden inducirse en ocasiones heparinemia, en la que la función de coagulación sanguínea del paciente se reduce artificialmente durante la cirugía. Se usa heparina para suprimir la coagulación sanguínea durante la cirugía cuando se usa una máquina cardiopulmonar artificial. Una máquina cardiopulmonar artificial es ajena al cuerpo, y cuando la sangre circula a través de la máquina cardiopulmonar artificial, la sangre se coagula inmediatamente y obtura el circuito, de manera que la administración de heparina a la sangre es esencial antes de la circulación extracorpórea.

Las fibras de colágeno y la pasta de fibrina utilizan el sistema de coagulación sanguínea del cuerpo para hemostasia, y por lo tanto, tienen un efecto hemostático menor para la heparinemia. Un efecto hemostático menor tiende a conducir a mayor hemorragia y, por lo tanto, un aumento de la necesidad de transfusión sanguínea,

mientras que también se requiere un tiempo mayor para completar la hemostasia cuando se termina la circulación extracorpórea. Por lo tanto, se ha deseado un material de detención de la hemorragia que no tenga un rendimiento menor con heparinemia y que no utilice la coagulación sanguínea.

- 5 Es necesaria la sutura de los vasos sanguíneos no solamente para cirugía cardíaca y vascular, sino también para cirugía intraperitoneal general. Dado que se produce una pequeña cantidad de filtración de sangre de las suturas de vasos sanguíneos después de la operación, se desea un material de detención de la hemorragia con un efecto supresor persistente.
- 10 La fístula biliar o pancreática es un síntoma en el que la filtración de líquido biliar o pancreático debido a cirugía del sistema biliar o pancreatitis o cirugía pancreática afecta de forma adversa a otros órganos. En la actualidad, no se conoce ninguna sustancia que inhiba eficazmente la filtración de líquido biliar o pancreático y sea clínicamente aplicable, y por lo tanto, se desea un método para evitar con seguridad y eficacia la fístula biliar y pancreática.
- 15 Además, la filtración de aire en los pulmones se conoce como un síntoma de neumotorax espontáneo que implica ruptura del quiste alveolar, o neumotorax traumático que se produce con fractura de costillas o paracentesis de catéter. Dependiendo de los síntomas, puede ser necesario esperar a la curación natural, y un método para proporcionar simplemente una capa superior en el área afectada y adherirla al tejido pulmonar para ocluir el hueco del quiste se considera un método sencillo y altamente seguro para el tratamiento de neumotorax.
- 20 Continúan desarrollándose técnicas para la escisión endoscópica de lesiones con avances en tecnología de endoscopia. En particular, se están estableciendo métodos quirúrgicos para escisión endoscópica de lesiones de pólipos o cáncer de estadio temprano en el tracto gastrointestinal, incluyendo el esófago, estómago e intestinos (cáncer superficial que se cree que no tiene metástasis de ganglios linfáticos). En la desmucosación endoscópica, se inyecta habitualmente una solución salina hipertónica, o similares, en la capa submucosa, incluyendo el sitio de lesión para hinchar el sitio de lesión, y el sitio de escisión se mantiene escindiendo al mismo tiempo el tejido que contiene el sitio de la lesión por electrocauterización, por ejemplo.
- 25 En esta técnica, se inyecta una solución, tal como solución salina hipertónica, a la capa submucosa para separar el sitio de lesión de la capa muscular apropiada, pero soluciones de baja viscosidad tales como solución salina no pueden mantener el hinchamiento de sitio de lesión durante la cirugía, y por lo tanto, se desea una solución de infusión que permita que se mantenga el hinchamiento de áreas afectadas durante el transcurso de la cirugía.
- 30 También se emplean métodos para supresión de hemorragia de sitios de escisión de lesiones por inyección de un vasoconstrictor, tal como trombina, a través de un catéter, pero no se han establecido medidas eficaces para la hemostasia completa, y por lo tanto, también se desea un método para detener rápidamente la hemorragia postescisión.
- 35 Los avances en los tratamientos por catéter han conducido al establecimiento de métodos quirúrgicos para destruir tumores o miomas por oclusión de las arterias que fluyen a los sitios de lesión, que controlan el flujo sanguíneo a los tumores y miomas. Específicamente, estos incluyen oclusión de las arterias hepáticas, oclusión de las arterias uterinas y oclusión de las arterias cerebrales.
- 40 En dichas técnicas, se infunde colágeno extraído de un animal heterogéneo, o un líquido, tal como etilen-vinil alcohol, para la oclusión de la arteria, pero esto plantea preocupaciones con respecto al riesgo de infección y toxicidad. Por lo tanto, se desea el desarrollo de una solución de infusión sin riesgo de infección y baja toxicidad.
- 45 También se desea una solución de infusión que pueda contener un agente antineoplásico o agente de contraste añadido.
- 50 Los péptidos de autoensamblaje tienen una propiedad por la que las moléculas peptídicas forman autoensamblajes dispuestos regularmente de acuerdo con su secuencia de aminoácidos. En años recientes, estos han atraído mucha atención como nuevos materiales debido a sus propiedades físicas, químicas y biológicas.
- 55 Los péptidos de autoensamblaje tienen una estructura alternante de aminoácidos hidrófilos con carga eléctrica y aminoácidos hidrófobos eléctricamente neutros, y una distribución alternante de carga positiva y carga negativa, por lo que adoptan una estructura  $\beta$  a pH fisiológico y concentración salina.

Los aminoácidos hidrófilos que pueden usarse incluyen aminoácidos ácidos tales como ácido aspártico y ácido

glutámico, y aminoácidos básicos tales como arginina, lisina, histidina y ornitina. Como aminoácidos hidrófobos pueden usarse alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, tirosina, triptófano, serina, treonina o glicina.

5 El autoensamblaje de dichos péptidos se produce en las siguientes condiciones.

- (1) Las moléculas peptídicas adoptan una estructura  $\beta$  en solución acuosa, en la que los aminoácidos hidrófilos con carga y aminoácidos hidrófobos eléctricamente neutros se distribuyen erróneamente en los dos lados de las moléculas peptídicas.
- 10 (2) La estructura  $\beta$  da como resultado una distribución eléctrica complementaria entre moléculas adyacentes.
- (3) La estructura  $\beta$  conduce a suficientes enlaces hidrófobos entre moléculas adyacentes.
- (4) La carga eléctrica de las cadenas laterales de aminoácidos se explora por sales inorgánicas monovalentes.
- 15 (5) Las moléculas son electrostáticamente neutras cerca del punto isoelectrico del péptido.

Se cree que se produce autoensamblaje por el siguiente mecanismo cuando se satisfacen todas estas condiciones.

- (1) La distribución alternante de carga positiva y carga negativa en la molécula peptídica provoca atracción entre las moléculas.
- 20 (2) Se forman enlaces hidrófobos entre las cadenas laterales de aminoácidos neutros de moléculas adyacentes.
- (3) La distribución eléctrica negativa/positiva da como resultado un alineamiento complementario entre moléculas adyacentes, y se refuerza la fuerza asociativa entre las moléculas.
- 25 (4) Los agregados moleculares se extienden gradualmente, formando nanofibras.

Las nanofibras son fibras superfina con grosores de aproximadamente 10 nm-20 nm, y se ha indicado que se agregan para formar una red y muestran una forma macroscópicamente de tipo gel.

- 30 La estructura de red del gel se asemeja fuertemente a una matriz extracelular (MEC) con respecto a su tamaño de fibra y tamaño de poro, y se está estudiando su uso como un andamiaje para cultivo celular.

Ya que el hidrogel peptídico es biodegradable y su producto de descomposición no afecta de forma adversa al tejido, siendo al mismo tiempo altamente bioabsorbible, es adecuado para injerto y crecimiento celular.

- 35 Debido a que los péptidos de autoensamblaje son productos sintéticos químicos obtenidos por síntesis en fase sólida y no portan el riesgo de enfermedad infecciosa derivada de animales, son aún más prometedores como sustitutos de colágeno y similares, dadas las preocupaciones en años recientes con respecto a virus animales y otros agentes infecciosos desconocidos, tales como la enfermedad de las vacas locas.

- 40 La aplicación de péptidos de autoensamblaje para hemostasia se indica en el Documento de patente 1, pero el vídeo que muestra hemostasia en un sitio de incisión hepática, proporcionado en un artículo citado en los ejemplos del mismo, muestra filtración sanguínea persistente desde el extremo del sitio de incisión, y no se consiguió la hemostasia completa indicada. Se conjetura que la razón para la hemostasia incompleta fue la adhesión insuficiente
- 45 entre el gel de péptidos de autoensamblaje y el tejido. Por lo tanto, es necesaria una mejora adicional para aprovechar el efecto hemostático de péptidos de autoensamblaje hasta un nivel que permita su aplicación clínica.

[Documento de patente 1] Publicación de Patente Internacional N.º WO2006-116524

## 50 DIVULGACIÓN

- Los presentes inventores han encontrado que se muestra un efecto de oclusión tisular equivalente a o mayor que el de agentes de oclusión tisulares existentes cuando se aplica un hidrogel de péptido de autoensamblaje utilizado como un andamiaje de cultivo celular para la oclusión tisular. Ha sido un problema importante que la simple
- 55 aplicación de soluciones peptídicas acuosas a sitios de filtración de líquido corporal no proporciona un efecto de oclusión tisular suficiente. Como resultado de una investigación diligente, sin embargo, se ha encontrado que puede conseguirse un efecto de oclusión tisular suficiente y seguridad biológica retirando el exceso de líquido corporal de sitios de filtración de líquido corporal.

Específicamente, la invención se refiere a una composición de oclusión tisular como se define en las reivindicaciones.

La composición de oclusión tisular también comprende preferiblemente fármacos de molécula pequeña para 5 prevenir la hemólisis, la inflamación y la infección.

Los fármacos de molécula pequeña se seleccionan preferiblemente del grupo que consiste en glucosa, sacarosa, sacarosa purificada, lactosa, maltosa, trehalosa, dextrano, yodo, cloruro de lisozima, dimetilisopropilazuleno, tretinointocoferilo, povidona de yodo, alprostadil alfadex, alcohol de anís, salicilato de isoamilo, alcohol  $\alpha,\alpha$ - 10 dimetilfeniletílico, bacdanol, helional, sulfazina de plata, bucladesina sódica, alprostadil alfadex, sulfato de gentamicina, clorhidrato de tetraciclina, fusidato sódico, mupirocina de calcio hidrato y benzoato de isoamilo.

Se describen en el presente documento composiciones que comprenden la composición de oclusión tisular mencionada anteriormente, que son agentes hemostáticos para hemorragia de sangre que han reducido el potencial 15 de coagulación debido a la adición de anticoagulantes, agentes hemostáticos para superficies de heridas hemorrágicas en órganos parenquimatosos, agentes hemostáticos para hemorragia arterial y fleborragia, inhibidores de la filtración biliar de la vesícula biliar o el conducto biliar, inhibidores de la hemorragia o filtración de aire de los pulmones, agentes hemostáticos o aplicación transcatéter durante la desmucosación endoscópica, infusiones para tejido mucoso para hinchamiento de sitios de escisión, inhibidores de hemorragia y filtración de líquido corporal de 20 sitios de escisión en métodos de escisión de resecciones de tejido mucoso que se han hinchado por infusión de líquidos al tejido mucoso, o agentes de oclusión arteriovenosos en oclusión arteriovenosa o agentes de escleroterapia de varices usados en escleroterapia de varices. También se pueden añadir agentes antineoplásicos y/o agentes de contraste al agente de oclusión arteriovenoso o agente de escleroterapia de varices.

25 El péptido de autoensamblaje como el componente principal en la composición de oclusión tisular descrita en el presente documento también puede servir como un andamiaje para células migratorias además de su papel como composición de oclusión, permitiendo de este modo que tenga un mayor efecto curativo después de cirugía en lugar de simple oclusión. Además, la composición de oclusión tisular tiene adhesión mejorada al tejido cuando se ha retirado el líquido corporal en exceso de un sitio de filtración de líquido corporal (por ejemplo, cuando se ha aplicado 30 a un sitio de detención de hemorragia en el que se ha parado la hemorragia), y por lo tanto, muestra un efecto de oclusión tisular adecuado con seguridad biológica.

El péptido de autoensamblaje como componente principal de la composición de oclusión tisular puede producirse por síntesis, y por lo tanto, no porta el riesgo de infección viral u otra en comparación con biomateriales derivados de 35 tejido convencional, y es en sí mismo bioabsorbible, eliminando preocupaciones de inflamación.

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 muestra una comparación entre los efectos hemostáticos de una solución peptídica acuosa al 1 40 % y una solución peptídica acuosa al 3 % en un modelo de perforación con aguja de inyección de aorta abdominal. (a) Hemorragia confirmada después de punción aórtica, hemorragia perivascular (punta de la flecha; grupo tratado con una solución peptídica acuosa al 1 %), (b) recubrimiento de solución peptídica acuosa (grupo tratado con una solución peptídica acuosa al 1 %), (c) vaso sanguíneo indistinguible debido a 45 sangre de hemorragia reanudada después de despinzar (punta de la flecha; grupo tratado con una solución peptídica acuosa al 1 %), (d) hemorragia confirmada después de punción aórtica, hemorragia perivascular (punta de la flecha; grupo tratado con una solución peptídica acuosa al 3 %), (e) recubrimiento de solución peptídica acuosa (grupo tratado con una solución peptídica acuosa al 3 %), (f) después de aclarar con una solución salina fisiológica, puede verse un vaso sanguíneo con hemorragia completamente detenida en el 50 centro de la fotografía (punta de la flecha; grupo tratado con una solución peptídica acuosa al 3 %).

La Figura 2 muestra una comparación entre los efectos hemostáticos de una solución peptídica acuosa al 1 % y una solución peptídica acuosa al 3 % en un modelo de escisión parcial hepática. (a) Hemorragia confirmada después de escisión hepática (grupo tratado con una solución peptídica acuosa al 1 %), (b) 55 recubrimiento de solución peptídica acuosa (grupo tratado con una solución peptídica acuosa al 1 %), (c) no se observa hemorragia de la superficie de corte después de aclarar con solución salina fisiológica (punta de la flecha; grupo tratado con una solución peptídica acuosa al 1 %), (d) hemorragia confirmada después de escisión hepática (grupo tratado con una solución peptídica acuosa al 3 %), (e) recubrimiento de solución peptídica acuosa (grupo tratado con una solución peptídica acuosa al 3 %), (f) hemorragia observada de superficie de corte después de aclarar con solución salina fisiológica (punta de la flecha; grupo tratado con una solución peptídica acuosa al 3 %).

La Figura 3 muestra una comparación histopatológica de las superficies de corte de un hígado con hemorragia detenida usando una solución peptídica acuosa e hígado de un grupo de control (solución salina fisiológica). (a) Histología intravascular (grupo tratado con una solución peptídica acuosa), (b) histología intravascular (grupo tratado con una solución salina fisiológica), (c) histología intravascular (grupo tratado con una solución peptídica acuosa), (d) histología intravascular (grupo tratado con una solución peptídica acuosa), (e) histología intravascular (grupo tratado con una solución peptídica acuosa), (f) histología intravascular (grupo tratado con una solución peptídica acuosa).

La Figura 4 muestra el efecto hemostático de una solución peptídica acuosa al 3 % en un modelo de perforación con aguja de inyección de la aorta abdominal de conejos con función de coagulación sanguínea suprimida. (a) Condición antes de la punción aórtica, (b) hemorragia perivascular observada después de punción aórtica (punta de la flecha), (c) recubrimiento de solución peptídica acuosa, (d) hemorragia perivascular de (b) no vista después del despinzamiento (punta de la flecha).

La Figura 5 muestra el efecto hemostático de una solución peptídica acuosa al 3 % que contiene sacarosa en un modelo de perforación con aguja de inyección de la aorta abdominal. (a) Condición antes de la punción aórtica, (b) hemorragia perivascular observada después de punción aórtica (punta de la flecha), (c) recubrimiento de solución peptídica acuosa, (d) hemorragia perivascular de (b) no vista después del despinzamiento (punta de la flecha).

La Figura 6 muestra una comparación de los efectos hemostáticos y los efectos de oclusión de filtración pulmonar de solución peptídica acuosa al 3 % que contiene sacarosa y solución salina fisiológica en un modelo de filtración pulmonar. (a) Hemorragia confirmada en pulmón (punta de la flecha; grupo tratado con una solución peptídica acuosa al 3 % que contiene sacarosa), (b) recubrimiento de solución peptídica acuosa (punta de la flecha; grupo tratado con una solución peptídica acuosa al 3 % que contiene sacarosa), (c) sitio de herida sumergido en solución salina fisiológica para confirmar filtraciones de aire, pero no se observó filtración de aire o hemorragia (punta de la flecha; grupo tratado con una solución peptídica acuosa al 3 % que contiene sacarosa), (d) hemorragia confirmada en pulmón (punta de la flecha; grupo tratado con una solución salina fisiológica), (e) recubrimiento de solución salina fisiológica (punta de la flecha; grupo tratado con una solución salina fisiológica); (f) sin hemorragia definida ya que el sitio de herida se sumergió en solución salina fisiológica para confirmar filtraciones de aire, pero se observó una hemorragia continua (punta de la flecha; grupo tratado con una solución salina fisiológica).

Figura 7. Efecto de la oclusión de la pared del conducto biliar de una solución peptídica acuosa al 3 % en modelo de perforación de la pared del conducto biliar. (a) Condición antes de la punción del conducto biliar, (b) filtración de bilis confirmada después de punción del conducto biliar (punta de la flecha), (c) recubrimiento de solución peptídica acuosa (punta de la flecha), (d) filtración de bilis de (b) no observada alrededor del conducto biliar después de aclarar con solución salina fisiológica (punta de la flecha).

La Figura 8 muestra formación de hinchamiento de la mucosa y efecto hemostático de una solución peptídica acuosa al 3 % en un tumor intravesical. (a) Antes de la infusión de la solución peptídica acuosa, (b) hinchamiento del área afectada confirmado después de la infusión de solución peptídica acuosa, (c) sin hemorragia en el sitio de escisión durante la escisión tumoral por electrocauterización, (d) sin hemorragia en el sitio de escisión después de escisión tumoral por electrocauterización.

La Figura 9 muestra el efecto hemostático de una solución peptídica acuosa al 2 % en un modelo de incisión de mucosa gástrica. (a) Hemorragia confirmada después de incisión hepática (punta de la flecha), (b) recubrimiento de solución peptídica acuosa al 2 % (punta de la flecha), (c) sin hemorragia del sitio de la escisión después de aclarar con solución salina fisiológica (punta de la flecha).

La Figura 10 muestra el efecto hemostático de una solución peptídica acuosa al 1 % en un modelo de transección hepática. (a) Hemorragia confirmada después de incisión hepática (punta de la flecha), (b) recubrimiento de solución peptídica acuosa IEIK9 al 1 % (punta de la flecha), (c) hemorragia observada del sitio de incisión después de aclarado con solución salina fisiológica (punta de la flecha), (d) hemorragia confirmada después de incisión hepática (punta de la flecha), (e) recubrimiento de solución peptídica acuosa IEIK13 al 1 % (punta de la flecha), (f) sin hemorragia observada del sitio de incisión después de aclarar con solución salina fisiológica (punta de la flecha), (g) hemorragia confirmada después de incisión hepática (punta de la flecha), (h) recubrimiento de solución peptídica acuosa KLD al 1 % (punta de la flecha), (i) sin hemorragia observada del sitio de incisión después del aclarar con solución salina fisiológica (punta de la flecha).

La Figura 11 muestra autoensamblaje de una solución peptídica acuosa al 1,5 % por bilis. (a) Solución peptídica acuosa PuraMatrix al 1,5 % antes de autoensamblaje, (b) solución peptídica acuosa PuraMatrix al 1,5 % después de recubrimiento de bilis, (c) bilis eliminada, autoensamblaje confirmado, (d) impacto físico aplicado para alterar el gel autoensamblado, (e) solución peptídica acuosa IEIK9 al 1 % antes del autoensamblaje, (f) solución peptídica acuosa IEIK9 al 1 % después de recubrimiento de bilis, (g) prácticamente no se ve nada de autoensamblaje después de eliminar la bilis, (h) impacto físico aplicado

para alterar el gel autoensamblado, (i) solución peptídica acuosa IEIK13 al 1 % antes del autoensamblaje, (j) solución peptídica acuosa IEIK13 al 1 % después de recubrir con bilis, (k) bilis eliminada, autoensamblaje confirmado, (l) impacto físico aplicado para alterar el gel autoensamblado, (m) solución peptídica acuosa KLD al 1 % antes del autoensamblaje, (n) solución peptídica acuosa KLD al 1 % después del recubrimiento de bilis, (o) bilis eliminada, autoensamblaje confirmado, (p) impacto físico aplicado para alterar el gel autoensamblado.

La Figura 12 muestra el efecto de la embolización de la vena porta con una solución peptídica acuosa al 3 %. (a), (b) Embolización de la vena porta confirmada (punta de la flecha).

La Figura 13 muestra el autoensamblaje de una solución peptídica acuosa que contiene iopamidol.

(a) Solución peptídica acuosa al 3 % que contiene iopamidol antes de autoensamblaje, (b) solución peptídica acuosa al 3 % que contiene iopamidol después de recubrimiento de medio de cultivo celular, (c) medio de cultivo celular eliminado, autoensamblaje confirmado, (d) solución peptídica acuosa al 0,0468 % que contiene iopamidol antes del autoensamblaje, (e) solución peptídica acuosa al 0,0468 % que contiene iopamidol después de recubrimiento del medio de cultivo celular, (f) medio de cultivo celular eliminado, autoensamblaje confirmado.

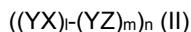
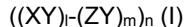
La Figura 14 muestra autoensamblaje de una solución peptídica acuosa al 3 % que contiene iopamidol después del pase del catéter (punta de la flecha).

La composición de oclusión tisular se explicará ahora en detalle.

El componente principal de la composición de oclusión tisular de la invención es un péptido que consisten en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.

El pH fisiológico es pH 6-8, preferiblemente pH 6,5-7,5, y más preferiblemente pH 7,3-7,5. Un "catión" es, por ejemplo, ión sodio o ión potasio 5 mM-5 M.

Los péptidos de autoensamblaje se pueden representar mediante las siguientes 4 fórmulas generales, por ejemplo.



(En las fórmulas (I)-(IV), X representa un aminoácido ácido, Y representa un aminoácido hidrófobo y Z representa un aminoácido básico, y 1, m y n son todos números enteros ( $n \times (1 + m) < 200$ )).

Los extremos N-terminales pueden estar acetilados, y los extremos C-terminales pueden estar amidados.

Los aminoácidos hidrófilos que pueden usarse incluyen aminoácidos ácidos tales como ácido aspártico y ácido glutámico, y aminoácidos básicos tales como arginina, lisina, histidina y ornitina. Como aminoácidos hidrófobos pueden usarse alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, tirosina, triptófano, serina, treonina o glicina.

Los péptidos de autoensamblaje son péptidos de autoensamblaje que tienen la secuencia repetitiva de arginina, alanina, ácido aspártico y alanina (RADA), y dichas secuencias de péptidos se representan por  $\text{Ac-(RADA)}_p\text{-CONH}_2$  ( $p = 2-50$ ). También hay péptidos autoensamblados preferidos que tienen la secuencia repetitiva de isoleucina, ácido glutámico, isoleucina y lisina (IEIK), y dichas secuencias peptídicas están representadas por  $\text{Ac-(IEIK)}_p\text{-CONH}_2$  ( $p = 2-50$ ). Otros péptidos autoensamblados tienen la secuencia repetitiva de lisina, leucina, ácido aspártico y leucina (KLDL), y dichas secuencias peptídicas están representadas por  $\text{Ac-(KLDL)}_p\text{-CONH}_2$  ( $p = 2-50$ ). Estos péptidos de autoensamblaje pueden estar compuestos por 8-200 residuos de aminoácidos, prefiriéndose los péptidos de autoensamblaje de 8-32 residuos, y prefiriéndose los péptidos de autoensamblaje que tienen 12-16 residuos.

Como ejemplos específicos de péptidos de autoensamblaje, se puede mencionar el péptido RAD16-I que tiene la secuencia  $\text{Ac-(RADA)}_4\text{-CONH}_2$  (SEQ ID NO: 1), el péptido IEIK13 que tiene la secuencia  $\text{Ac-(IEIK)}_3\text{-CONH}_2$  (SEQ ID NO: 2) y el péptido KLD que tiene la secuencia  $\text{Ac-(KLDL)}_3\text{-CONH}_2$  (SEQ ID NO: 3), y una solución acuosa al 1 % de RAD16-I está disponible como el producto PuraMatrix™ de 3D-Matrix Co., Ltd. PuraMatrix™

contiene péptido al 1 % que tiene la secuencia (Ac-(RADA)<sub>4</sub>-CONH<sub>2</sub>) (SEQ ID NO: 1), con ión hidrógeno e ión cloruro.

5 PuraMatrix™, IEIK13 y KLD son oligopéptidos de 12-16 residuos de aminoácidos que tienen una longitud de aproximadamente 5 nm, y aunque sus soluciones son líquidas a pH ácido, los péptidos se autoorganizan tras el cambio a pH neutro, formando nanofibras con diámetros de aproximadamente 10 nm, causando la gelificación de las soluciones peptídicas.

10 PuraMatrix™ es un péptido anfifílico que tiene una secuencia de aminoácidos con repeticiones alternas de arginina con carga positiva y ácido aspártico con carga negativa como aminoácidos hidrófilos, y alanina como aminoácido hidrófobo, IEIK13 es un péptido anfifílico que tiene una secuencia de aminoácidos con repeticiones alternas de lisina con carga positiva y ácido glutámico con carga negativa como aminoácidos hidrófilos e isoleucina como un aminoácido hidrófobo, y KLD es un péptido anfifílico que tiene una secuencia de aminoácidos con repeticiones alternas de lisina con carga positiva y ácido aspártico con carga negativa como aminoácidos hidrófilos y leucina  
15 como un aminoácido hidrófobo; el autoensamblaje de los péptidos se debe a enlaces de hidrógeno y enlaces hidrófobos entre las moléculas peptídicas por los aminoácidos que componen los péptidos.

En los péptidos de autoensamblaje, el diámetro de la nanofibra es de 10-20 nm y el tamaño de poro puede ser 5-200 nm, como promedios. Estos intervalos de valores numéricos son aproximadamente iguales que el colágeno, que es  
20 una matriz extracelular natural.

El pH fisiológico y la concentración salina son condiciones para el autoensamblaje de los péptidos de autoensamblaje. La presencia de un ión metálico alcalino monovalente es especialmente importante. Es decir, el ión sodio e ión potasio presentes en grandes cantidades en el cuerpo ayudan a promover la gelificación. Una vez que se  
25 ha producido gelificación, el gel no se descompone ni siquiera en condiciones desnaturalizantes de proteínas comunes, tales como alta temperatura o con agentes desnaturalizantes tales como ácidos, álcalis, proteasas, urea, clorhidrato de guanidina o similares.

Estos péptidos de autoensamblaje, tales como PuraMatrix™, son secuencias peptídicas que carecen de un motivo  
30 fisiológicamente activo definido, y por lo tanto, la función celular intrínseca no está alterada. Los motivos fisiológicamente activos controlan numerosos fenómenos intracelulares tales como transcripción, y la presencia de motivos fisiológicamente activos puede conducir a la fosforilación de proteínas intracitoplasmáticas o de superficie celular por enzimas que reconocen los motivos. Cuando está presente un motivo fisiológicamente activo en un agente de oclusión tisular peptídico, la transcripción de proteínas con diversas funciones puede activarse o  
35 suprimirse. Los péptidos de autoensamblaje, tales como PuraMatrix™, carecen de dichos motivos fisiológicamente activos y, por lo tanto, no conllevan este riesgo.

Dado que el péptido de autoensamblaje puede producirse por síntesis química, éste no contiene componentes no identificados derivados de la matriz extracelular de otro animal. Por lo tanto, esta propiedad elimina las  
40 preocupaciones de infección, incluyendo BSE, haciendo el péptido altamente seguro incluso para uso médico.

Además, un péptido de autoensamblaje compuesto de aminoácidos naturales también tiene biocompatibilidad y biodegradabilidad satisfactorias, y se ha indicado que la infusión de PuraMatrix™ en el músculo cardíaco murino, por ejemplo, da como resultado la infiltración de células en la PuraMatrix™ y la formación de tejido normal. El tiempo de  
45 descomposición difiere dependiendo de las condiciones tales como la localización de la infusión, pero las fibras se descomponen y se secretan en aproximadamente 2 a 8 semanas después de la infusión.

La composición de oclusión tisular de la invención puede contener además fármacos de molécula pequeña añadidos. No hay ninguna restricción particular sobre dichos fármacos de molécula pequeña, y pueden mencionarse  
50 glucosa, sacarosa, sacarosa purificada, lactosa, maltosa, trehalosa, dextrano, yodo, cloruro de lisozima, dimetilisopropilazuleno, tretinointocoferilo, povidona de yodo, alprostadil alfadex, alcohol de anís, salicilato de isoamilo, alcohol  $\alpha,\alpha$ -dimetilfeniletílico, bacdanol, helional, sulfazina de plata, bucladesina sódica, alprostadil alfadex, sulfato de gentamicina, clorhidrato de tetraciclina, fusidato sódico, mupirocina de calcio hidrato y benzoato de isoamilo.

55 Puede añadirse un azúcar a la composición de oclusión tisular de la invención para mejorar la presión osmótica de la solución de hipotonidad a isotonicidad sin reducir el efecto de oclusión tisular, permitiendo de ese modo que aumente la seguridad biológica.

La composición de oclusión tisular de la invención puede estar en forma de una solución, un gel o similares. Dado que el péptido de autoensamblaje gelifica en respuesta a cambios en el pH de la solución y la concentración salina, éste puede distribuirse como un fármaco líquido que gelifica tras el contacto con el cuerpo durante la aplicación.

- 5 Los modos de uso clínico incluyen jeringas equipadas con cilindros o pipetas que están precargadas con solución química que contiene componentes tales como péptidos de autoensamblaje (jeringas precargadas), o métodos para proporcionar una solución química a una jeringa o una microplaca de pipeta por un medio que proporciona los componentes a través de la abertura de la jeringa o microplaca de pipeta (un aspirador o una válvula), y aplicándolos al área afectada a través de la sección de descarga. Se usa en ocasiones una construcción con dos o más jeringas  
10 o pipetas.

Los componentes pueden usarse como un revestimiento en un instrumento tal como una endoprótesis o catéter, para suprimir la filtración de líquido corporal.

- 15 Además, los componentes pueden anclarse en un soporte tal como una gasa o un vendaje, o un revestimiento, que se usa habitualmente en el campo. Los componentes también pueden empaparse en una esponja para su uso.

Además, puede prepararse un pulverizador atomizador cargado con un polvo o una solución de los componentes. Cuando se usa tal pulverización para pulverizar en un área afectada, el pH y la concentración salina aumentan tras  
20 el contacto con el cuerpo que provoca gelificación, y por lo tanto esta forma puede aplicarse para una mayor diversidad de sitios y condiciones que una forma de gel.

La composición de oclusión tisular se explicará ahora en mayor detalle mediante los siguientes ejemplos, pero la invención no se limita a los mismos.

- 25 [Ejemplo 1] de Referencia

Efectos hemostáticos de una solución peptídica acuosa al 1 % y una solución peptídica acuosa al 3 % en modelo de perforación con aguja de inyección de tallo de vena porta/aorta abdominal de conejo.

- 30 Se preparó un modelo de perforación con aguja de inyección de tallo de vena porta y aorta abdominal de conejo con pinza vascular, y se evaluaron los efectos hemostáticos de una solución peptídica acuosa al 1 % y una solución peptídica acuosa al 3 %.

- 35 <Materiales>

• Soluciones peptídicas acuosas

- 40 1. Solución peptídica acuosa al 1 % (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc; concentración: peso/vol)  
2. Solución peptídica acuosa al 3 % (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc; concentración: peso/vol)

• Animales

- 45 Conejos blancos japoneses (3,0-4,0 kg, Japan White, convencionales, adquiridos en Funabashi Farm Co., Ltd.). Los animales se criaron con gránulos de cría (JA Higashinihon Kumiai Shiryō) suministrados en una habitación de cría controlada a temperatura ambiente de 25 °C, una humedad del 65 % y un tiempo de iluminación de 12 horas (7:00-19:00), y agua suministrada libremente con una botella de agua. El ayuno fue desde la mañana del día del ensayo,  
50 con agua suministrada libremente.

<Método>

- 55 - A los conejos se les administró por vía subcutánea (3 mg/kg) una inyección al 2 % de Celactar (2,0 g de contenido como xilazina en 100 ml, producto de Bayer Ltd.), y después se les administró por vía intravenosa (10 mg/kg) ketamina (50 mg de contenido, ketamina en 1 ml, producto de Fuji Chemical Industries, Ltd.) para anestesia.  
- Los conejos se sometieron a laparotomía por sección media. Se expusieron aproximadamente 10 cm de la aorta abdominal y el tallo de la vena porta, cada vaso sanguíneo se extirpó del tejido circundante, y la aorta

abdominal se perforó con una aguja de inyección de 23G (Terumo Corp.), mientras que el tallo de la vena porta se perforó con una aguja de inyección de 26G (Terumo Corp.).

- Tras confirmar la hemorragia, se pinzó el flujo sanguíneo en el extremo periférico y extremo central con una pinza hemostática, y después de retirar la sangre de la hemorragia con solución salina fisiológica y gasa, se trató inmediatamente con la solución peptídica acuosa.

- Después de 1-2 minutos de tratamiento, se liberó el flujo sanguíneo y se examinó visualmente la presencia de hemorragia del sitio de perforación.

#### <Resultados>

La Figura 1 muestra el efecto hemostático de la solución peptídica acuosa en la hemorragia del vaso sanguíneo en este ejemplo. Como se ve en la Tabla 1, dos de dos conejos del modelo de perforación de la aorta abdominal demostraron hemostasia completa con una solución peptídica acuosa al 3 %. Con una solución peptídica acuosa al 1 %, sin embargo, ambos conejos tuvieron hemorragia en chorro después de liberación de la pinza y, por lo tanto, la hemostasia no fue completa. En el modelo de perforación de tallo de la vena porta, dos de los casos también demostraron hemostasia completa con una solución peptídica acuosa al 3 %, pero tuvieron fleborragia persistente con una solución peptídica acuosa al 1 %.

[Tabla 1]

N.º	Acuosa	Perforación	Procedimiento	Resultado	Observaciones
-----	--------	-------------	---------------	-----------	---------------

[Ejemplo 2] de Referencia

Efectos hemostáticos de una solución peptídica acuosa al 1 % y una solución peptídica acuosa al 3 % en un modelo de resección de hígado parcial de conejo.

Se preparó un modelo de resección de hígado parcial de conejo y se evaluaron los efectos hemostáticos de una solución peptídica acuosa al 1 % y una solución peptídica acuosa al 3 %.

#### <Materiales>

##### • Soluciones peptídicas acuosas

1. Solución peptídica acuosa al 1 % (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc.)

2. Solución peptídica acuosa al 3 % (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc.)

##### • Animales

Conejos blancos japoneses (3,0-4,0 kg, Japan White, convencionales, adquiridos en Funabashi Farm Co., Ltd.). Los animales se criaron con gránulos de cría (JA Higashinihon Kumiai Shiryō) suministrados en una habitación de cría controlada a temperatura ambiente de 25 °C, una humedad del 65 % y un tiempo de iluminación de 12 horas (7:00-19:00), y agua suministrada libremente con una botella de agua. El ayuno fue desde la mañana del día del ensayo, con agua suministrada libremente.

#### <Método>

- A los conejos se les administró por vía subcutánea (3 mg/kg) una inyección al 2 % de Celactar (2,0 g de contenido como xilazina en 100 ml, producto de Bayer Ltd.), y después se les administró por vía intravenosa (10 mg/kg) ketamina (50 mg de contenido, ketamina en 1 ml, producto de Fuji Chemical Industries, Ltd.) para anestesia.

- Los conejos se sometieron a laparotomía por la sección media, y se escindió de forma pronunciada el lóbulo izquierdo o derecho hepático a un tamaño de aproximadamente 5 cm de anchura x 3 cm de longitud desde el borde usando un escalpelo, para preparar una sección de hígado.

- Después de confirmar la hemorragia en chorro de la superficie reseca, el parénquima de hígado, incluyendo las arterias, la vena porta y las venas, se astringió manualmente para bloquear inmediatamente el flujo sanguíneo, y la sangre de hemorragia se retiró con una solución salina fisiológica y gasa, después de lo cual la superficie del hígado reseca preparada se trató con una solución peptídica acuosa.

- Se liberó flujo sanguíneo durante 1-2 minutos después del tratamiento, la solución peptídica acuosa que se gelificó se eliminó por una solución salina fisiológica, y se confirmó visualmente la presencia de cualquier

hemorragia de la superficie del hígado reseado.

- La superficie del hígado reseado en la que se vio un efecto hemostático se fijó con formalina a 20 % y se evaluó histopatológicamente por tinción con HE.

## 5 <Resultados>

La Figura 2 muestra el efecto hemostático de las soluciones peptídicas acuosas en la hemorragia de la superficie de hígado reseada en este ejemplo. Como se ve en la Tabla 2, dos de los dos conejos mostraron una hemostasia completa con una solución peptídica acuosa al 1 %, pero se observó una hemostasia completa solamente en 1 de 4 conejos con solución peptídica acuosa al 3 %. En la observación histológica, se confirmó la oclusión de vasos sanguíneos en la superficie vascular debido a contacto estrecho de la solución peptídica acuosa gelificada con la superficie de hígado reseado (Figura 3).

[Tabla 2]

N.º	Concentración	Procedimiento	Resultado	Observaciones
-----	---------------	---------------	-----------	---------------

15

[Ejemplo 3] de Referencia

Efecto hemostático de una solución peptídica acuosa en un modelo de perforación con aguja de inyección de la aorta abdominal de conejos con función de coagulación sanguínea suprimida.

20

El efecto hemostático de la solución peptídica acuosa en conejos a los que se administró un anticoagulante (heparina) se evaluó en un modelo de perforación con aguja de inyección de aorta abdominal.

<Materiales>

25

• Solución peptídica acuosa

Solución peptídica acuosa al 3 % (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc.)

30 • Animales

Conejos blancos japoneses (3,0-4,0 kg, Japan White, convencionales, adquiridos en Funabashi Farm Co., Ltd.). Los animales se criaron con gránulos de cría (JA Higashinihon Kumiai Shiryō) suministrados en una habitación de cría controlada a temperatura ambiente de 25 °C, una humedad del 65 % y un tiempo de iluminación de 12 horas (7:00-19:00), y agua suministrada libremente con una botella de agua. El ayuno fue desde la mañana del día del ensayo, con agua suministrada libremente.

<Método>

40

- A los conejos se les administró por vía subcutánea (3 mg/kg) una inyección al 2 % de Celactar (2,0 g de contenido como xilazina en 100 ml, producto de Bayer Ltd.), y después se les administró por vía intravenosa (10 mg/kg) ketamina (50 mg de contenido, ketamina en 1 ml, producto de Fuji Chemical Industries, Ltd.) para anestesia.

45

- Se administraron 1.000 unidades de heparina (Novo-Heparina para inyección, 5.000 unidades, Mochida Pharmaceutical Co., Ltd.) a través de la vena cava inferior para reducir artificialmente la función de la coagulación sanguínea.

- Los conejos se sometieron a laparotomía por sección media. Se expusieron aproximadamente 10 cm de la aorta abdominal, el vaso sanguíneo se extirpó del tejido circundante y se perforó el vaso con una aguja de inyección de 26G, 25G o 23G (Terumo Corp.).

50

- Tras confirmar la hemorragia, se pinzó el flujo sanguíneo en el extremo periférico y extremo central con una pinza hemostática, y después de retirar la sangre de la hemorragia con solución salina fisiológica y gasa, se trató inmediatamente con la solución peptídica acuosa.

- Después de 1-2 minutos de tratamiento, se liberó el flujo sanguíneo y se examinó visualmente la presencia de hemorragia.

55

<Resultados>

La Figura 4 muestra el efecto hemostático de la solución peptídica acuosa en la hemorragia de la aorta abdominal

de conejos con función de coagulación sanguínea reducida en este ejemplo. Como se ve en la Tabla 3, se observó hemostasia completa con una solución peptídica acuosa al 3 % en los modelos de perforación con aguja de inyección de 26G, 25G y 23G.

5

[Tabla 3]

N.º	Tamaño de la aguja	Tiempo de procedimiento	Resultado	Observaciones
-----	--------------------	-------------------------	-----------	---------------

[Ejemplo 4] de Referencia

10 Efecto hemostático de soluciones peptídicas acuosas que contienen azúcar en un modelo de perforación con aguja de inyección del tallo de la vena porta/aorta abdominal del conejo.

Los efectos hemostáticos de soluciones peptídicas acuosas que contenían azúcar se evaluaron usando un modelo de perforación con aguja de inyección del tallo de la vena porta/aorta abdominal.

15 <Materiales>

• Soluciones peptídicas acuosas

- 20 1. Soluciones peptídicas acuosas que contienen sacarosa (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc; concentraciones: 2 % y 3 %, sacarosa: Wako Pure Chemical Industries, Ltd., concentración al 10 %)
2. Solución peptídica acuosa al 2 % que contiene glucosa (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc; glucosa: Wako Pure Chemical Industries, Ltd., concentración al 5 %)
- 25 3. Solución peptídica acuosa al 2 % que contiene trehalosa (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc; trehalosa: Wako Pure Chemical Industries, Ltd., concentración al 5 %)
4. Solución peptídica acuosa al 3 % (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc.)
5. Solución peptídica acuosa al 2 % (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc.)

• Animales

30

Conejos blancos japoneses (3,0-4,0 kg, Japan White, convencionales, adquiridos en Funabashi Farm Co., Ltd.). Los animales se criaron con gránulos de cría (JA Higashinihon Kumiai Shiryō) suministrados en una habitación de cría controlada a temperatura ambiente de 25 °C, una humedad del 65 % y un tiempo de iluminación de 12 horas (7:00-19:00), y agua suministrada libremente con una botella de agua. El ayuno fue desde la mañana del día del ensayo, con agua suministrada libremente.

<Método>

- 40 - A los conejos se les administró por vía subcutánea (3 mg/kg) una inyección al 2 % de Celactar (2,0 g de contenido como xilazina en 100 ml, producto de Bayer Ltd.), y después se les administró por vía intravenosa (10 mg/kg) ketamina (50 mg de contenido, ketamina en 1 ml, producto de Fuji Chemical Industries, Ltd.) para anestesia.
- Los conejos se sometieron a laparotomía por sección media. Se expusieron aproximadamente 10 cm de la aorta abdominal y el tallo de la vena porta, cada vaso sanguíneo se extirpó del tejido circundante, y la aorta abdominal se perforó con una aguja de inyección de 26G, 25G o 23G (Terumo Corp.), mientras que el tallo de la vena porta se perforó con una aguja de inyección de 26G (Terumo Corp.).
- 45 - Tras confirmar la hemorragia, se pinzó el flujo sanguíneo en el extremo periférico y extremo central con una pinza hemostática, y después de retirar la sangre de la hemorragia con solución salina fisiológica y gasa, se trató inmediatamente con la solución peptídica acuosa.
- 50 - Después de 1-2 minutos de tratamiento, se liberó el flujo sanguíneo y se examinó visualmente la presencia de hemorragia.

<Resultados>

55 La Figura 5 muestra el efecto hemostático de una solución peptídica acuosa que contiene azúcar en la hemorragia de un vaso sanguíneo en este ejemplo. Como se ve en la Tabla 4, el efecto hemostático de la solución peptídica acuosa al 3 % que contiene sacarosa fue equivalente al de solución peptídica acuosa al 3 % en los modelos de perforación con aguja de inyección de 23G, 25G y 26G de la aorta abdominal.

Como se ve en la Tabla 5, los efectos hemostáticos de una solución peptídica acuosa al 2 %, una solución peptídica acuosa al 2 % que contiene sacarosa, una solución peptídica acuosa al 2 % que contiene glucosa y solución peptídica acuosa al 2 % que contiene trehalosa fueron equivalentes en el modelo de perforación con aguja de 5 inyección de 26G de tallo de la vena porta.

[Tabla 4]

N.º	Solución peptídica acuosa	Sitio de perforación	Tamaño de la aguja (G)	Tiempo de procedimiento	Resultado	Observación
1	3 %	Aorta abdominal	23	1:00	G	Hemostasia completa
2	3 %	Aorta abdominal	23	1:00	G	Hemostasia completa
3	3 %	Aorta abdominal	25	1:00	G	Hemostasia completa
4	3 %	Aorta abdominal	25	1:00	G	Hemostasia completa
5	3 %	Aorta abdominal	25	1:00	G	Hemostasia completa
6	3 %	Aorta abdominal	26	2:00	G	Hemostasia completa
7	Que contiene sacarosa, al 3 %	Aorta abdominal	23	2:00	G	Hemostasia completa
8	Que contiene sacarosa, al 3 %	Aorta abdominal	23	1:00	G	Hemostasia completa
9	Que contiene sacarosa, al 3 %	Aorta abdominal	23	2:00	G	Hemostasia completa
10	Que contiene sacarosa, al 3 %	Aorta abdominal	23	2:00	P	Hemorragia en chorro
11	Que contiene sacarosa, al 3 %	Aorta abdominal	25	2:00	G	Hemostasia completa
12	Que contiene sacarosa, al 3 %	Aorta abdominal	26	1:00	G	Hemostasia completa
13	Que contiene sacarosa, al 3 %	Aorta abdominal	26	1:00	G	Hemostasia completa
14	Que contiene sacarosa, al 3 %	Aorta abdominal	26	2:00	G	Hemostasia completa
15	Que contiene sacarosa, al 3 %	Aorta abdominal	26	2:00	G	Hemostasia completa
16	Que contiene sacarosa, al 3 %	Aorta abdominal	26	2:00	G	Hemostasia completa

[Tabla 5]

N.º	Solución peptídica acuosa	Sitio de perforación	Tamaño de la aguja	Tiempo de procedimiento	Resultado	Observación
1	2 %	Tallo de la vena porta	26G	2:00	G	Hemostasia completa
2	2 %	Tallo de la vena porta	26G	2:00	G	Hemostasia completa
3	Que contiene glucosa, al 2 %	Tallo de la vena porta	26G	2:00	G	Hemostasia completa
4	Que contiene glucosa, al 2 %	Tallo de la vena porta	26G	2:00	G	Hemostasia completa
5	Que contiene glucosa, al 2 %	Tallo de la vena porta	26G	2:00	P	Hemorragia continua
6	Que contiene sacarosa, al 2 %	Tallo de la vena porta	26G	2:00	G	Hemostasia completa

7	Que contiene trehalosa, al 2 %	Tallo de la vena porta	26G	2:00	G	Hemostasia completa
---	--------------------------------	------------------------	-----	------	---	---------------------

[Ejemplo 5] de Referencia

Efecto de bloqueo de filtración de pulmón de solución peptídica acuosa que contiene sacarosa en modelo de filtración de pulmón de conejo.

Se preparó un modelo de filtración de pulmón de conejo, y se compararon los efectos de bloqueo de filtración de pulmón de una solución peptídica acuosa al 3 % que contiene sacarosa y solución salina fisiológica.

#### 10 <Materiales>

##### • Soluciones peptídicas acuosas

1. Solución peptídica acuosa al 3 % que contiene sacarosa (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc; sacarosa: Wako Pure Chemical Industries, Ltd., concentración: 10 %)
2. Solución salina fisiológica (producto de Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc.)

##### • Animales

- Conejos blancos japoneses (3,0-4,0 kg, Japan White, convencionales, adquiridos en Funabashi Farm Co., Ltd.). Los animales se criaron con gránulos de cría (JA Higashinihon Kumiai Shiryō) suministrados en una habitación de cría controlada a temperatura ambiente de 25 °C, una humedad del 65 % y un tiempo de iluminación de 12 horas (7:00-19:00), y agua suministrada libremente con una botella de agua. El ayuno fue desde la mañana del día del ensayo, con agua suministrada libremente.

#### <Método>

- A los conejos se les administró por vía subcutánea (3 mg/kg) una inyección al 2 % de Celactar (2,0 g de contenido como xilazina en 100 ml, producto de Bayer Ltd.), y después se les administró por vía intravenosa (10 mg/kg) ketamina (50 mg de contenido, ketamina en 1 ml, producto de Fuji Chemical Industries, Ltd.) para anestesia.

- Los conejos se sometieron a toracotomía con asistencia respiratoria con un respirador artificial. Los pulmones se expusieron y se hirieron de forma contundente con fórceps para crear filtración pulmonar con hemorragia.

- Después de retirar la sangre de hemorragia con una solución salina fisiológica y gasa, la superficie hemorrágica se trató con una solución peptídica acuosa al 3 % que contenía sacarosa y una solución salina fisiológica.

- Aproximadamente 30 segundos después del tratamiento, se confirmó visualmente la presencia de hemorragia y filtración de aire de la filtración del pulmón en la solución salina fisiológica.

#### <Resultados>

La Figura 6 muestra el efecto de bloqueo de filtración pulmonar de la solución peptídica acuosa que contiene sacarosa de este ejemplo. Como se ve en la Tabla 6, se confirmaron la hemostasia completa y el bloqueo de la filtración pulmonar con una solución peptídica acuosa al 3 % que contenía sacarosa, pero se observó hemorragia persistente y filtración de aire de la filtración pulmonar con solución salina fisiológica.

[Tabla 6]

Solución	Procedimiento	Resultado	Observaciones
----------	---------------	-----------	---------------

#### 50 [Ejemplo 6] de Referencia

Efecto de la oclusión de la pared del conducto biliar de una solución peptídica acuosa en el modelo de perforación con aguja de inyección de conducto biliar de conejo.

- Se preparó un modelo de perforación del conducto biliar con aguja de inyección de conejo, y se evaluó el efecto de oclusión de la pared del conducto biliar de una solución peptídica acuosa.

## &lt;Materiales&gt;

- Solución peptídica acuosa

5

Solución peptídica acuosa al 3 % (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc.)

- Animales

- 10 Conejos blancos japoneses (3,0-4,0 kg, Japan White, convencionales, adquiridos en Funabashi Farm Co., Ltd.). Los animales se criaron con gránulos de cría (JA Higashinihon Kumiai Shiryō) suministrados en una habitación de cría controlada a temperatura ambiente de 25 °C, una humedad del 65 % y un tiempo de iluminación de 12 horas (7:00-19:00), y agua suministrada libremente con una botella de agua. El ayuno fue desde la mañana del día del ensayo, con agua suministrada libremente.

15

## &lt;Método&gt;

- 20 - A los conejos se les administró por vía subcutánea (3 mg/kg) una inyección al 2 % de Celactar (2,0 g de contenido como xilazina en 100 ml, producto de Bayer Ltd.), y después se les administró por vía intravenosa (10 mg/kg) ketamina (50 mg de contenido, ketamina en 1 ml, producto de Fuji Chemical Industries, Ltd.) para anestesia.
- Los conejos se sometieron a laparotomía por sección media. Se expusieron aproximadamente 10 cm del conducto biliar, y después de extirpar el tejido circundante, el conducto biliar se perforó con una aguja de inyección de 26G.
- 25 - Después de confirmar la descarga de bilis y el flujo continuo de bilis, se bloqueó el flujo de bilis con una pinza hemostática.
- La bilis filtrada se eliminó con una solución salina fisiológica y gasa, y después se trató con una solución peptídica acuosa al 3 %.
- 30 - Después de 2 minutos de tratamiento, se liberó el bloqueo de flujo de bilis y se examinó visualmente la presencia de flujo de bilis desde el sitio de perforación.

## &lt;Resultados&gt;

- 35 La Figura 7 muestra el efecto de oclusión de la pared del conducto biliar de la solución peptídica acuosa en este ejemplo. Como se ve en la Tabla 7, se observó un efecto de oclusión de la pared del conducto biliar completa con solución peptídica acuosa al 3 %.

[Tabla 7]

N.º	Tamaño de la aguja	Procedimiento	Resultado	Observaciones
-----	--------------------	---------------	-----------	---------------

- 40 [Ejemplo 7] de Referencia

Elevación sostenida del sitio de escisión y efecto hemostático de solución peptídica acuosa con tumorectomía intravesical canina.

- 45 Se inyectaron por vía submucosa soluciones peptídicas acuosas en la vejiga durante la tumorectomía intravesical canina, y se evaluaron la elevación sostenida y los efectos hemostáticos de las soluciones peptídicas acuosas en el sitio de escisión.

## &lt;Materiales&gt;

50

- Solución peptídica acuosa

Solución peptídica acuosa al 3 % (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc.)

- Animales

Perros (macho)

<Método>

Se realizó una tumorectomía intravesical canina con tratamiento bajo anestesia general, mediante el siguiente procedimiento.

- 5 - Después de la incisión hipogástrica con un escalpelo de electrocauterización (Erbe, Inc.), el escalpelo de electrocauterización se usó para la incisión de la vejiga con el fin de exponer el tumor intravesical (tumor pedunculado con un diámetro en el sitio de base de aproximadamente 0,5 cm que está elevado de la mucosa vesical).
- 10 - Se inyectó por vía submucosa una solución peptídica acuosa al 3 % alrededor de la base tumoral en 4 inyecciones de 0,5 ml cada una, y se confirmó la elevación del tumor en la mucosa.
- Después de elevar el tumor, se escindió el tumor con un escalpelo electrónico.
- El tiempo desde la inyección de solución peptídica acuosa hasta la escisión tumoral completa fue de aproximadamente 2 minutos.

<Resultados>

Como se muestra en la Figura 8, los tumores elevados por inyección de solución peptídica acuosa en la mucosa vesical, y el estado elevado se mantuvieron incluso durante la escisión. No se observó hemorragia durante o después de la escisión tumoral.

[Ejemplo 8] de Referencia

Efecto hemostático de una solución peptídica acuosa al 2 % en el modelo de incisión de mucosa gástrica de conejo

Se preparó un modelo de hemorragia de incisión de mucosa gástrica de conejo, y se evaluó el efecto hemostático de una solución peptídica acuosa al 2 %.

<Materiales>

- 30 • Solución peptídica acuosa

Solución peptídica acuosa al 1,2 % (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc.)

- 35 • Animales

Conejos blancos japoneses (3,0-4,0 kg, Japan White, convencionales, adquiridos en Funabashi Farm Co., Ltd.). Los animales se criaron con gránulos de cría (JA Higashinihon Kumiai Shiryō) suministrados en una habitación de cría controlada a temperatura ambiente de 25 °C, una humedad del 65 % y un tiempo de iluminación de 12 horas (7:00-19:00), y agua suministrada libremente con una botella de agua. El ayuno fue desde la mañana del día del ensayo, con agua suministrada libremente.

<Método>

- 45 - A los conejos se les administró por vía subcutánea (3 mg/kg) una inyección al 2 % de Celactar (2,0 g de contenido como xilazina en 100 ml, producto de Bayer Ltd.), y después se les administró por vía intravenosa (10 mg/kg) ketamina (50 mg de contenido, ketamina en 1 ml, producto de Fuji Chemical Industries, Ltd.) para anestesia.
- 50 - Los conejos se sometieron a laparotomía por sección media y se realizaron incisiones en los estómagos, después de lo cual se expuso la mucosa gástrica y se realizó una incisión pronunciada con un escalpelo hasta aproximadamente 1 cm para inducir hemorragia.
- Después de confirmar que la sangre rezumaba de la incisión, la sangre se eliminó en la medida de lo posible con la gasa y se trató la incisión de la mucosa gástrica con una solución peptídica acuosa.
- 55 - La solución peptídica acuosa gelificada se eliminó 1 minuto después del tratamiento usando una solución salina fisiológica, y se confirmó visualmente la presencia de cualquier hemorragia de la incisión de la mucosa gástrica.

<Resultados>

La Figura 9 muestra el efecto hemostático de la solución peptídica acuosa en hemorragia de la incisión de la mucosa gástrica en este ejemplo. No se observó hemorragia después de aplicar la solución peptídica acuosa.

[Ejemplo 9]

5 Efecto hemostático de una solución peptídica acuosa al 1 % en una modelo de transección hepática de conejo

Se preparó un modelo de hemorragia de transección hepática de conejo, y se evaluó el efecto hemostático de una solución peptídica acuosa al 1 %.

10 <Materiales>

• Soluciones peptídicas acuosas

15 1. Solución peptídica acuosa al 1 % (secuencia peptídica: IEIK9 (SEQ ID NO: 4), CPC Scientific, Inc). La solución 1 no forma parte de la invención.  
2. Solución peptídica acuosa al 1 % (secuencia peptídica: IEIK13, CPC Scientific, Inc) 3. Solución peptídica acuosa al 1 % (secuencia peptídica: KLD, CPC Scientific, Inc). La solución 3 no forma parte de la invención.

20 • Animales

Conejos blancos japoneses (3,0-4,0 kg, Japan White, convencionales, adquiridos en Funabashi Farm Co., Ltd.). Los animales se criaron con gránulos de cría (JA Higashinihon Kumiai Shiryō) suministrados en una habitación de cría controlada a temperatura ambiente de 25 °C, una humedad del 65 % y un tiempo de iluminación de 12 horas (7:00-19:00), y agua suministrada libremente con una botella de agua. El ayuno fue desde la mañana del día del ensayo, con agua suministrada libremente.

<Método>

30 - A los conejos se les administró por vía subcutánea (3 mg/kg) una inyección al 2 % de Celactar (2,0 g de contenido como xilazina en 100 ml, producto de Bayer Ltd.), y después se les administró por vía intravenosa (10 mg/kg) ketamina (50 mg de contenido, ketamina en 1 ml, producto de Fuji Chemical Industries, Ltd.) para anestesia.  
35 - Los conejos se sometieron a laparotomía por sección media y se expusieron los lóbulos hepáticos izquierdos y se transectaron pronunciadamente con un escalpelo hasta aproximadamente 1 cm para inducir hemorragia.  
- Después de confirmar la hemorragia exudativa de la incisión, la sangre se eliminó en la medida de lo posible con gasa y la incisión hepática se trató con una solución peptídica acuosa.  
40 - La solución peptídica acuosa gelificada se eliminó 1 minuto después del tratamiento usando una solución salina fisiológica, y se confirmó visualmente la presencia de cualquier hemorragia de la incisión hepática.

<Resultados>

45 La Figura 10 muestra el efecto hemostático de la solución peptídica acuosa en hemorragia de la incisión hepática en este ejemplo. No se observó ninguna gelificación ni ningún efecto hemostático en absoluto cuando se usó la solución peptídica acuosa IEIK9 como la capa superior en la superficie de la herida de hemorragia, pero la solución peptídica acuosa IEIK13 y la solución peptídica acuosa KLD se gelificaron después de aplicarse, y no se observó hemorragia.

50 [Ejemplo 10]

Autoensamblaje de solución peptídica acuosa con bilis de conejo

Se evaluó el autoensamblaje de soluciones peptídicas acuosas con bilis de conejo con diferentes soluciones  
55 peptídicas acuosas.

<Materiales>

• Soluciones peptídicas acuosas

1. Solución peptídica acuosa al 1,5 % (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc.). La solución 1 no forma parte de la invención.
2. Solución peptídica acuosa al 1 % (secuencia peptídica: IEIK9, CPC Scientific, Inc). La solución 2 no forma parte de la invención.
3. Solución peptídica acuosa al 1 % (secuencia peptídica: IEIK13, CPC Scientific, Inc)
4. Solución peptídica acuosa al 1 % (secuencia peptídica: KLD, CPC Scientific, Inc). La solución 4 no forma parte de la invención.

#### 10 • Animales

Conejos blancos japoneses (3,0-4,0 kg, Japan White, convencionales, adquiridos en Funabashi Farm Co., Ltd.). Los animales se criaron con gránulos de cría (JA Higashinohon Kumiai Shiryō) suministrados en una habitación de cría controlada a temperatura ambiente de 25 °C, una humedad del 65 % y un tiempo de iluminación de 12 horas (7:00-19:00), y agua suministrada libremente con una botella de agua. El ayuno fue desde la mañana del día del ensayo, con agua suministrada libremente.

#### <Método>

- A los conejos se les administró por vía subcutánea (3 mg/kg) una inyección al 2 % de Celactar (2,0 g de contenido como xilazina en 100 ml, producto de Bayer Ltd.), y después se les administró por vía intravenosa (10 mg/kg) ketamina (50 mg de contenido, ketamina en 1 ml, producto de Fuji Chemical Industries, Ltd.) para anestesia.
- Los conejos se sometieron a laparotomía por sección media, y se tomaron muestras de bilis de la vesícula biliar usando una aguja de inyección de 23G (Terumo Corp.).
- Se prepararon gotas de cada solución peptídica acuosa antes del autoensamblaje (diámetro: aproximadamente 5-8 mm), y la muestra de bilis se vertió suavemente sobre la misma para cubrir la solución peptídica acuosa.
- Después de aproximadamente 30 segundos la bilis se eliminó y se confirmó el autoensamblaje, y se alteró físicamente el gel autoensamblado con una aguja de inyección de 23G.

#### <Resultados>

La Figura 11 muestra un ejemplo de autoensamblaje de las soluciones peptídicas acuosas en este ejemplo por bilis. Se confirmó el autoensamblaje inducido por bilis en todas las soluciones peptídicas acuosas excepto para IEIK9.

#### [Ejemplo 11] de Referencia

Confirmación del efecto de embolización vascular de una solución peptídica acuosa al 3 % en la embolización de vena porta de rata

Se inyectó una solución peptídica acuosa al 3 % a través de la vena porta de rata, y se evaluó el efecto de la embolización vascular.

#### 45 <Materiales>

- Solución peptídica acuosa al 3 % (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc.)

#### • Animales

Se criaron ratas SD (250 g, macho, adquiridas en Japan SLC, Inc.) en una habitación de cría con control de temperatura/humedad: 22 ± 3 °C/50 ± 20 %, frecuencia de ventilación: 10-15 veces/hora, tiempo de iluminación: iluminación artificial durante 12 horas (8:00-20:00), y se les proporcionó acceso libre a alimento sólido CRF-1 (Oriental Yeast Co., Ltd.) usando un comedero metálico, con agua de grifo puesta a disposición libremente usando un distribuidor de agua automático.

#### <Método>

- Se sometió a las ratas a anestesia por inhalación con éter dietílico (Kishida Chemical Co., Ltd.).

- Las ratas se sometieron a laparotomía por sección media y se expusieron las venas porta.
- Se inyectó una porción de 4 ml de solución peptídica acuosa través del tallo de la vena porta con una aguja de inyección de 26G (Terumo Corp.), y se detuvo inmediatamente la hemorragia del sitio de perforación con una solución peptídica acuosa.
- Los hígados se extrajeron 5 minutos después de la inyección y se fijaron inmediatamente con formalina al 10 % (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.).
- El tejido se tiñó con hematoxilina eosina (HE) 1 semana después de la fijación.

<Resultados>

Como se muestra en la Figura 12, se confirmó la embolización de la vena porta con una solución peptídica acuosa.

[Ejemplo 12] de Referencia

Confirmación de autoensamblaje de iopamidol de disolución de una solución peptídica acuosa. Se evaluó el autoensamblaje de iopamidol de disolución de una solución peptídica acuosa.

<Materiales>

• Solución peptídica acuosa

Solución peptídica acuosa al 3 % (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc.)

- Medio de cultivo celular (medio Eagle modificado por Dulbecco, Gibco)
- Iopamidol (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)

<Método>

- Se disolvieron 306,2 mg de iopamidol en 1 ml de una solución peptídica acuosa al 3 %.
- Se diluyó la solución peptídica acuosa al 3 % que contenía iopamidol con agua MilliQ para preparar una solución peptídica acuosa al 0,0468 %. Se añadió una porción de 300 µl de medio de cultivo celular en 6 porciones, 50 µl cada vez, a 100 µl de la solución peptídica acuosa que contenía iopamidol al 3 % y la solución peptídica acuosa que contenía iopamidol al 0,0468 %, rodeando y poniendo en contacto la solución peptídica acuosa que contenía iopamidol al 3 % y la solución peptídica acuosa que contenía iopamidol al 0,0468 %. 15 minutos después de la adición del medio de cultivo, se eliminó el medio de cultivo circundante y se confirmó visualmente la gelificación.

<Resultados>

Como se muestra en la Figura 13, se confirmó el autoensamblaje con las soluciones peptídicas acuosas que contenían iopamidol.

[Ejemplo 13] de Referencia

Confirmación de autoensamblaje de una solución peptídica acuosa al 3 % que contiene iopamidol después de pase de microcatéter

Se evaluó el autoensamblaje de iopamidol de disolución de una solución peptídica acuosa al 3 %.

<Materiales>

• Solución peptídica acuosa

Solución peptídica acuosa al 3 % (secuencia peptídica: Ac-(RADA)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, CPC Scientific, Inc.)

- Medio de cultivo celular (medio Eagle modificado por Dulbecco, Gibco) • Iopamidol (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)
- Microcatéter (2,4 Fr, 150/20, Boston Scientific)

<Método>

- Se disolvieron 306,2 mg de iopamidol en 1 ml de una solución peptídica acuosa al 3 %.
- La solución peptídica acuosa al 3 % que contenía iopamidol se descargó en el medio de cultivo celular a través de un catéter.

<Resultados>

Como se muestra en la Figura 14, se confirmó el autoensamblaje con una solución peptídica acuosa que contenía iopamidol al 3 %.

Medio de cultivo a través de un catéter.

<Resultados>

Como se muestra en la Figura 14, se confirmó el autoensamblaje con una solución peptídica acuosa que contenía iopamidol al 3 %.

Ciertas formas de realización que no forman parte de la invención se exponen en los siguientes párrafos numerados:

1. Un agente de oclusión tisular que comprende un péptido, en el que el péptido es un péptido anfifílico que tiene 8-200 residuos de aminoácidos con los aminoácidos hidrófilos y aminoácidos hidrófobos unidos de forma alternativa, y es un péptido de autoensamblaje que muestra una estructura  $\beta$  en una solución acuosa a pH fisiológico y/o en presencia de un catión.
2. El agente de oclusión tisular de acuerdo con el párrafo 1, en el que el péptido tiene una secuencia repetitiva que es una secuencia que consiste en arginina, alanina, ácido aspártico y alanina, una secuencia que consiste en isoleucina, ácido glutámico, isoleucina y lisina, o una secuencia que consiste en de lisina, leucina, ácido aspártico y leucina.
3. El agente de oclusión tisular de acuerdo con el párrafo 1 o 2, en el que el péptido consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3.
4. El agente de oclusión tisular de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 3, que comprende además un fármaco de molécula pequeña.
5. El agente de oclusión tisular de acuerdo con el párrafo 4, en el que el fármaco de molécula pequeña se selecciona del grupo que consiste en glucosa, sacarosa, sacarosa purificada, lactosa, maltosa, trehalosa, dextrano, yodo, cloruro de lisozima, dimetilisopropilazuleno, tretinointocofenilo, povidona de yodo, alprostadil alfadex, alcohol de anís, salicilato de isoamilo, alcohol  $\alpha,\alpha$ -dimetilfeniletílico, bacdanol, helional, sulfazina de plata, bucladesina sódica, alprostadil alfadex, sulfato de gentamicina, clorhidrato de tetraciclina, fusidato sódico, mupirocina de calcio hidrato y benzoato de isoamilo.
6. El agente hemostático para la hemorragia de la sangre en una condición de reducción de la función de coagulación inducida por la adición de un anticoagulante, que comprende el agente de oclusión tisular de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 5.
7. El agente hemostático para una superficie de herida de hemorragia de un órgano parenquimatoso, que comprende el agente de oclusión tisular de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 5.
8. El agente hemostático para hemorragia arterial y fleborragia, que comprende el agente de oclusión tisular de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 5.
9. Un agente para prevenir la filtración de bilis de la vesícula biliar o el conducto biliar, que comprende el agente de oclusión tisular de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 5.
10. Un agente para prevenir la hemorragia o la filtración de aire de los pulmones, que comprende el agente de oclusión tisular de acuerdo con cualquiera de los párrafos 1 a 5.
11. Una infusión de tejido de la mucosa para elevar un sitio de escisión en la demucosación endoscópica, comprendiendo la infusión el agente de oclusión tisular de acuerdo con cualquiera de los párrafos 1 a 5.
12. Un agente para prevenir la hemorragia y la filtración de fluidos corporales de un sitio de escisión en un método de escisión de una sección de tejido de la mucosa que se ha elevado mediante la infusión de un líquido en el tejido de la mucosa, comprendiendo el agente, el agente de oclusión tisular de acuerdo con cualquiera de apartados 1 a 5.
13. Un agente hemostático aplicable para la aplicación transcatéter para hemostasia de un sitio de escisión en la demucosación endoscópica, comprendiendo el agente, el agente de oclusión tisular de acuerdo con cualquiera de los párrafos 1 a 5.
14. Un agente de oclusión arteriovenosa para la oclusión arteriovenosa o un agente de escleroterapia de varices para la escleroterapia de varices, que comprende el agente de oclusión tisular de acuerdo con

cualquiera de los párrafos 1 a 5.

15. Un agente de oclusión arteriovenoso para la oclusión arteriovenosa o un agente de escleroterapia de varices para la escleroterapia de varices de acuerdo con el párrafo 14, que comprende además un agente contra el cáncer y/o un agente de contraste.

5

**LISTA DE SECUENCIAS**

<110> 3-D Matrix, Ltd.

10

<120> Agente de oclusión tisular

<130> FP3240PCT

<140> EP 09819170

15

<141> 10-06-2009

<150> JP 20080259860

<151> 2008-10-06

20

<150> JP 20080316133

<151> 12-11-2008

<160> 4

25

<170> PatentIn versión 3.1

<210> 1

<211> 16

30

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido diseñado

35

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (1)..(1)

<223> ACETILACIÓN

40

<400> 1

Arg Ala Asp Ala Arg Ala Asp Ala Arg Ala Asp Ala Arg Ala Asp Ala  
1 5 10 15

<210> 2

45

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

50

<223> Péptido diseñado

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (1)..(1)

55

<223> ACETILACIÓN

<400> 2

Ile Glu Ile Lys Ile Glu Ile Lys Ile Glu Ile Lys Ile  
1 5 10

$\langle 210 \rangle$  3

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> péptido diseñado

$\langle 220 \rangle$

<221> MOD\_RES

 $\langle 222 \rangle (1) \dots (\bar{1})$ 

## <223> ACETILACIÓN

<400> 3

Lys Leu Asp Leu Lys Leu Asp Leu Lys Leu Asp Leu  
1 5 10

<210> 4

<211> 9

&lt;212&gt; PRT

<213> Artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> Péptido diseñado

$\langle 220 \rangle$

<221> MOD\_RES

 $\langle 222 \rangle \quad (1) \dots (\bar{1})$ 

## <223> ACETILACIÓN

<400> 4

Ile Glu Ile Lys Ile Glu Ile Lys Ile  
1 5

# REIVINDICACIONES

1. Una composición de oclusión tisular que comprende un péptido que consisten en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.
2. La composición de la reivindicación 1, en la que el péptido es IEIK13 que tiene la secuencia (Ac-(IEIK)<sub>3</sub>-CONH<sub>2</sub>).
3. La composición de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que comprende además un fármaco de molécula pequeña.
4. La composición de la reivindicación 3, en la que el fármaco de molécula pequeña se selecciona del grupo que consiste en glucosa, sacarosa, sacarosa purificada, lactosa, maltosa, trehalosa, dextrano, yodo, cloruro de lisozima, dimetilisopropilazuleno, tretinoinato, povidona de yodo, alprostadil alfadex, alcohol de anís, salicilato de isoamilo, alcohol  $\alpha,\alpha$ -dimetilfeniletilico, bacdanol, helional, sulfazina de plata, bucladesina sódica, alprostadil alfadex, sulfato de gentamicina, clorhidrato de tetraciclina, fusidato sódico, mupirocina de calcio hidrato y benzoato de isoamilo.
5. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que es una solución acuosa, opcionalmente en la que la solución comprende del 1-3 % del péptido.
6. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 en forma de polvo.
7. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 en forma de un hidrogel.
8. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 que muestra una estructura de lámina  $\beta$  en una solución acuosa a pH fisiológico y/o en presencia de un catión, opcionalmente en la que dicho pH fisiológico está en el intervalo de pH 6 a 8, y/o dicho catión es un ión sodio o un ión potasio en una cantidad de 5 mM a 5 M.
9. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para su uso en un método para ocluir un sitio de filtración de fluido del que se ha eliminado el exceso de fluido corporal.
10. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para su uso en un método de hemostasia, opcionalmente en el tratamiento de: (a) hemorragia de la sangre en una condición de reducción de la función de coagulación inducida por la adición de un anticoagulante; o (b) superficie de herida de hemorragia de un órgano parenquimatoso; o (c) hemorragia arterial; o (d) fleborragia.
11. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para su uso en un método para:
  - (a) evitar la filtración de bilis desde la vesícula biliar o el conducto biliar; o
  - (b) prevenir la hemorragia o la filtración de aire de los pulmones; o
  - (c) elevar un sitio de escisión en la demucosación endoscópica; o
  - (d) prevenir la hemorragia y la filtración de fluidos corporales de un sitio de escisión en un método de escisión de una sección de tejido de la mucosa que se ha elevado mediante la infusión de un líquido en el tejido de la mucosa.
12. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para su uso como un agente hemostático para la hemostasia de un sitio de escisión en la demucosación endoscópica, en la que la composición se administra mediante una aplicación de transcatéter.
13. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para su uso como un agente de oclusión arteriovenosa para la oclusión arteriovenosa o como un agente de escleroterapia de varices para la escleroterapia de varices, opcionalmente en la que: (a) la variz es una variz esofágica y/o (b) la composición comprende además un agente contra el cáncer y/o un agente de contraste.
14. Una gasa, vendaje o revestimiento que comprende la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8.
15. Un pulverizador atomizador que comprende la composición de la reivindicación 5 o la reivindicación 6.

16. Una jeringa precargada que comprende la composición de la reivindicación 5.

Fig. 1

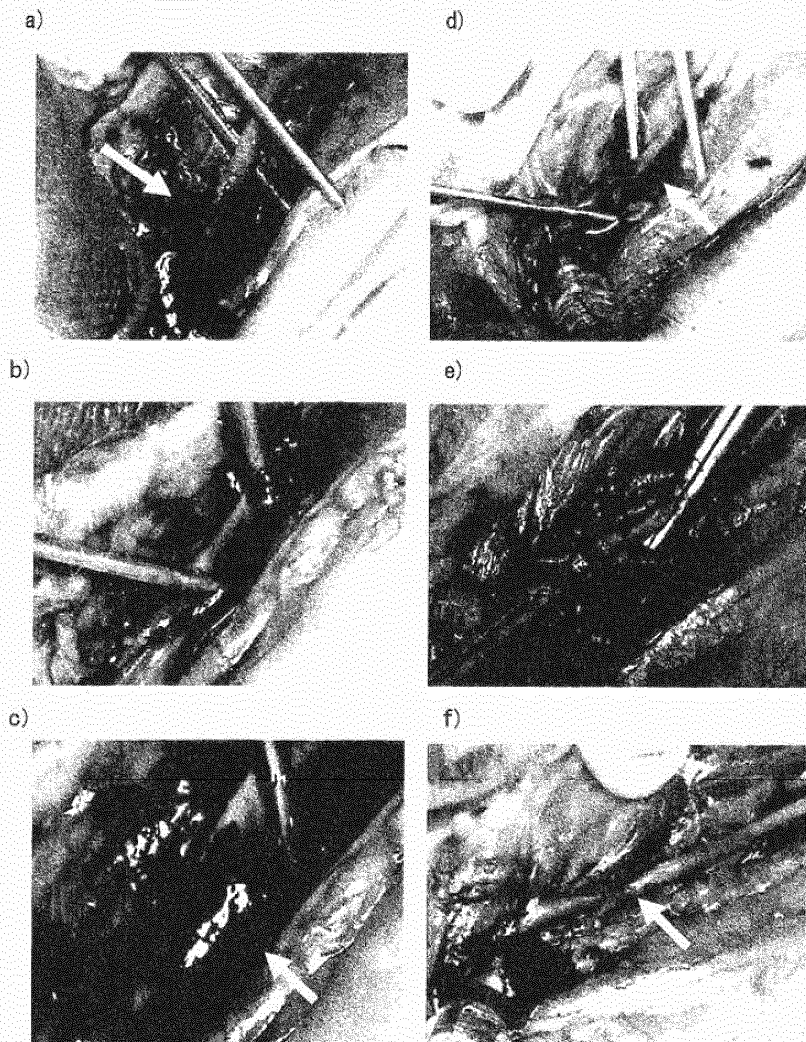


Fig. 2

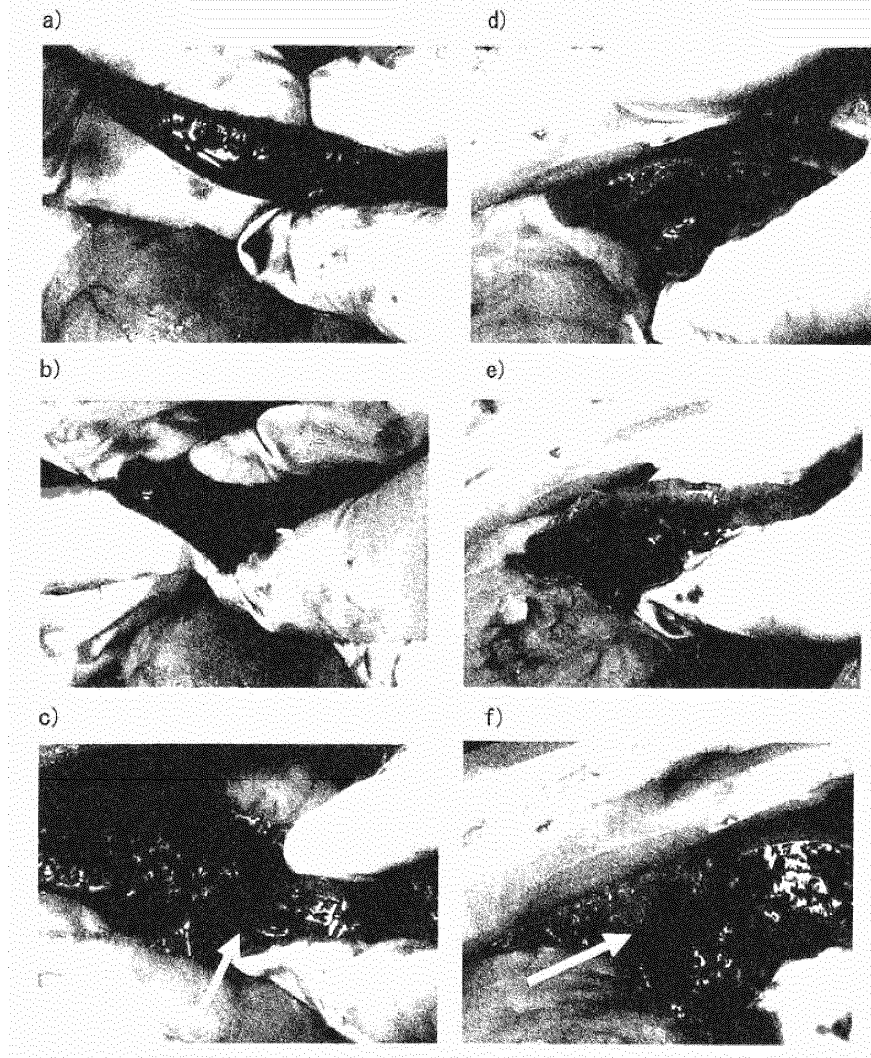


Fig. 3

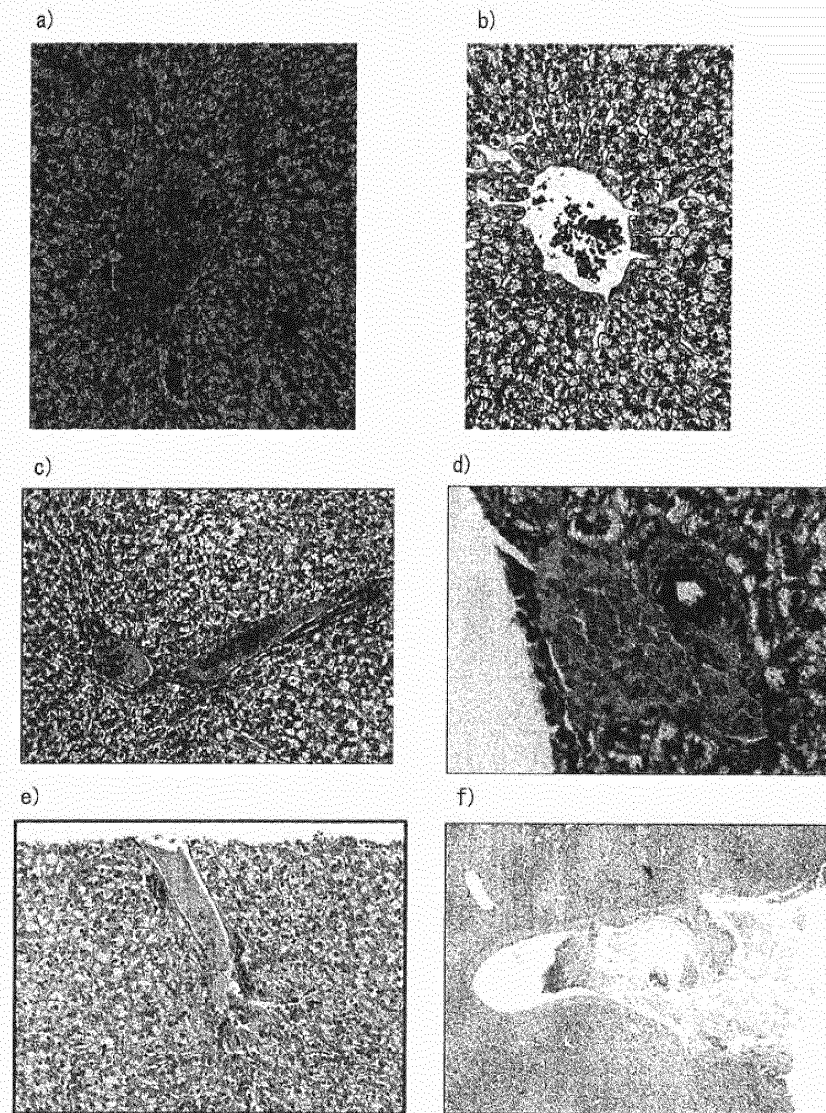
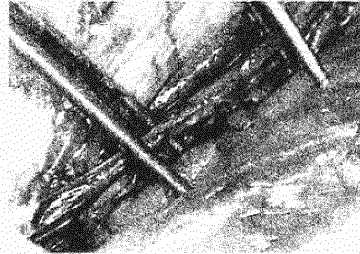
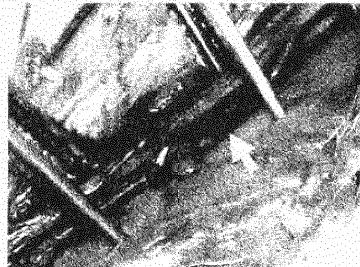


Fig. 4

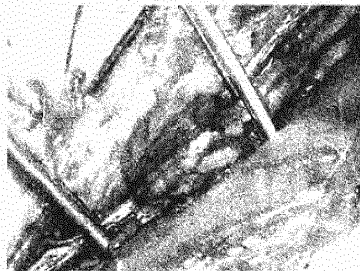
a)



b)



c)



d)

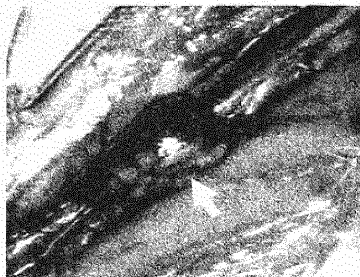
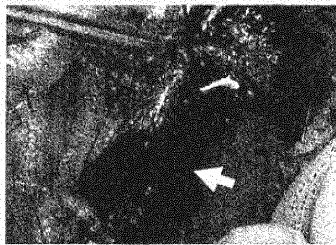


Fig. 5

a)



b)



c)



d)

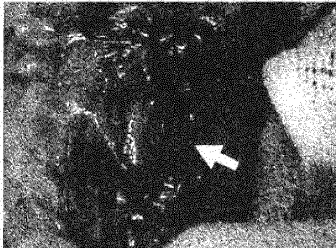


Fig. 6

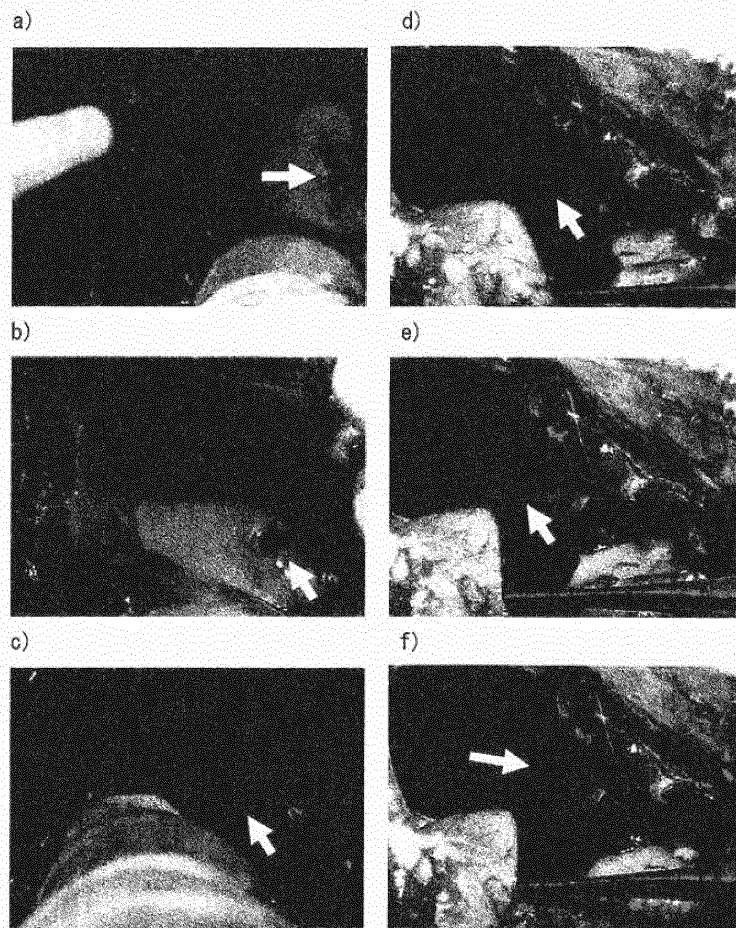


Fig. 7

a)



b)



c)



d)



Fig. 8

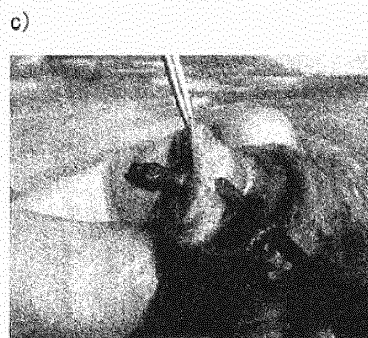
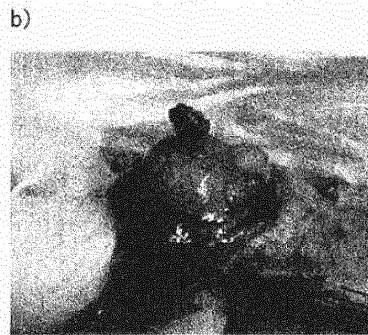
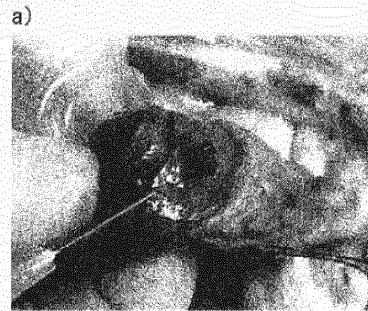


Fig. 9

a)



b)



c)



Fig. 10

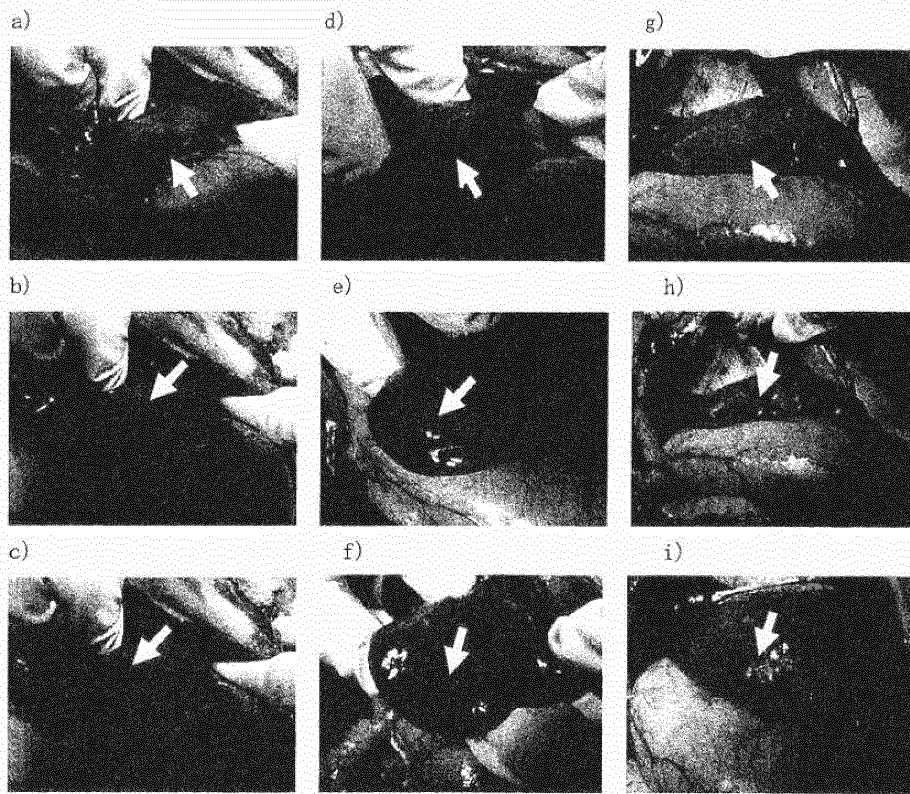


Fig. 11

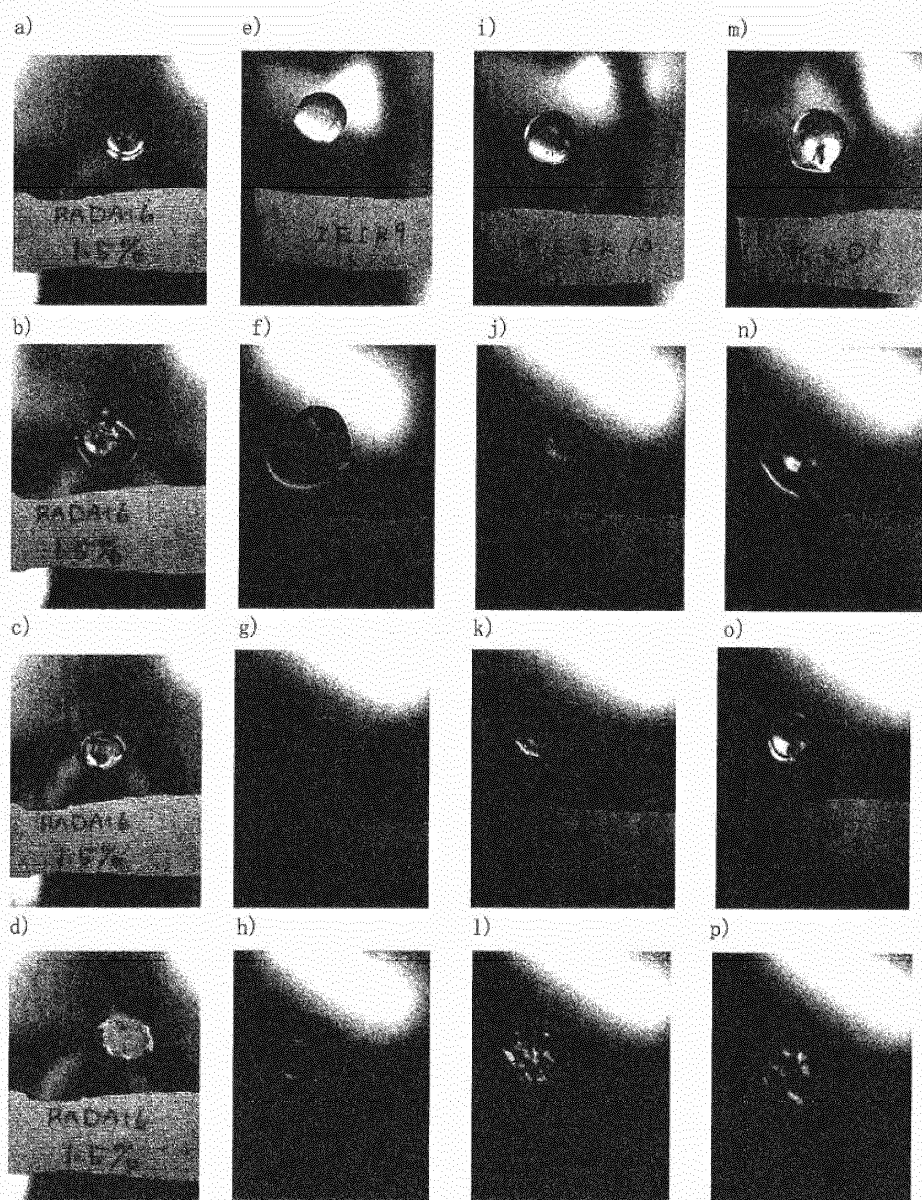
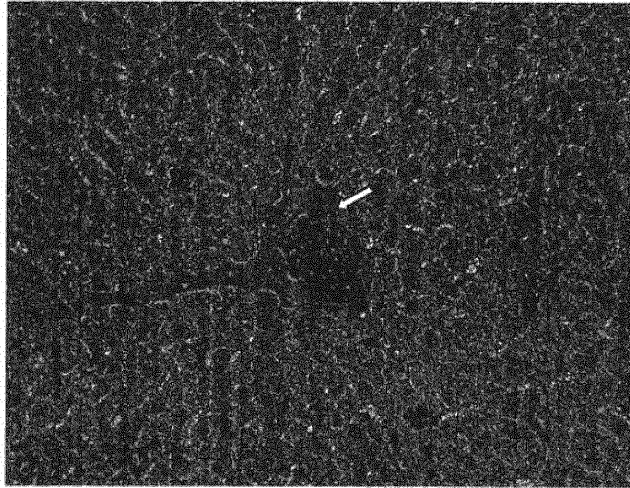


Fig. 12

a)



b)

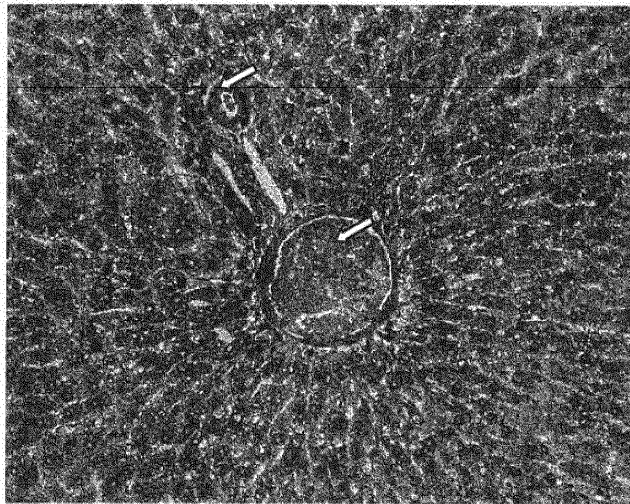


Fig. 13

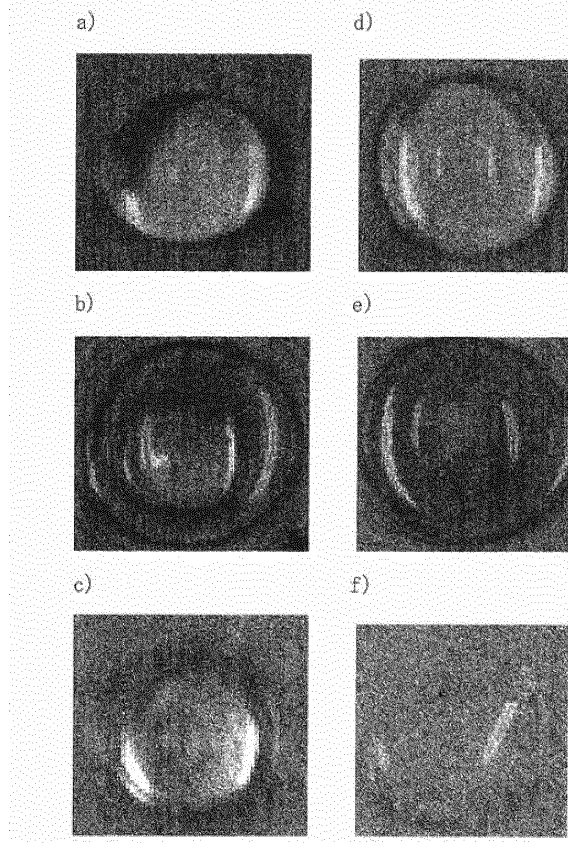


Fig. 14

