

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 703 438**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00	(2006.01)
A61L 31/04	(2006.01)
A61L 29/04	(2006.01)
A61K 47/42	(2007.01)
A61L 24/10	(2006.01)
C09J 189/00	(2006.01)
A61L 24/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.08.2003 PCT/US2003/024457**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **12.02.2004 WO04012678**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.08.2003 E 03767198 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.09.2018 EP 1545411**

54 Título: **Composiciones proteicas de fase reversible biocompatible y métodos para prepararlas y usarlas**

30 Prioridad:

06.08.2002 US 401282 P
13.09.2002 US 243482

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.03.2019

73 Titular/es:

BAXTER INTERNATIONAL, INC. (100.0%)
One Baxter Parkway
Deerfield, IL 60015, US

72 Inventor/es:

SCHANKERELI, KEMAL y
DIECK, RONALD

74 Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

ES 2 703 438 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

Composiciones proteicas de fase reversible biocompatible y métodos para prepararlas y usarlas

5 INTRODUCCIÓN

Campo de la invención

10 El campo de esta invención son las composiciones de fase reversible biocompatibles, que incluyen composiciones sellantes biocompatibles.

Antecedentes de la invención

15 Recientemente, varias composiciones sellantes se han vuelto disponibles para controlar las fugas de fluido en un sitio quirúrgico, así como para otras aplicaciones. Sin embargo, las composiciones sellantes disponibles actualmente pueden sufrir serias limitaciones con respecto al campo en el que se pueden usar, así como su biocompatibilidad y sus propiedades físicas. Los efectos secundarios, como la inflamación, la formación fibrosa aguda en el sitio de la herida, la toxicidad, la incapacidad de utilizarse en un campo sangriento, las propiedades físicas deficientes del sellante y la mala adhesión al sitio quirúrgico, pueden tener un impacto grave en el paciente y, en consecuencia, pueden desempeñar un papel importante en la eficacia a largo plazo de la reparación. Además, los sellantes útiles tienen propiedades que pueden hacerlos más efectivos para la aplicación quirúrgica. Las características, como la capacidad de localizarse en una ubicación específica, los tiempos de polimerización adecuadamente largos o cortos y las características de reabsorción in vivo adecuadas, son vitales para completar con éxito el procedimiento de sellado.

25 El documento EP1043034 A describe composiciones de fase reversible biocompatibles que comprenden un sustrato fluido de material proteico y glutaraldehído como agente de reticulación.

30 Como tal, existe una necesidad continua de desarrollar nuevas composiciones biocompatibles para su uso como sellantes, así como para su uso en otras aplicaciones.

Sumario de la invención

35 Se proporcionan composiciones proteicas de fase reversible biocompatibles y métodos para prepararlas y usarlas. Las composiciones de fase reversible en cuestión se preparan combinando un sustrato proteico y un reticulante. El sustrato proteico incluye una o más proteínas y un modificador de la adhesión, y también puede incluir uno o más de: un plastificante, un carbohidrato u otro agente de modificación. El reticulante es un glutaraldehído tratado térmicamente. También se proporcionan kits para su uso en la preparación de las composiciones en cuestión. Las composiciones en cuestión, los kits y los sistemas se utilizan en una variedad de aplicaciones diferentes.

40

Breve descripción de las figuras

Las Figuras 1A a 1E ilustran la producción *in situ* de una endoprótesis vascular de biocompuesto de acuerdo con realizaciones representativas de la presente invención.

45 La Figura 2 proporciona una representación de una realización alternativa de un dispositivo de administración según la presente invención.

Descripción de las realizaciones específicas

50 Se proporcionan composiciones proteicas de fase reversible biocompatibles y métodos para prepararlas y usarlas. Las composiciones de fase reversible en cuestión se preparan combinando un sustrato proteico y un reticulante. El sustrato proteico incluye una o más proteínas y un modificador de la adhesión, y también puede incluir uno o más de: un plastificante, un carbohidrato u otro agente de modificación. El reticulante es un glutaraldehído tratado térmicamente. También se proporcionan kits para su uso en la preparación de las composiciones en cuestión. Las composiciones en cuestión, los kits y los sistemas se utilizan en una variedad de aplicaciones diferentes.

55

Antes de que se describa con más detalle el objeto de la invención, debe entenderse que la invención no está limitada a las realizaciones particulares de la invención descritas a continuación, ya que se pueden realizar variaciones de las realizaciones particulares y aún están dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. También debe entenderse que la terminología empleada tiene el propósito de describir realizaciones particulares, y no pretende ser limitante. En su lugar, el alcance de la presente invención se establecerá mediante las reivindicaciones adjuntas.

60

En esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen referencias plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que

65

entiende comúnmente un experto en la materia a la que pertenece esta invención.

5 Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que dentro de la invención se engloba cada valor intermedio, hasta la décima parte de la unidad del límite inferior, a menos que el contexto indique claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor declarado o intermedio en ese intervalo indicado. Los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños pueden incluirse independientemente en los intervalos más pequeños, y también se incluyen dentro de la invención, sujeto a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo establecido. Cuando el intervalo indicado incluye uno o 10 ambos límites, los intervalos que excluyen cualquiera o ambos de los límites incluidos también se incluyen en la invención.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la materia a la que pertenece esta invención. Aunque cualquier método, dispositivos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente 15 documento se pueden usar en la práctica o prueba de la invención, ahora se describen los métodos, dispositivos y materiales preferidos.

En una descripción más detallada de la presente invención, primero se describen con mayor detalle las composiciones de fase reversible en cuestión, seguidas de una revisión de las aplicaciones representativas en las que las composiciones encuentran uso, así como una revisión de los kits y sistemas que encuentran uso en la 20 fabricación o el uso de las composiciones de fase reversible en cuestión.

COMPOSICIÓN PROTEICA DE FASE REVERSIBLE BIOCOMPATIBLE

25 Como se ha resumido anteriormente, la presente invención proporciona una composición proteica de fase reversible biocompatible que, con el tiempo, experimenta una inversión de fase desde un primer estado fluido hasta un segundo estado sólido. Las composiciones de fase reversible en cuestión se caracterizan por ser capaces de unir tejidos tanto en ambientes húmedos (por ejemplo, en sangre) como secos, donde la adhesión de la composición al tejido es excepcionalmente fuerte. Una característica adicional de las composiciones en cuestión es que son bien 30 toleradas y no provocan una respuesta inflamatoria sustancial, si la hay.

Las composiciones proteicas de fase reversible en cuestión se preparan combinando o mezclando un sustrato proteico con un agente de reticulación. Cada uno de estos componentes o composiciones precursores se revisa ahora por separado con mayor detalle. 35

Sustrato proteico

El sustrato proteico a partir del cual se preparan las composiciones de fase reversible en cuestión generalmente es una composición fluida, por ejemplo, una composición acuosa que está compuesta por al menos un componente 40 proteico y un modificador de la adhesión, donde el sustrato puede incluir uno o más componentes adicionales incluyendo, pero no limitado a: un plastificante; y un carbohidrato.

Componente proteico

45 El componente proteico del sustrato está formado por una o más proteínas distintas. Las proteínas de este componente pueden ser proteínas sintéticas o naturales, donde las proteínas pueden obtenerse/prepararse usando cualquier protocolo conveniente, por ejemplo, purificación a partir de fuentes naturales, producción recombinante, producción sintética, donde en ciertas realizaciones las proteínas se obtienen de fuentes naturales, por ejemplo, fuentes bovinas o humanas. Las proteínas específicas de interés incluyen, pero no se limitan a: albúminas, 50 colágenos, elastinas y fibrinas.

La cantidad de proteína en la composición del sustrato puede variar, donde la selección específica de la concentración depende de la aplicación deseada y los parámetros del producto deseados, como la tenacidad, dureza, elasticidad, características de reabsorción y efectos de agregación plaquetaria. En ciertas realizaciones, la 55 concentración total de proteína total en las composiciones de sustrato oscila de aproximadamente el 1 al 75 % (p/p), tal como el 1-50 % (p/p), incluyendo del 5 al 40 % (p/p).

En ciertas realizaciones, la proteína primaria de la composición de sustrato de esta realización es albúmina, donde la albúmina puede ser una albúmina natural, por ejemplo, albúmina humana y albúmina bovina, o una variante de la misma. Como se sabe en la técnica, la albúmina se puede comprar en forma de polvo y a continuación solubilizarse 60 en una suspensión acuosa, o alternativamente, se puede comprar en forma acuosa. La albúmina purificada se puede obtener de una cualquiera de varias fuentes diferentes, incluyendo fuentes bovinas, ovinas, equinas, humanas o aviares de acuerdo con métodos bien conocidos (ref.: Cohn et. Al, J. Amer. Chem. Soc. 69: 1753) o puede comprarse en forma purificada de un proveedor, como Aldrich Chemical (St. Louis, MO), en forma liofilizada o acuosa. La albúmina se puede derivar para actuar como vehículo de medicamentos, como sulfato de heparina, factores de crecimiento, antibióticos, o se puede modificar en un esfuerzo por moderar la viscosidad o la hidrofilia. La 65

derivación usando agentes acilantes, tales como, pero no limitados a, anhídrido succínico y cloruros de laurilo, son útiles para la producción de sitios de unión para la adición de moléculas útiles. En estas realizaciones en las que el componente proteico incluye albúmina, la albúmina puede estar presente en concentraciones que oscilan desde aproximadamente el 10 a aproximadamente el 50 % (p/p), tal como desde aproximadamente el 30 a aproximadamente el 40 % (p/p).

En ciertas realizaciones, el componente proteico también incluye un colágeno, por ejemplo, un colágeno natural (humano, bovino) o una variante sintética del mismo. De acuerdo con la invención, el colágeno puede estar en forma seca o acuosa cuando se mezcla con la albúmina. El colágeno puede ser derivado para aumentar su utilidad. Se ha encontrado que los agentes acilantes, como los anhídridos o los cloruros de ácido, producen sitios útiles para la unión de moléculas como factores de crecimiento y antibióticos. Cuando está presente, el colágeno a veces oscila de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 20 % (p/p), incluyendo de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 10 % (p/p), tal como de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 4 % (p/p), incluyendo de aproximadamente el 2 al 4 % (p/p).

El componente proteico en cuestión, como se describe anteriormente, puede o puede no incluir uno o más agentes activos, por ejemplo, fármacos, presentes en él, según se desee. Cuando está presente, el agente(s) puede unirse a los polímeros, según se desee.

Modificador de la adhesión

También está presente en el sustrato uno o más modificadores de la adhesión o agentes de pegajosidad. Los modificadores de la adhesión (también denominados en el presente documento como agentes de pegajosidad) mejoran la adherencia del sellante a la superficie biológica. En muchas realizaciones, los modificadores de la adhesión son compuestos poliméricos que tienen funcionalidades cargadas, por ejemplo, aminas. Mientras que pueden usarse numerosos modificadores de la adhesión, uno de aplicación particular es la polietilenimina (PEI). La PEI es un polímero alquílico de cadena larga que contiene aminas primarias, secundarias y terciarias. La presencia de estos grupos altamente iónicos da como resultado una unión significativa a través de interacciones iónicas con la superficie subyacente. Además, la presencia de PEI en el sustrato mejora significativamente la presencia de terminales de amina adecuados para producir enlaces cruzados con el agente de reticulación. Los modificadores de la adhesión adicionales de interés incluyen, pero no se limitan a: gelatina, carboximetilcelulosa y butilhidroxitolueno.

En ciertas realizaciones de la invención, los modificadores de la adhesión se usan para modificar la adhesión al sustrato biológico mientras se crea simultáneamente un procoagulante. En ciertas realizaciones, los modificadores de la adhesión están presentes en concentraciones de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 10 % (p/p), tal como de aproximadamente el 0,5 a aproximadamente el 4 % (p/p).

Componentes opcionales

El componente de sustrato descrito anteriormente de las composiciones en cuestión puede incluir, en ciertas realizaciones, uno o más componentes opcionales que modifican las propiedades de la composición de fase reversible producida a partir del sustrato y reticulante. Los componentes opcionales representativos de interés se describen ahora con mayor detalle a continuación.

Agentes plastificantes

De acuerdo con la invención, puede haber presente un agente plastificante en el sustrato. El agente plastificante proporciona varias funciones, incluida la humectación de una superficie, o alternativamente, el aumento del módulo elástico del material, o aún más, ayudar en la mezcla y aplicación del material. Existen numerosos agentes plastificantes, incluyendo ácidos grasos, por ejemplo, ácido oleico y ácido palmítico, ftalato de dioctilo, fosfolípidos y ácido fosfatídico. Debido a que los plastificantes suelen ser sustancias orgánicas insolubles en agua y no son fácilmente miscibles con agua, a veces es ventajoso modificar su miscibilidad con agua, mezclando previamente el plastificante apropiado con un alcohol para reducir la tensión superficial asociada con la solución. Para este fin, se puede utilizar cualquier alcohol. En una realización representativa de esta invención, el ácido oleico se mezcla con etanol para formar una solución al 50 % (p/p) y a continuación esta solución se usa para plastificar el sustrato proteico durante el proceso de formulación. Mientras que el tipo y la concentración del agente plastificante dependen de la aplicación, en ciertas realizaciones, la concentración final del agente plastificante es de aproximadamente el 0,01 al 10 % (p/p), incluyendo de aproximadamente el 2 a aproximadamente el 4 % (p/p). Otros agentes plastificantes de interés incluyen, pero no se limitan a: polietilenglicol, glicerina y butilhidroxitolueno.

Procoagulante de carbohidratos

En ciertas realizaciones, los sustratos incluyen un procoagulante de carbohidratos. El quitosano y los derivados del quitosano son potentes coaguladores de la sangre y, por lo tanto, son beneficiosos en la formulación de materiales sellantes capaces de sellar lesiones vasculares. Si bien se ha demostrado que prácticamente todos los materiales de quitina tienen cierta actividad procoagulante, de acuerdo con la invención, el uso de quitina acetilada es preferible

como aditivo para la formulación de sellante destinado al control de la sangre. La acetilación de la molécula se puede conseguir de varias maneras diferentes, pero un método común es el tratamiento de mezclas de quitosano/ácido acético con anhídridos de ácido, como succínico. Esta reacción se lleva a cabo fácilmente a temperatura ambiente. De acuerdo con la invención, los geles creados de esta manera combinados con sustratos proteicos y reticulados *in situ* son beneficiosos para la creación de un elemento estructural de biocompuesto. Según las enseñanzas de esta invención, el componente de carbohidrato, por ejemplo, quitosano, puede estar presente en concentraciones que oscilan de aproximadamente el 0 a aproximadamente el 20 %, tal como de aproximadamente el 2 a aproximadamente el 5 % (p/p).

10 Cargas

Las cargas de interés incluyen cargas reforzantes y no reforzantes. Se pueden incluir cargas reforzantes, como seda fibrosa cortada, poliéster, PTFE, NYLON, fibras de carbono, polipropileno, poliuretano y vidrio. Las fibras pueden modificarse, por ejemplo, como se describe anteriormente para los otros componentes, como se desee, por ejemplo, para aumentar, por ejemplo, la humectabilidad y la capacidad de mezcla. Las cargas reforzantes pueden estar presentes desde aproximadamente el 0 al 40 %, tal como desde aproximadamente el 10 a aproximadamente el 30 %. También se pueden incluir cargas no reforzantes, por ejemplo, arcilla, mica, hidroxiapatita, sulfato de calcio y virutas de hueso. Cuando se desee, estas cargas también pueden modificarse, por ejemplo, como se describe anteriormente. Las cargas no reforzantes pueden estar presentes desde aproximadamente el 0 al 40 %, tal como desde aproximadamente el 10 a aproximadamente el 30 %.

Agentes biológicamente activos

Se pueden incluir agentes biológicamente activos, por ejemplo, factores de crecimiento óseo, activadores de tejidos, activadores de crecimiento de cartílago y agentes activos de moléculas pequeñas.

Agente espumante

En ciertas realizaciones, el sustrato puede incluir un agente espumante que, al combinarse con la composición reticulante, da como resultado una composición espumante, por ejemplo, una composición que incluye burbujas de aire gaseosas intercaladas alrededor. Puede estar presente cualquier agente espumante conveniente, donde el agente espumante puede ser un agente que, al entrar en contacto con la composición de reticulación, produce un gas que proporciona la generación de burbujas y, por lo tanto, las características de espumación deseadas de la composición. Por ejemplo, en el sustrato puede estar presente una sal tal como bicarbonato de sodio en una cantidad que oscila de aproximadamente el 2 a aproximadamente el 5 % en p/p. Tras la combinación del sustrato con una composición de reticulante ácido, por ejemplo, que tiene un pH de aproximadamente 5, se produce una composición espumante.

Modificadores adicionales

También pueden estar presentes modificadores adicionales. Por ejemplo, pueden estar presentes mezclas de uno o más polímeros (por ejemplo, mezclas plásticas), como teflón, PET, NYLON, hidrogeles y polipropileno. Las mezclas plásticas pueden modificarse, por ejemplo, como se describe anteriormente, para proporcionar las propiedades deseadas. Estos modificadores adicionales pueden estar presentes en cantidades que van desde aproximadamente el 0 al 50 %, incluyendo desde aproximadamente el 10 a aproximadamente el 30 %.

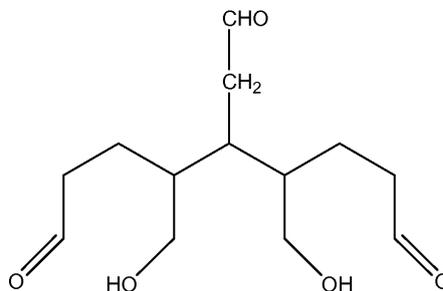
Reticulante y su preparación

Como se ha indicado anteriormente, la composición de fase reversible se produce combinando un sustrato proteico, como se describe anteriormente, con un reticulante de glutaraldehído estabilizado térmicamente, donde el reticulante estabiliza el sustrato proteico, por ejemplo, formando enlaces covalentes entre las funcionalidades presentes en diferentes hebras polipeptídicas del sustrato proteico. La reticulación normalmente hace que las moléculas de la composición sean menos susceptibles a la degradación química, y como tal modifica las características de resorción de la composición, así como las respuestas biológicas inducidas por la presencia de la composición.

El reticulante de aldehído se pretrata para producir un reticulante de glutaraldehído estabilizado. Para producir un reticulante de glutaraldehído estabilizado, primero se mezcla una cantidad de glutaraldehído con agua a un pH particular para producir una composición acuosa de glutaraldehído, donde la concentración de glutaraldehído en esta composición normalmente oscila de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 20 % (p/p), incluyendo de aproximadamente el 7 a aproximadamente el 12 % (p/p), y el pH oscila de aproximadamente 5 a aproximadamente 10, incluyendo de aproximadamente 6 a aproximadamente 8, por ejemplo, aproximadamente 7. Al producir un reticulante estabilizado, la composición acuosa inicial de glutaraldehído se calienta entonces a una temperatura durante un período de tiempo suficiente para producir el reticulante estabilizado deseado. En esta etapa, la composición se mantiene a una temperatura de aproximadamente 35 a aproximadamente 60 °C, tal como de aproximadamente 45 a aproximadamente 55 °C, durante un período de tiempo que oscila de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 días, por ejemplo, de aproximadamente 1 a aproximadamente 14 días, incluyendo de

aproximadamente 72 a aproximadamente 120 horas. Esta etapa se puede realizar a través de cualquier protocolo conveniente, por ejemplo, calentando la composición acuosa inicial bajo una atmósfera de nitrógeno. El reticulante producto está presente en forma estabilizada. Por ejemplo, el glutaraldehído tratado térmicamente de esta manera está presente como complejo de piridinio descrito por la fórmula:

5



Después del calentamiento, la composición resultante se enfría a temperatura ambiente y a continuación se usa como reticulante para el sustrato proteico. Una característica del agente de reticulación tratado térmicamente es que no se requieren agentes reductores adicionales para estabilizar el producto reticulado tras su uso, ya que el agente de reticulación tratado térmicamente está electrovalentemente en forma estable.

10

Los beneficios de usar los reticulantes tratados térmicamente en cuestión incluyen la característica de que las reticulaciones producidas utilizando glutaraldehídos tratados térmicamente son estructuras unidas covalentemente y no son susceptibles de reversión. Por lo tanto, las proteínas reticuladas que utilizan glutaraldehído tratado térmicamente son más estables y no muestran las intensas respuestas inflamatorias observadas como resultado de la reversión de las reticulaciones cuando se usan glutaraldehídos no tratados con calor.

15

Tampón

20

Tras la mezcla del sustrato proteico y el reticulante para producir la composición de fase reversible en cuestión, es importante tamponar la composición de fase reversible por varias razones, por ejemplo, para optimizar la fuerza de unión de la composición a la superficie de unión o para optimizar las condiciones necesarias para que se produzca la reticulación interna. Por ejemplo, la reticulación óptima para proteínas que usan reticulantes de glutaraldehído se produce en un intervalo de pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 8. Los tampones capaces de mantener este intervalo son útiles en esta invención, siempre que no interfieran con el terminal carbonilo del reticulante o modifiquen la amina terminal de los aminoácidos. Por ejemplo, los tampones de fosfato tienen un valor pKa en el intervalo de pH 7,0 y no interfieren con el proceso de reticulación porque no contienen funcionalidades carboxílicas o aminas. El tampón de fosfato de una concentración de hasta 1 M es adecuado para su uso como tampón en la presente invención, cuando en ciertas realizaciones, el tampón de fosfato tiene una concentración de aproximadamente 0,2 M. Si bien el tampón de fosfato de las soluciones es ideal para la estabilidad del sustrato proteico en aplicaciones donde se requiere una mayor adhesión, también se puede usar un tampón ácido. Se ha encontrado que los tampones de citrato 0,1-1 M y que tienen un intervalo de pH de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 6,5 son útiles para esta invención.

25

30

35

El tampón puede estar presente en el componente de reticulante inicial o en el componente de sustrato proteico inicial, o presente en ambos componentes, según se desee.

Combinación de sustrato y agente de reticulación para producir una composición de fase reversible

40

Tal como se ha resumido anteriormente, las presentes composiciones de fase reversible se preparan combinando un sustrato proteico y un reticulante en cantidades apropiadas y en condiciones suficientes para que se produzca la composición de fase reversible. El sustrato y el reticulante normalmente se combinan en una relación (v/v) que oscila de aproximadamente 1/5 a aproximadamente 5/1; de este modo se produce una composición de fase reversible resultante en la que la concentración de proteína total normalmente oscila de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 60 %, tal como de aproximadamente el 20 a aproximadamente el 50 %, incluyendo de aproximadamente el 30 a aproximadamente el 40 % y las composiciones de reticulante totales normalmente oscilan de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 20 %, tal como de aproximadamente el 0,5 a aproximadamente el 15 %, incluyendo de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 10 %.

50

La combinación del sustrato y el agente de reticulación generalmente se produce bajo condiciones de mezcla, de manera que los dos componentes se combinan o se mezclan completamente entre sí. La combinación o mezcla se puede llevar a cabo utilizando cualquier protocolo conveniente, por ejemplo, combinando manualmente dos componentes o empleando un dispositivo que combine los dos componentes. La combinación o mezcla normalmente se lleva a cabo a una temperatura que oscila entre aproximadamente 20 y aproximadamente 40 °C, tal como a temperatura ambiente.

55

La combinación del sustrato proteico y el agente de reticulación como se ha descrito anteriormente da como resultado la producción de una composición de fase reversible. Por composición de fase reversible se entiende una composición que pasa desde un primer estado fluido a un segundo estado no fluido, por ejemplo, gel o estado sólido. En el segundo estado no fluido, la composición es sustancial, cuando no completamente, incapaz de flujo de fluido. La composición de fase reversible normalmente permanece en estado fluido, después de la combinación del sustrato y los componentes del reticulante, durante un período de tiempo que oscila de aproximadamente 10 segundos a aproximadamente 10 minutos, tal como de aproximadamente 20 segundos a aproximadamente 5 minutos, incluyendo de aproximadamente 30 segundos a aproximadamente 120 segundos, cuando se mantiene a una temperatura que oscila entre aproximadamente 15 °C y aproximadamente 40 °C, tal como desde aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C.

Métodos

Las composiciones de fase reversible biocompatibles en cuestión normalmente se emplean en métodos en los que se administra una cantidad de la composición de fase reversible a un sitio o ubicación particular de un sujeto, paciente u hospedador que lo necesite. El sujeto, paciente u hospedador normalmente es un "mamífero", donde este término se usa ampliamente para describir organismos que están dentro de la clase de los mamíferos, incluidos, entre otros, los órdenes carnívoro (por ejemplo, perros y gatos), rodentia (por ejemplo, ratones, cobayas y ratas), lagomorfos (por ejemplo, conejos) y primates (por ejemplo, seres humanos, chimpancés y monos). En muchas realizaciones, los animales u hospedadores, es decir, los sujetos (también denominados pacientes en este documento) serán seres humanos.

La cantidad que se administra al sujeto en cualquier aplicación dada necesariamente variará dependiendo de la naturaleza de la aplicación y el uso de la composición, pero en ciertas realizaciones representativas oscila de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 ml, tal como de aproximadamente 1 a aproximadamente 25 ml, incluyendo de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml, por ejemplo, aproximadamente 3 ml.

Aunque necesariamente depende de la aplicación particular en la que se está empleando la composición en cuestión, la composición en cuestión, en muchas realizaciones, se administra localmente a una región, sitio o ubicación particular del hospedador, donde, por supuesto, el sitio o ubicación puede variar. Los sitios o ubicaciones representativas incluyen, entre otros, vasos y órganos. Dependiendo de la aplicación particular, la composición se puede administrar al sitio de interés manualmente o con un dispositivo de administración, por ejemplo, el dispositivo de administración empleado para administrar la composición en aplicaciones de colocación de endoprótesis vasculares, que se describe con mayor detalle a continuación.

UTILIDAD

Las composiciones de fase reversible biocompatibles en cuestión encuentran uso en una variedad de aplicaciones diferentes. Las aplicaciones representativas de las composiciones de fase reversible en cuestión incluyen las descritas en las patentes de EE.UU. 3.438.374; 5.092.841; 5.292.362; 5.385.606; 5.583.114; 5.843.156; 6.162.241; 6.290.729; 6.302.898; 6.310.036; 6.329.337; 6.371.975; 6.372.229; 6.423.333; 6.458.147; 6.475.182; y 6.547.806; así como en las Solicitudes de Estados Unidos n.º 2002/0015724; 2002/0022588; 2002/0133193; 2002/0173770; 2002/0183244; 2002/019490; 2002/0032143.

45 *Aplicaciones representativas de colocación vascular de endoprótesis vasculares*

En una aplicación de particular interés, se describen métodos y dispositivos para producir un elemento estructural de biocompuesto, por ejemplo, una endoprótesis vascular, *in situ* en un sitio vascular. En estas aplicaciones, la primera etapa es poner o colocar un extremo distal de un dispositivo de administración de la composición del fluido en el sitio vascular donde se producirá el elemento estructural de biocompuesto. El sitio vascular en el que se produce el elemento estructural en los métodos en cuestión normalmente es una ubicación o región definida de un vaso arterial. Por vaso arterial se entiende un vaso de un animal vascularizado en el que la sangre fluye desde el corazón. El vaso arterial puede ser un vaso cardiovascular. En un área específica de interés, el vaso cardiovascular es una arteria coronaria en la que la sangre regresa al corazón para suministrar el músculo cardíaco.

En ciertas aplicaciones, el dispositivo de suministro de composición de fluido es un dispositivo que incluye en su extremo distal el primer y segundo elementos de oclusión que flanquean un mandril expansible. Como tales, los dispositivos de estas aplicaciones incluyen, en sus extremos distales, el primer y segundo elementos de oclusión separados por un mandril expansible.

El primer y segundo elementos de oclusión pueden ser cualquier tipo conveniente de elemento de oclusión. En ciertas aplicaciones, los elementos de oclusión son globos desplegables, donde una variedad de elementos de oclusión con globo es conocido en la técnica relevante y pueden emplearse en los dispositivos en cuestión. En otras aplicaciones, los elementos de oclusión son elementos de oclusión sin globo, tales como elementos de oclusión que, al desplegarse, producen una configuración de collar que da como resultado el bloqueo del flujo de fluido en el vaso en la ubicación del despliegue. Los elementos de oclusión descritos anteriormente simplemente son representativos

de los tipos de elementos de oclusión que pueden emplearse, donde el único requisito es que el elemento sirva para ocluir el vaso en la región de despliegue, es decir, que el elemento sustancial, cuando no completamente, detiene el flujo de sangre dentro y fuera de la región que está ocluida.

5 Posicionado entre el primer y segundo elementos de oclusión se encuentra un mandril expandible. Como tal, entre el primer y el segundo elemento de oclusión está presente una estructura expandible alrededor de la cual se puede colocar un fluido de fase reversible y permitir que se fije, como se describe a continuación. El mandril expansible puede incluir uno o más puertos de introducción y extracción de fluido, donde estos puertos son orificios o
10 estructuras análogas que sirven como vías de entrada o salida para que el fluido entre o salga de las estructuras de transporte de fluido, por ejemplo, lúmenes, que conducen desde el extremo distal del dispositivo a una ubicación diferente del dispositivo, por ejemplo, al extremo proximal del dispositivo, por ejemplo, un depósito de fluido en comunicación fluida con el extremo proximal del dispositivo.

15 El mandril expandible puede expandirse o desplegarse es función del despliegue del primer y segundo elementos de oclusión o el inicio del suministro de una composición de fluido de fase reversible al sitio vascular de interés. Como tal, el dispositivo puede ser uno en el que el despliegue del primer y segundo elementos de oclusión produzca el despliegue del mandril expandible. Alternativamente, el despliegue del mandril expandible puede ocurrir en función de la introducción de la composición de fluido de fase reversible al sitio vascular, por ejemplo, al introducir fluido en el lumen de suministro del dispositivo.

20 Después de la colocación o posicionamiento del extremo distal del dispositivo, como se ha descrito anteriormente, en el sitio vascular, el primer y segundo elementos de oclusión y el mandril expandible se despliegan para producir un espacio de molde para que el elemento estructural se forme *in situ* en el sitio vascular. El espacio de molde producido está limitado en cada extremo por el primer y segundo elementos de oclusión. El lumen del vaso en el que se ubica el sitio vascular sirve como pared exterior del espacio del molde y el mandril expansible sirve como pared
25 interior del espacio del molde. Como tal, el espacio del molde define un volumen tubular de espacio limitado en la superficie interna por el mandril, sobre la superficie externa por el lumen del vaso en el sitio vascular, y en la parte superior e inferior por el primer y segundo elementos de oclusión.

30 En los métodos en cuestión, se introduce una composición de fluido de fase reversible en el espacio del molde, como se ha definido anteriormente. Mientras que en el sentido más amplio, la composición fluida de fase reversible puede ser cualquier fluido que sea capaz de invertir la fase de una primera composición de fluido a una segunda composición sólida durante un período de tiempo en un elemento estructural de biocompuesto fisiológicamente aceptable, por ejemplo, una endoprótesis vascular, el material de fase reversible empleado puede ser el material de
35 fase reversible de la presente invención, como se describe anteriormente. Cuando la composición fluida de fase reversible es una que se prepara a partir de un sustrato y un reticulante, por ejemplo, como la composición representativa descrita anteriormente, el dispositivo empleado en los métodos en cuestión puede tener elementos para mezclar o combinar el sustrato y el reticulante en el sitio vascular (por ejemplo, en el punto donde el fluido sale por un puerto en el mandril), o en una posición corriente arriba del sitio vascular, por ejemplo, en una ubicación en el extremo proximal del dispositivo de suministro de fluido.

45 Tras la introducción del material de fase reversible, se permite que la composición de fluido de fase reversible ahora presente en el espacio del molde experimente una inversión de fase a dicho segundo estado sólido. A continuación, el mandril expandible y los elementos de oclusión se retraen o colapsan, y el extremo distal del dispositivo se retira del sitio vascular, dejando el elemento estructural de biocompuesto resultante en el sitio vascular. Como tal, la práctica de los métodos en cuestión da como resultado la producción *in situ* de un elemento estructural de biocompuesto en un sitio vascular.

50 *Realizaciones representativas específicas*

Las Figuras 1A a 1E proporcionan una ilustración de la puesta en práctica de un método representativo donde se produce *in situ* una endoprótesis vascular de biocompuesto en un sitio vascular que tiene una lesión estenótica en una superficie luminal de un vaso arterial.

55 La Figura 1A proporciona una vista en sección transversal de una arteria coronaria 10 que muestra las paredes de los vasos 12 y la lesión estenótica 14 presentes en su superficie luminal.

60 La Figura 1B muestra la colocación del dispositivo 20 en el sitio vascular ocupado por la lesión 14, donde la lesión se ha compactado contra la superficie luminal del vaso, por ejemplo, utilizando técnicas convencionales de angioplastia con globo. El dispositivo 20 es un dispositivo de catéter que tiene un globo de oclusión proximal 22 y un globo de oclusión distal 24 flanqueante, es decir, separado por un mandril expandible 26. Adyacente al globo de oclusión distal 24 está la banda marcadora 28. También se muestra un alambre de guía 21. El alambre de guía 21 y la banda marcadora 28 sirven para ayudar en la colocación del extremo distal del dispositivo en el sitio vascular. También se muestran los lúmenes del globo 23, al igual que un lumen de suministro de fluido 25. Presentes en la superficie del
65 mandril expandible 26 hay una pluralidad de puertos de entrada y salida de fluido 27, que se utilizan para introducir fluido en y/o eliminar fluido de un espacio de molde producido al desplegar los miembros de oclusión y el mandril

expandible.

En la Figura 1C, los globos proximal y distal y el mandril expandible se han desplegado para producir un espacio de molde 30 de la endoprótesis vascular en el sitio vascular, donde el molde 30 de la endoprótesis vascular es un volumen tubular que está limitado en cada extremo por los globos de oclusión distal y proximal, sobre la superficie externa por el lumen que tiene la lesión comprimida sobre ella, y sobre la superficie interna por el mandril expansible.

La Figura 1D muestra la introducción del material de fase reversible 40 en el espacio del molde 30, por ejemplo, a través de los puertos 27.

La composición fluida de fase reversible introducida entonces se deja fraguar o endurecer, después de lo cual el dispositivo 20 se retira del sitio vascular, dejando atrás una endoprótesis vascular de biocompuesto 50 representado en la Figura 1E.

Una realización alternativa de un dispositivo de administración según la presente invención se muestra en la Figura 2. En la Figura 2, el dispositivo de administración 60 se muestra en una configuración desplegada en una ubicación en el recipiente 70. Los globos 62 y el mandril 64 se despliegan, y en el mandril 64 se encuentran presentes tubos de administración múltiples 66 que transportan las dos partes componentes de una composición de fase variable, es decir el sustrato y el conector (como se describe a continuación) de lúmenes de suministro de fluido separados en el dispositivo 60 a los puertos de salida 68. En el extremo distal de cada tubo de suministro 66 hay un elemento de mezcla 67 que ayuda a combinar las dos partes componentes inmediatamente antes de salir del dispositivo.

En otra realización alternativa más, el mandril expandible tiene múltiples tubos de suministro a través de los cuales se administran los componentes individuales de la composición de fase reversible de dos partes, es decir, las composiciones de sustrato y enlazador, a través de puertos de salida separados. Después de la administración del material de sustrato al sitio de la lesión, la composición del enlazador se administra al sitio con pulsación simultánea (es decir, inflado y desinflado) del mandril expandible con el fin de mezclar los dos componentes.

En otra realización alternativa, el material de sustrato se despliega como una matriz sólida en el exterior del mandril expansible y a continuación se expande a la pared del recipiente en forma tubular mediante la expansión del mandril. Una vez en posición, la composición del enlazador se administra a través del mandril expandible y se le permite entrar en contacto y mezclarse con el material de sustrato previamente desplegado.

Los métodos y dispositivos en cuestión de estas realizaciones representativas particulares, como se describe anteriormente, encuentran uso en cualquier aplicación en la que se desee la producción de un elemento estructural de biocompuesto *in situ* en un sitio vascular. Un tipo representativo de aplicación en la que los métodos en cuestión encuentran uso es en la producción de una endoprótesis vascular de biocompuesto en un sitio vascular estenótico, por ejemplo, una arteria coronaria, donde la lesión ha sido tratada, por ejemplo, comprimida, mediante aterectomía o técnicas angioplásticas, para aumentar el flujo de sangre a través de la arteria.

En general, los animales vascularizados con los cuales se emplea la presente invención son "mamíferos", donde este término se usa ampliamente para describir organismos que están dentro de la clase de mamíferos, incluidos los órdenes carnívoro (por ejemplo, perros y gatos), rodentia (por ejemplo, ratones, cobayas y ratas), lagomorfos (por ejemplo, conejos) y primates (por ejemplo, seres humanos, chimpancés y monos). En muchas realizaciones, los animales u hospedadores, es decir, los sujetos (también denominados pacientes en este documento) serán seres humanos.

También se proporcionan sistemas para usar en la práctica de los métodos en cuestión de esta realización, donde los sistemas incluyen al menos un dispositivo de suministro de fluido y una composición de fluido de fase reversible, como se describe anteriormente. Los sistemas en cuestión normalmente también incluyen un elemento de guía que se emplea para posicionar el dispositivo, por ejemplo, en un protocolo de aproximación percutánea, como un alambre de guía o una estructura análoga. Otros componentes que pueden estar presentes en los sistemas en cuestión incluyen, pero no se limitan a: medios de inflado de globo.

KITS

También se proporcionan kits para usar en la práctica de los métodos en cuestión, donde los kits normalmente incluyen un sustrato y componentes reticulantes distintos de una composición fluida de fase reversible, como se ha descrito anteriormente. El sustrato y los componentes reticulantes pueden estar presentes en contenedores separados en el kit, por ejemplo, cuando el sustrato está presente en un primer contenedor y el reticulante está presente en un segundo contenedor, donde los contenedores pueden o pueden no estar presentes en una configuración combinada.

Los kits en cuestión también pueden incluir un dispositivo de mezcla, para mezclar el sustrato y el reticulante juntos para producir la composición de fase reversible. Los kits también pueden incluir un dispositivo de administración

(que puede o puede no incluir un elemento de mezcla), como los dispositivos de catéter, como se ha descrito anteriormente.

5 El kit además puede incluir otros componentes, por ejemplo, alambres de guía y cables de sensores, que pueden ser útiles en la práctica de los métodos de los sujetos.

Además de los componentes mencionados anteriormente, los kits en cuestión además suelen incluir instrucciones para usar los componentes del kit para poner en práctica los métodos en cuestión. Las instrucciones para poner en práctica los métodos en cuestión generalmente se graban en un medio de grabación adecuado. Por ejemplo, las instrucciones pueden imprimirse en un sustrato, como papel o plástico. Como tal, las instrucciones pueden estar presentes en los kits como, por ejemplo, un prospecto, en el etiquetado del envase del kit o sus componentes (es decir, asociados con el empaque o el subpaquete). En otras realizaciones, las instrucciones están presentes como un archivo de datos de almacenamiento electrónico presente en un medio de almacenamiento adecuado legible por ordenador, por ejemplo, un CD-ROM, un disquete. En otras realizaciones más, las instrucciones reales no están presentes en el kit, sino que se proporcionan medios para obtener las instrucciones de una fuente remota, por ejemplo, a través de Internet. Un ejemplo de esta realización es un kit que incluye una dirección web donde se pueden ver las instrucciones y/o desde donde se pueden descargar las instrucciones. Al igual que con las instrucciones, este medio para obtener las instrucciones se registra en un sustrato adecuado.

20 Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración y no a modo de limitación.

PARTE EXPERIMENTAL

I. Funcionalidad del glutaraldehído tratado térmicamente

25 El glutaraldehído tratado térmicamente se evaluó para determinar la eficacia de la reticulación. Se utilizó una solución de glutaraldehído (5 % en p/p) para reticular una solución que contenía un 35 % de albúmina. La albúmina se polimerizó en aproximadamente 90 segundos, lo que indica que no se alteró la eficiencia de la solución de reticulación del glutaraldehído.

30 II. Usos representativos

A. Pulmonar

35 Se usó un conejo y un modelo experimental para la evaluación del material como sellante pulmonar.

De acuerdo con el método de la invención, se preparó una composición sellante de la presente invención, que consiste en albúmina, colágeno, ácido oleico, PEI y quitosano y se reticuló con glutaraldehído procesado térmicamente. Las concentraciones para cada ingrediente fueron consistentes con los valores indicados en los ejemplos anteriores.

45 Los pulmones de un conejo anestesiado fueron expuestos y desinflados. A continuación, se transectó una porción del lóbulo superior del pulmón y se selló y se volvió a inflar el sitio de corte del pulmón desinflado. El pulmón fue evaluado para detectar fugas por inmersión en agua. La evaluación del pulmón en busca de fugas de aire no indicó que hubiera ninguna presente, lo que indica la eficacia del sellante.

B. Vascular

50 Se usó nuevamente un conejo como modelo experimental para la evaluación del material como un sellante vascular.

En este experimento, las arterias carótidas de un conejo anestesiado y anticoagulado se expusieron bilateralmente. La arteria del lado izquierdo se perforó con un catéter de 14 F. Tras retirar el catéter, se cerró el orificio con el sellante. Alternativamente, se transectó la arteria del lado derecho y se creó una anastomosis utilizando una sutura de Prolene 6-0. Una cinta umbilical fue parcialmente colocada alrededor del vaso proximal al sitio de la cirugía para reducir momentáneamente el flujo sanguíneo.

55 El sellante formulado para ser consistente con los intervalos indicados hasta ahora se aplicó al sitio de punción con una jeringa con punta. Después de tres minutos, se liberó la presión para exponer la reparación a la presión sistólica/diastólica total de la arteria carótida. No se encontró ninguna fuga en el sitio de la herida.

60 El sellante formulado para ser consistente con los intervalos indicados se aplicó al sitio anastomótico de fuga parcial del lado derecho del modelo experimental. Después de tres minutos se notó que la fuga se había detenido.

C. Líquido cefalorraquídeo

65 En un experimento adicional, se evaluó un modelo de cadáver humano para determinar la adherencia del sellante

sobre la duramadre.

5 Después de una craneotomía, se realizó una incisión de la duramadre expuesta. La incisión de la duramadre provocó la retracción del tejido. El tejido retraído se juntó, de nuevo utilizando suturas de retención temporal de manera que los bordes incisos se yuxtaponen entre sí. Se preparó un sellante consistente con las formulaciones indicadas para esta invención. Se aplicó sellante sobre la herida de la incisión y se liberaron los restos de sutura. Los bordes opuestos de la herida de la incisión permanecieron alineados entre sí, con el sellante que demuestra una tenacidad adecuada para resistir las fuerzas de retracción de la duramadre. Se bajó la cabeza del cadáver, lo que provocó un esfuerzo adicional en la sutura y se observó el sitio en busca de fallas del sellante para mantener los
10 bordes juntos. No se observaron fallas.

III. Pruebas de compatibilidad de tejidos

15 De acuerdo con el método de la invención, se preparó una composición sellante de la presente invención, que consiste en albúmina, colágeno, ácido oleico, PEI y quitosano y se reticuló con glutaraldehído procesado térmicamente. Las concentraciones para cada ingrediente fueron consistentes con los valores indicados en los ejemplos anteriores.

20 La composición se implantó en tejido muscular de un conejo vivo. A continuación se evaluó la evidencia de irritación o toxicidad en el tejido muscular según los requisitos de la Organización Internacional de Normalización 10993: Evaluación biológica de dispositivos médicos, Parte 6: Pruebas de efectos locales después de la implantación.

25 Las muestras de implantes y las muestras de control negativo se esterilizaron con óxido de etileno y a continuación se desgasificaron durante 5 días. Los conejos se implantaron y a continuación se sacrificaron 3 semanas después. Se extirparon los tejidos musculares y se examinaron macroscópicamente los sitios del implante. Se llevó a cabo una evaluación microscópica de los sitios representativos de implantes de cada conejo para controlar adicionalmente cualquier respuesta tisular.

30 Bajo las condiciones de este estudio, la reacción macroscópica no fue significativa en comparación con el material de implante de control negativo. Microscópicamente, el artículo de prueba se clasificó como no irritante en comparación con el artículo de control negativo.

35 Es evidente a partir de los resultados y la discusión anteriores que la presente invención proporciona un nuevo tipo importante de composición biocompatible que se puede usar en una variedad de aplicaciones diferentes, donde los beneficios de las composiciones en cuestión incluyen, pero no se limitan a, baja toxicidad y alta adhesión. Por consiguiente, la presente invención representa una contribución significativa a la técnica.

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Una composición de fase reversible biocompatible que pasa de un primer estado fluido a un segundo estado no fluido, en la que dicha composición de fase reversible biocompatible se produce combinando:
- (a) un sustrato fluido que comprende un material proteico y un modificador de la adhesión, y
 - (b) un agente de reticulación de glutaraldehído estabilizado térmicamente.
- 10 **2.** La composición de fase reversible biocompatible según la reivindicación 1, en la que dicho material proteico comprende uno o más de: albúmina, elastina, fibrina y formas solubles e insolubles de colágeno y combinaciones de los mismos.
- 3.** La composición de fase reversible biocompatible según las reivindicaciones 1 o 2, en la que dicho sustrato además comprende un plastificante.
- 15 **4.** La composición de fase reversible biocompatible según las reivindicaciones 1, 2 o 3, en la que dicho sustrato además comprende un carbohidrato.
- 5.** La composición de fase reversible biocompatible según las reivindicaciones 1, 2, 3 o 4, en la que dicho sustrato además comprende un agente biológicamente activo.
- 20 **6.** La composición de fase reversible biocompatible según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicho sustrato además comprende un agente espumante.
- 25 **7.** Un método para producir una composición de fase reversible biocompatible según la reivindicación 1 que pasa desde un primer estado fluido a un segundo estado no fluido, dicho método que comprende: combinar:
- (a) un sustrato fluido que comprende un material proteico y un modificador de la adhesión; y
 - (b) un agente de reticulación de glutaraldehído estabilizado térmicamente;
- 30 para producir dicha composición de fase reversible biocompatible.
- 8.** El método según la reivindicación 7, en el que dicha composición de fase reversible biocompatible es una composición según cualquiera de las Reivindicaciones 2 a 6.
- 35 **9.** Un kit para producir la composición de fase reversible biocompatible definida en la reivindicación 1, dicho kit que comprende:
- (a) un sustrato que comprende un material proteico y un modificador de la adhesión; y un
 - (b) un agente de reticulación de glutaraldehído estabilizado térmicamente.
- 40 **10.** El kit según la reivindicación 9, en el que dicho kit comprende componentes para producir una composición según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6.
- 45 **11.** El kit según la reivindicación 9, en el que dicho kit además comprende un dispositivo de suministro de fluido de fase reversible biocompatible.

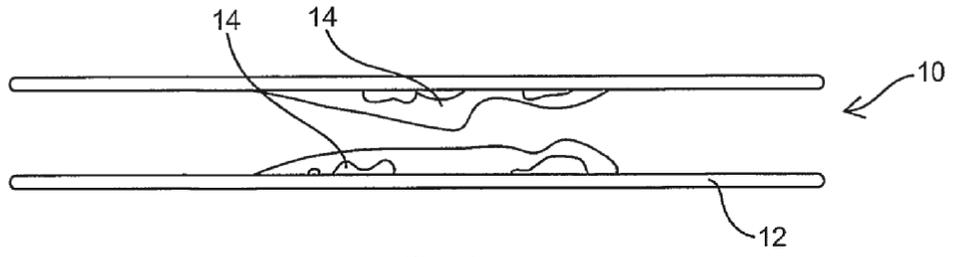


FIG. 1A

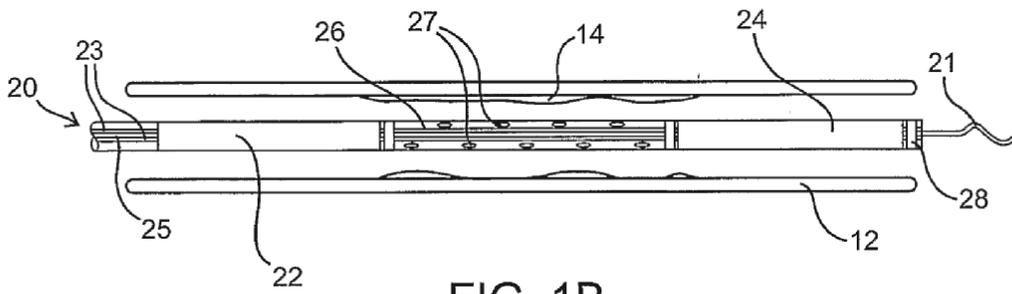


FIG. 1B

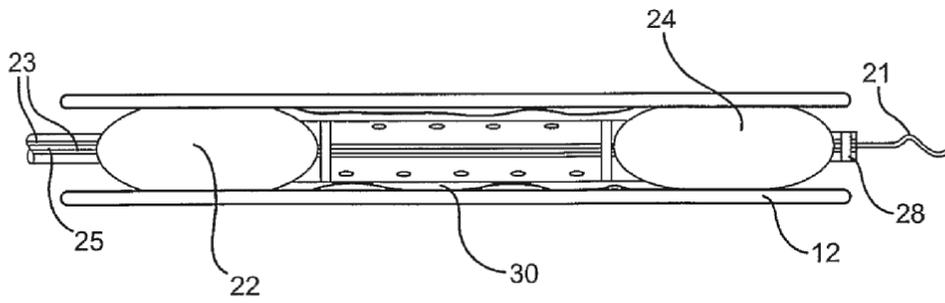


FIG. 1C

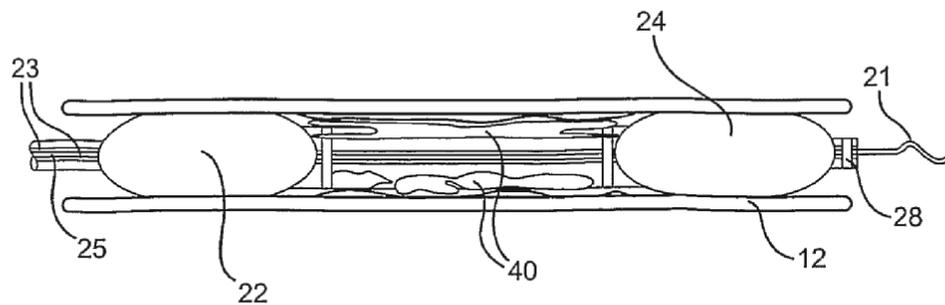


FIG. 1D

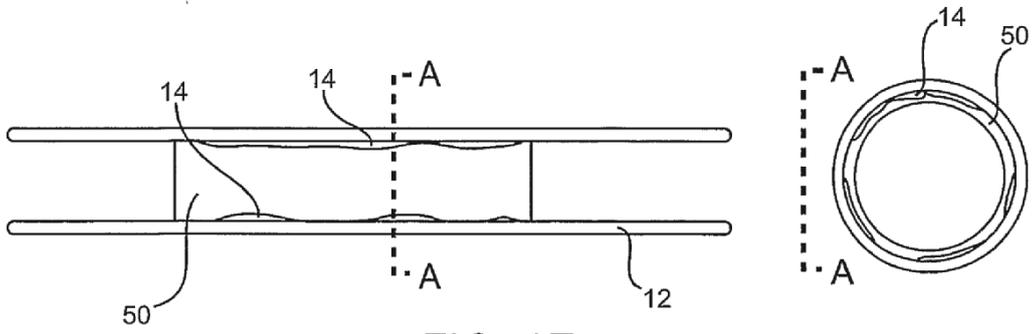


FIG. 1E

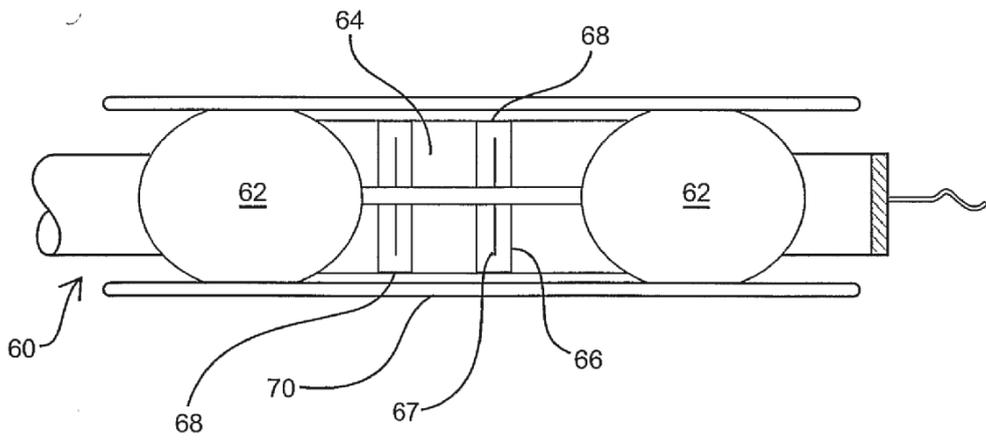


FIG. 2