

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 742 269**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/48** (2006.01)  
**A61K 47/26** (2006.01)  
**A61K 9/14** (2006.01)  
**A61K 38/36** (2006.01)  
**A61K 38/39** (2006.01)  
**A61L 26/00** (2006.01)  
**A61K 31/726** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.04.2012 PCT/EP2012/057647**  
 87 Fecha y número de publicación internacional: **01.11.2012 WO12146655**  
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.04.2012 E 12717682 (4)**  
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2019 EP 2701729**

54 Título: **Composiciones hemostáticas**

30 Prioridad:

**27.04.2011 EP 11305492**  
**27.04.2011 US 201161517973 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**13.02.2020**

73 Titular/es:

**BIOM'UP (100.0%)**  
**8, allée Irène Joliot-Curie**  
**69800 Saint Priest, FR**

72 Inventor/es:

**GAGNIEU, CHRISTIAN;**  
**FOREST, PATRICIA y**  
**PICOT, SYLVAIN**

74 Agente/Representante:

**CURELL SUÑOL, S.L.P.**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 742 269 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 hemostáticas.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere al campo de las composiciones hemostáticas, a la utilización de compuestos o composiciones específicos como agente hemostático, a un procedimiento para preparar una composición hemostática y a un procedimiento hemostático.

10

**Antecedentes técnicos**

Las heridas, sea externas o internas, traumáticas o quirúrgicas, con frecuencia conducen a sangrado. Este sangrado puede ser más o menos significativo. El sangrado se evita y se detiene mediante un conjunto de fenómenos fisiológicos denominado "hemostasis". La hemostasis ayuda a reparar la brecha vascular y, generalmente, garantiza el mantenimiento de la integridad del vaso y del tejido.

15

Al lesionarse un vaso sanguíneo, se induce un mecanismo natural que comprende diversas etapas para detener el flujo de sangre. En primer lugar, la vasoconstricción, que enlentece el sangrado, dura 15 a 60 segundos e induce una compleja cascada de reacciones. Se forma una malla fibrosa compuesta de fibrina en torno al tapón de plaquetas: se forma el trombo final y el factor XII lo protege de la disolución prematura, estabilizando la fibrina. Finalmente, la malla de fibrina se tensa (retracción) y los bordes de la herida se aproximan: la herida se encoge. Dentro de la fibrina entrecruzada estable, a continuación, pueden crecer fibroblastos y organizarse en una matriz conjuntiva dentro del trombo y finalmente cerrar la herida.

20

No se encuentra presente fibrina sólida en la sangre en circulación; si hubiera, obstruiría inmediatamente vasos vitales. Sin embargo, se encuentra presente el precursor de la fibrina: el fibrinógeno. Bajo la acción de la trombina, cuya síntesis resulta activada por factores de coagulación, el fibrinógeno se transforma en fibrina insoluble.

25

Finalmente, varios días o semanas después de la cicatrización con éxito de la herida, el agregado de fibrina es destruido durante la fibrinólisis.

30

A pesar de este fenómeno bioquímico, con frecuencia resulta necesario, en particular en el caso de heridas que son excesivamente grandes, o en el caso de sangrado difuso, llevar a cabo "artificialmente" la hemostasis.

35

Existen soluciones "mecánicas" para ayudar a obtener hemostasis, tales como la presión, la ligadura y la electrocoagulación, que se utilizan como tratamientos de primera línea. Sin embargo, estas soluciones presentan poca o ninguna efectividad en un determinado número de casos, tales como las hemorragias capilares rezumantes, hemorragias de órganos tales como el bazo o el hígado, hemorragias que conducen a sangrado difuso, por ejemplo, hueso, y/o en neurocirugía.

40

También existen soluciones "químicas", en particular implementadas en determinados productos hemostáticos actuales. Los componentes de dichas soluciones químicas en general son de tipo "absorbente" o "activo".

Los productos hemostáticos absorbentes, notablemente comprendiendo polisacáridos tales como celulosa oxidada regenerada o alginatos, funcionan principalmente por acción mecánica y absorción simple. Frecuentemente adolecen del problema de hinchado excesivo. En el caso de que dicho hinchado conduzca a una absorción rápida de líquido, en particular sangre, también puede conducir a una presión no deseable al utilizarlos en un medio "cerrado", por ejemplo, en contacto con la duramadre o en urología.

50

Además, determinados productos, especialmente los que comprenden polisacáridos vegetales, tales como celulosa o alginatos, pueden provocar además reacciones inflamatorias durante su resorción y/o pueden conducir a productos de degradación no reconocidos por el huésped. La consecuencia de esto es que resulta deseable eliminar dichos productos de manera que no permanezcan en el cuerpo y, de esta manera, no produzcan estos efectos adversos.

55

Los productos hemostáticos activos, tales como productos que contienen trombina o fibrina, con frecuencia son productos de origen hematológico. Tales productos implican riesgos de alergias y transmisión de enfermedades, en particular en el caso en que el vector de enfermedad no resulta inactivado por tratamientos aplicados clásicamente. Además, dichos tratamientos posteriores son generalmente complejos y/o costosos. Finalmente, en general requieren preparación antes de la utilización, lo que puede ser una limitación, en efecto una incomodidad, en el caso de una urgencia.

60

Además, los productos que contienen tanto fibrina como trombina basan su modo de acción en la interacción entre los dos productos de origen hematológico que comprende el producto. La reacción ocasionalmente puede tener lugar sin interacción con la sangre, en cuyo caso los productos se dice que flotan. En otras palabras, el

65

producto es apartado por la sangre, que continúa fluyendo, posiblemente causando que el producto se diluya o se coagule y forme un gel sobre la sangre, una situación en la que el flujo de sangre no resulta bloqueado. De esta manera, no puede conseguirse la hemostasis.

5 Los productos disponibles actualmente en el mercado pueden encontrarse en forma de:

- esponjas o matrices: esta forma física facilita la manipulación, aunque puede resultar problemática durante la utilización en zonas complejas o en operaciones laparoscópicas;

10 - fibras: esta forma puede posicionarse fácilmente en la zona que debe tratarse, en el caso de que la zona resulte accesible, y puede reducir la cantidad de productos que deben implantarse; por otra parte, está fuertemente contraindicada en vasos, especialmente para evitar el paso de fibras a la circulación, debido a que esta situación supone riesgos de embolismo, así como riesgos de adherencia a instrumentos;

15 - líquidos solidificantes, tales como adhesivos biológicos: tales composiciones con frecuencia comprenden por lo menos dos productos, que se mezclan entre sí durante la preparación con el fin de reaccionar y polimerizar. Dichos productos generalmente deben prepararse inmediatamente antes de la utilización, especialmente en el quirófano, lo que provoca que su preparación resulte tediosa y requiere prever su utilización;

20 - sprays: los adhesivos pueden encontrarse en forma de spray que requiere la utilización de un dispositivo particular para conectar la jeringa a un aparato que proporcione el aire necesario para propeler el producto. La dosis, homogeneidad de la distribución y/o grosor de la capa depositada resultan difíciles o imposibles de regular.

25 - Polvos: algunos polvos preparados a partir de almidón se encuentran disponibles en el mercado. Los polvos hemostáticos se consiguen gracias a la absorción de la sangre por los polvos. El almidón no presenta ninguna propiedad biológica con la sangre. La densidad y granulometría (gradado de tamaños) de estos polvos es muy pequeña y los polvos no pueden pulverizarse sin formar una nueva que no resulta adecuada para aplicaciones laparoscópicas. Por ejemplo, los polvos descritos en el documento nº WO 30 2005/072700 no resultan adecuados para un spray homogéneo y preciso sobre la herida, especialmente en laparoscopia.

35 Las composiciones de la técnica anterior generalmente se proporcionan en forma de esponjas, fibras o líquidos viscosos, tales como adhesivos de fibrina, que pueden pulverizarse. Sin embargo, actualmente no se encuentran disponibles polvos adecuados para la pulverización.

40 De esta manera, la presente invención presenta como objetivo la obtención de una composición que resuelva todos o algunos de los problemas indicados anteriormente, y en particular de una composición que resulte satisfactoria con respecto a la seguridad, efectividad, facilidad de utilización y/o coste. En particular, el producto o composición puede conseguir la autorización reglamentaria de acuerdo con las normas vigentes en cada país.

45 Más exactamente, la invención presenta como objetivo obtener una composición con una capacidad de absorción satisfactoria, buena capacidad hemostática, mínimos efectos adversos (o ningún efecto adverso), buena capacidad de anclaje al borde de la herida y la posibilidad de ser pulverizado, penetración satisfactoria en el flujo sanguíneo al pulverizarse y/o hinchado limitado.

50 En particular, la composición presenta como objetivo poder administrarse en la mayoría de procedimientos quirúrgicos, tales como laparatomías, laparoscopias, celioscopias y técnicas quirúrgicas robotizadas, y/o puede pulverizarse. La composición y metabolitos de la misma pueden preferentemente presentar una inocuidad satisfactoria, presentar una seguridad mejorada, causar una respuesta inmunogénica débil o nula, no ser carcinogénicos y/o ser reabsorbibles. En particular, la resorción es compatible con los fenómenos de hemostasis y cicatrización con el fin de poder dejarlos en el sitio después del procedimiento.

55 La composición puede presentar como objetivo poder proporcionarse en una forma que pueda pulverizarse.

Además de resolver la totalidad o algunos de los problemas indicados anteriormente, la presente invención también puede presentar como objetivo obtener una composición:

60 - que permita obtener un producto, en particular unos polvos pulverizables secos que comprenden todos los componentes útiles para la acción hemostática, en particular durante su almacenamiento; en otras palabras, un producto que pueda almacenarse en una forma que esté lista para utilizar y que no requiera la mezcla inmediatamente antes de la utilización, y/o

65 - cuyo componente o componentes principales no absorban tanta sangre que se produzca un riesgo de presión no deseable, y/o

- cuyos componentes presenten simultáneamente actividad hemostática, mecánica y bioquímica, o biológica, y/o
- 5 - que puedan utilizarse inmediatamente sin preparación, sin manipulación del producto hemostático, y que puedan resultar, por ejemplo, útiles en laparoscopia además de laparatomía.

### Sumario de la invención

10 Según un primer aspecto, la invención se refiere, de esta manera, a una composición hemostática tal como se define en la reivindicación 1 y en las reivindicaciones dependientes correspondientes.

15 La presente invención puede posibilitar en particular la obtención de una composición con propiedades hemostáticas particularmente buenas, especialmente gracias a las características de tamaño y/o densidad de las partículas de dicha composición y a los componentes de la misma, produciendo simultáneamente un hinchado limitado.

20 Según una variante, la composición está libre de componentes obtenidos directa o indirectamente de la sangre. En caso de encontrarse presente la trombina, por ejemplo, puede extraerse de sangre o ser trombina recombinante. Bastante particularmente, la composición está constituida de compuestos que son rápidamente degradados en el cuerpo y/o que son biocompatibles; en otras palabras, que no induzcan una respuesta no deseable.

25 Aspectos preferentes, aunque no limitativo, de la composición, administrada sola o en combinación, son los siguientes:

- la composición comprende una proporción en peso de colágeno/monosacárido comprendida entre 10 y 50, y preferentemente de 19.
- 30 - El colágeno comprende un contenido de colágeno fibroso y/o colágeno fibrilar comprendido entre 85% y 95% en peso respecto al peso total del colágeno.
- La composición comprende además una proporción en peso de colágeno/compuestos carbohidratos totales comprendida entre 2 y 40, en la que el peso de los compuestos carbohidratos totales es la suma del peso del/de los monosacárido(s) y el peso del/de los glucosaminoglicano(s).
- 35 - La composición comprende además un factor de coagulación, en particular trombina, en una cantidad comprendida entre 0.01 UI y 20 UI/mg de la composición.
- 40 - La composición presenta una densidad compactada superior a 0.4 g/ml.
- La composición comprende por lo menos 50% en peso de partículas de tamaño comprendido entre 200 µm y 400 µm.
- 45 - La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, que comprende:
  - o colágeno en una cantidad de 86.36% en peso respecto al peso total de la composición,
  - o glucosa, en una cantidad de 4.54% en peso respecto al peso total de la composición,
  - 50 o condroitín sulfato, en una cantidad de 9.09% en peso respecto al peso total de la composición
- La composición comprende además trombina, en una cantidad de entre 0.2 UI/mg y 2 UI/mg de la composición.
- 55

Según un aspecto adicional, la invención se refiere a un procedimiento para preparar una composición hemostática tal como se define en la reivindicación 12 y las reivindicaciones dependientes correspondientes.

60 La invención se refiere además a un kit que comprende la composición anteriormente indicada y un dispositivo de pulverización adaptado para contener y propeler dicha composición.

### Breve descripción de los dibujos

65 Otras características y ventajas de la invención se pondrán de manifiesto a partir de la descripción siguiente, que se proporciona únicamente con fines ilustrativos y en modo alguno es limitativa y no debe leerse en referencia a los dibujos adjuntos, en los que la figura 1 es un ejemplo de un resultado de una electroforesis tal como se indica

en el ejemplo 13.

### Descripción detallada de la invención

5 En la descripción a continuación, a menos que se indique lo contrario, los porcentajes en peso se proporcionan respecto al peso seco total de la composición.

En el contexto de la presente invención, "peso seco total de la composición" se refiere al peso total de la composición libre de solvente, en particular agua, y de esta manera, el peso total respecto al producto anhidro.

10 Además, los pesos de los componentes y los porcentajes resultantes pueden corresponder al peso anhidro de estos componentes; en otras palabras, el peso del componente no incluyendo el agua que podría contener. Esto también puede aplicarse a los porcentajes obtenidos.

15 La composición puede comprender un contenido de colágeno superior o igual a 70% en peso respecto al peso total de la composición; en particular, superior o igual a 75% en peso; en particular, superior o igual a 77% en peso; en efecto, superior o igual a 80% en peso.

20 Además, la composición puede comprender un contenido de colágeno inferior o igual a 99% en peso respecto al peso total de la composición; en particular, inferior o igual a 96% en peso; en particular, inferior o igual a 93% en peso; en efecto, inferior o igual a 90% en peso.

25 De esta manera, la composición puede comprender un contenido de colágeno comprendido entre 70% y 99% en peso respecto al peso total de la composición; en particular, según la invención, comprendido entre 75% y 96% en peso; en particular, comprendido entre 77% y 93% en peso; en efecto, comprendido entre 80% y 90% en peso. Preferentemente, el contenido de colágeno es de aproximadamente 86% en peso del peso total de la composición.

30 El colágeno es la proteína estructural principal en mamíferos. El colágeno consiste en moléculas de tropocolágeno (TC) que presentan longitudes de aproximadamente 280-300 nm y diámetros de aproximadamente 1.5 nm.

35 La expresión "colágeno fibroso" se refiere a colágeno en forma de fibra, correspondiente a un conjunto de fibrillas. Las fibras generalmente presentan un diámetro comprendido entre 1  $\mu\text{m}$  y 10  $\mu\text{m}$ . La expresión "colágeno fibrilar" se refiere a colágeno en forma de fibrillas. Más exactamente, las fibrillas generalmente presentan un diámetro de 10 nm a 1  $\mu\text{m}$ . De esta manera, se forman fibrillas a partir de series alternadas de moléculas de tropocolágeno, y estas fibrillas pueden disponerse para formar fibras de colágeno. El colágeno fibroso y/o fibrilar generalmente es no soluble, mientras que el colágeno no fibrilar es altamente soluble.

40 La definición de colágeno fibroso y colágeno fibrilar puede ser, en particular, la proporcionada por Markus Buehler en "Nature designs tough collagen: explaining the nanostructure of collagen fibrils", en PNAS, 15 de agosto de 2006, vol. 103, nº 33, páginas 12285 a 12290.

45 Se han encontrado más de 28 colágenos diferentes y se clasifican en 3 categorías principales: colágenos del tipo fibrilar, colágenos del tipo no fibrilar y colágenos FACIT.

50 Los colágenos del tipo fibrilar son colágenos que comprenden mayoritariamente colágenos fibrilares y/o fibrosos y prácticamente ningún colágeno no fibrilar (por ejemplo, colágeno de tipo I). De manera similar, los colágenos del tipo no fibrilar son colágenos que comprenden mayoritariamente colágenos no fibrilares. Algunos colágenos del tipo no fibrilar pueden consistir únicamente en colágenos no fibrilares (por ejemplo, colágeno de tipo IV o V).

55 La extracción y purificación industrial del colágeno generalmente consiste en la desestructuración de los tejidos iniciales para 1) eliminar todas o la mayoría de las proteínas contaminantes, y 2) obtener el nivel de estructuración requerido según la utilización final del producto. La extracción del colágeno generalmente se lleva a cabo bajo condiciones ácidas o básicas que permiten la solubilización del colágeno soluble monomolecular, que es no fibrilar. El colágeno final naturalmente contiene una mezcla de colágeno fibrilar/fibroso y colágeno no fibrilar. La proporción entre el colágeno fibrilar/fibroso y el colágeno no fibrilar depende del tejido seleccionado para la extracción y el procedimiento de extracción.

60 El producto final es diferente del colágeno que se ha obtenido mediante una mezcla artificial de sólo colágeno fibrilar y sólo colágeno no fibrilar. En el artículo titulado "Extraction of collagen from connective tissue by neutral salt solutions" (Proceedings of the National Academy of Sciences, volumen 41, número 1, 15 de enero de 1955, por Jérôme Gross, John H. Highberger y Francis O. Schmitt), se muestran las diferencias entre los colágenos fibrilares y no fibrilares obtenidos tras un procedimiento de extracción específica que conduce, tal como se ha indicado anteriormente, a una mezcla de dichos dos colágenos.

65

En la presente composición, el colágeno es del tipo fibrilar y comprende colágeno fibroso y/o fibrilar en una cantidad de por lo menos 60% en peso, en particular según la invención de por lo menos 70% en peso; en particular de por lo menos 75% en peso; en efecto de por lo menos 80% en peso respecto al peso total del colágeno.

5

Más particularmente, el colágeno comprende por lo menos 85%, en particular por lo menos 90%, en particular por lo menos 95%, en efecto por lo menos 98% en peso de colágeno fibroso y/o fibrilar respecto al peso total del colágeno en la composición.

10

Preferentemente, la composición comprende un contenido de colágeno fibroso y/o fibrilar comprendido entre 85% y 95% en peso respecto al peso total del colágeno en la composición, y más preferentemente de 85% a 90% en peso.

15

Lo anterior significa que, en la realización preferente, la composición comprende, de esta manera, un contenido de colágeno no fibrilar comprendido entre 5% y 15% en peso respecto al peso total de colágeno en la composición, y más preferentemente de 10% a 15% en peso.

20

Resulta muy ventajoso presentar una composición con tal proporción de colágeno fibroso y/o fibrilar respecto al colágeno no fibrilar, en particular para la utilización como polvos hemostáticos. En efecto, el colágeno fibroso y/o fibrilar debería encontrarse presente en una cantidad suficiente para producir la hemostasis, y el colágeno no fibrilar también debería encontrarse en una cantidad suficiente para la cohesión del producto y en una cantidad no excesivamente grande para evitar el exceso de hinchado.

25

El colágeno puede seleccionarse de entre los colágenos de tipo I o los colágenos de tipo I y III. El colágeno puede extraerse de diversas fuentes de tejidos, en particular piel y/o tendones, de todas las especies, más particularmente de especie porcina, bovina o equina.

30

El colágeno puede prepararse mayoritariamente de colágeno fibroso de origen porcino extraído de piel y/o tendones. En el caso del colágeno extraído de tendones, la extracción puede ser tal como la indicada en la solicitud de patente internacional n° WO 2010/125086.

35

El colágeno anteriormente indicado, en particular colágeno fibroso y/o fibrilar, puede proceder de la extracción ácida o básica. Según una realización particular, dicho colágeno procede de la extracción básica. Según una forma de realización particular, el colágeno puede ser tal como el indicado en la solicitud de patente n° FR 2 944 706.

40

Preferentemente, el colágeno procede de una extracción básica que permite maximizar el contenido de colágeno fibroso y/o fibrilar en el colágeno extraído. Además, dicha extracción básica puede optimizarse para controlar la proporción de colágeno fibrilar/fibroso y el colágeno no fibrilar dentro del colágeno extraído. Al contrario que la extracción ácida, la extracción básica permite la hidrólisis de proteoglicanos. Esta acción conduce a la desestructuración del tejido y a la separación de las fibras sin modificar su forma. Bajo condiciones ácidas, el hinchado de las moléculas de colágeno internas en las fibras conduce a su desestructuración parcial durante el procedimiento con la liberación de una mayor cantidad de colágeno soluble no fibrilar.

45

El colágeno puede entrecruzarse, especialmente mediante modos clásicos de entrecruzamiento, tales como la deshidratación térmica, la utilización de agentes de puenteo, por ejemplo, formaldehído y/o glutaraldehído; por polisacáridos oxidados, por ejemplo, según el procedimiento descrito en la solicitud de patente internacional n° WO 2010/125086, y/o por amilopectinas oxidadas o glucógeno.

50

La composición comprende por lo menos un monosacárido, solo o en mezcla con otros monosacáridos. Dichos monosacáridos pueden seleccionarse de entre ribosa, sacarosa, fructosa, glucosa y mezclas de las mismas. El monosacárido presente en la composición de la invención, solo o en mezcla con monosacáridos, es en particular la glucosa.

55

La composición comprende un contenido de monosacáridos comprendido entre 1% y 12.5% en peso respecto al peso total de la composición, en particular comprendido entre 1.5% y 10% en peso, en particular comprendido entre 2% y 8% en peso, y bastante particularmente comprendido entre 2.5% y 7.5% en peso. Más preferentemente, el contenido de monosacáridos es de aproximadamente 5% en peso respecto al peso total de la composición.

60

La composición puede comprender una proporción en peso de colágeno/monosacáridos comprendida entre 5 y 100, en particular entre 7 y 65, más particularmente entre 10 y 50, y todavía más particularmente entre 11 y 40. Todavía más particularmente, la composición comprende una proporción en peso de colágeno/monosacáridos de aproximadamente 19.

65

El monosacárido, especialmente ribosa, sacarosa, fructosa, glucosa y mezclas de las mismas, y en particular

glucosa, puede especialmente hacer posible obtener partículas que comprenden principalmente colágeno fibroso y/o fibrilar y monosacáridos con las características deseadas, especialmente de tamaño y densidad. La incorporación de monosacáridos en la mezcla de colágeno permite adicionalmente la reducción de las cargas eléctricas dentro de la composición, permitiendo formar unos polvos adaptados para introducirlos en un recipiente, tal como tubos, soplador o dispensador-pulverizador.

Bastante particularmente, la presencia de monosacárido puede provocar que resulte más fácil y/o más económico obtener partículas de una densidad y/o tamaño deseado, en particular en términos de mejora de las propiedades hemostáticas de unos polvos de la composición.

La molienda de las fibras de colágeno sin ningún aditivo conduce a la reducción del tamaño de las fibras y reduce la densidad de los polvos. Además, la preparación final contiene una cantidad importante de cargas eléctricas que impiden la manipulación del producto final. De esta manera, se propone añadir monosacáridos antes de moler el colágeno, lo que conduce a un endurecimiento de la preparación para la mezcla, permitiendo una molienda rápida (limitación de la desnaturalización), permitiendo de esta manera la preparación de unos polvos con cargas eléctricas reducidas (adecuadas para introducir los polvos en recipientes, tales como un dispensador de spray) y una densidad final adecuada para pulverizar la composición.

Al contrario de lo que se esperaría, dicha aportación de monosacárido no presenta ningún efecto sobre la actividad final del producto. En particular, no modifica la bioactividad del producto final. El monosacárido no presenta efectos hemostáticos.

Además, dicha aportación del monosacárido no provoca que se comporte como un agente espumante, tal como es el caso en el documento nº WO 01/97873. En el documento nº WO 01/97873, el calentamiento de la solución diluida conduce a la formación de gelatina. Puede conseguirse una elevada concentración de gelatina para obtener una solución muy concentrada, aunque el producto final contiene gelatina y no colágeno. Es conocido que la gelatina es menos hemostática que el colágeno, ya que la agregación de plaquetas requiere la presencia de fibrillas de colágeno y la estructura del colágeno nativo, las cuales están ausentes en la gelatina.

Según una forma de realización, la composición comprende, en efecto consiste en, partículas que comprende, en efecto que consiste en, colágeno y monosacárido, especialmente seleccionado de entre ribosa, sacarosa, fructosa, glucosa y mezclas de las mismas, en particular glucosa.

La composición puede comprender por lo menos un, en particular un, factor de coagulación. Dichos factores de coagulación son bien conocidos por el experto en la materia. Preferentemente, el factor de coagulación es la trombina.

Dicho factor de coagulación, en particular la trombina, puede proceder de fuentes animales (extraído de tejidos y líquidos animales) o de fuentes recombinantes (producido mediante cultivos de células modificadas genéticamente). El factor de coagulación puede ser, por ejemplo, trombina extraída de tejidos humanos.

En el caso de que se encuentre presente un factor de coagulación, en particular trombina, su contenido puede ser inferior a 0.1% en peso respecto al peso total de la composición.

En el caso de la trombina, generalmente se utilizan unidades internacionales (UI). De esta manera, la composición puede comprender un contenido de trombina comprendido entre 0.01 UI/mg y 20 UI/mg de la composición, en particular entre 0.05 UI/mg y 10 UI/mg, en particular entre 0.1 UI/mg y 5 UI/mg, en efecto entre 0.2 UI/mg y 2 UI/mg. Más preferentemente, el contenido de trombina, en caso de encontrarse presente, es de aproximadamente 0.83 UI/mg de la composición.

Además del monosacárido, la composición puede comprender por lo menos otro compuesto carbohidrato, que puede ser un glucosaminoglicano. Dicho compuesto carbohidrato puede ser parte de la composición, con o sin un factor de coagulación, tal como la trombina.

Dicho glucosaminoglicano puede seleccionarse de entre condroitín sulfatos, dermatán sulfato, ácido hialurónico y mezclas de los mismos, en particular condroitín sulfatos.

Los glucosaminoglicanos pueden permitir la mejora de la velocidad a la que la sangre es absorbida por los polvos. Más particularmente, glucosaminoglicanos pueden acelerar el contacto entre la sangre y los productos hemostáticos, en particular colágeno y trombina.

La composición comprende un contenido de glucosaminoglicano comprendido entre 2% y 25% en peso respecto al peso total de la composición, en particular comprendido entre 3% y 20% en peso, en particular comprendido entre 4% y 15% en peso, bastante particularmente comprendido entre 5% y 12.5% en peso. Más preferentemente, el contenido de glucosaminoglicano, en caso de encontrarse presente, es de aproximadamente 9% en peso del peso total de la composición.

La composición puede comprender una proporción en peso de colágeno/glucosaminoglicano comprendida entre 2.5 y 50, en particular entre 3.5 y 35, más particularmente entre 5 y 25, y todavía más particularmente entre 6.5 y 20.

5

Según una forma de realización, la composición comprende por lo menos un, en particular un, monosacárido y por lo menos un, en particular un, glucosaminoglicano, especialmente tal como se ha definido anteriormente, y en particular en las cantidades definidas anteriormente.

10

Los compuestos carbohidratos son bastante particularmente monosacáridos y glucosaminoglicanos.

La composición puede comprender un contenido de carbohidrato comprendido entre 2% y 25% en peso respecto al peso total de la composición, en particular comprendido entre 5% y 23% en peso, en particular comprendido entre 7% y 21% en peso, bastante particularmente comprendido entre 10% y 18% en peso.

15

La composición puede comprender una proporción en peso de colágeno/compuesto carbohidrato comprendida entre 2 y 40, en particular entre 2.5 y 30, más particularmente entre 3 y 20, y todavía más particularmente entre 3.5 y 15.

20

La expresión "peso total de compuestos carbohidrato" se refiere a la suma del peso de los monosacáridos definidos anteriormente y el peso de los otros compuestos carbohidrato indicados anteriormente.

Según un ejemplo, la composición comprende, en efecto consiste en:

25

- colágeno que comprende principalmente un contenido de colágeno fibroso y/o fibrilar de por lo menos 50% en peso respecto al peso total del colágeno, y
- por lo menos un, en particular un, monosacárido.

30

Bastante particularmente, la composición comprende, en efecto consiste en:

35

- colágeno, especialmente en una cantidad comprendida entre 70% y 99% en peso respecto al peso total de la composición, en particular comprendida entre 75% y 96% en peso, en particular comprendida entre 77% y 93% en peso, en efecto comprendida entre 80% y 90% en peso, en el que dicho colágeno comprende un contenido de colágeno fibroso y/o fibrilar de por lo menos 50% en peso respecto al peso total del colágeno, y

40

- por lo menos un monosacárido, en particular glucosa, en una cantidad comprendida entre 1% y 12.5% en peso respecto al peso total de la composición, especialmente comprendido entre 1.5% y 10% en pesos, en particular comprendido entre 2% y 8% en peso, y bastante particularmente comprendido entre 2.5% y 7.5% en peso.

Según otro ejemplo, la composición comprende, en efecto consiste en:

45

- colágeno que comprende principalmente un contenido de colágeno fibroso y/o fibrilar de por lo menos 50% en peso respecto al peso total del colágeno,

- por lo menos un, en particular un, monosacárido,

50

- por lo menos un, en particular un, factor de coagulación.

Bastante particularmente, la composición comprende, en efecto consiste en:

55

- colágeno, especialmente en una cantidad comprendida entre 70% y 99% en peso respecto al peso total de la composición, en particular comprendido entre 75% y 96% en peso, en particular comprendido entre 77% y 93% en peso, en efecto comprendido entre 80% y 90% en peso, en el que dicho contenido de colágeno comprende un contenido de colágeno fibroso y/o fibrilar de por lo menos 50% en peso respecto al peso total del colágeno,

60

- por lo menos un monosacárido, en particular, glucosa, en una cantidad comprendida entre 1% y 12.5% en peso respecto al peso total de la composición, en particular comprendido entre 1.5% y 10% en peso, en particular comprendido entre 2% y 8% en peso, y bastante particularmente comprendido entre 2.5% y 7.5% en peso, y

65

- por lo menos un, en particular un, factor de coagulación, en particular trombina, en una cantidad comprendida entre 0.01 UI/mg y 20 UI/mg de la composición, en particular entre 0.05 UI/mg y 10 UI/mg,

## ES 2 742 269 T3

en particular entre 0.1 UI/mg y 5 UI/mg, en efecto entre 0.2 UI/mg y 2 UI/mg.

Según otro ejemplo, la composición comprende, en efecto consiste en:

- 5 - colágeno que comprende principalmente un contenido de colágeno fibroso y/o fibrilar de por lo menos 50% en peso respecto al peso total del colágeno,
- por lo menos un, en particular un, monosacárido, y
- 10 - por lo menos un, en particular un, glucosaminoglicano.

Bastante particularmente, la composición comprende, en efecto consiste en:

- 15 - colágeno, especialmente en una cantidad comprendida entre 70% y 99% en peso respecto al peso total de la composición, en particular comprendida entre 75% y 96% en peso, en particular comprendida entre 77% 93% en peso, en efecto comprendida entre 80% y 90% en peso, en el que dicho contenido de colágeno comprende un contenido de colágeno fibroso y/o fibrilar de por lo menos 50% en peso respecto al peso total del colágeno,
- 20 - por lo menos un monosacárido, en particular glucosa, en una cantidad comprendida entre 1% y 10% en peso respecto al peso total de la composición, en particular comprendida entre 1% y 12.5% en peso, en particular comprendida entre 1.5% y 10% en peso, en particular comprendida entre 2% y 8% en peso, y bastante particularmente comprendida entre 2.5% y 7.5% en peso, y
- 25 - por lo menos un glucosaminoglicano, en particular condroitín sulfato, en una cantidad comprendida entre 2% y 25% en peso respecto al peso total de la composición, en particular comprendida entre 3% y 20% en peso, en particular comprendida entre 4% y 15% en peso, bastante particularmente comprendida entre 5% y 12.5% en peso.

30 Según todavía otro ejemplo, la composición comprende, en efecto consiste en:

- colágeno que comprende un contenido de colágeno fibroso y/o fibrilar de por lo menos 50% en peso respecto al peso total del colágeno,
- 35 - por lo menos un, en particular un, monosacárido,
- por lo menos un, en particular un, factor de coagulación, y
- por lo menos un, en particular un, glucosaminoglicano.

40

Bastante particularmente, la composición comprende, en efecto consiste en:

- 45 - colágeno, especialmente en una cantidad comprendida entre 70% y 99% en peso, en particular comprendida entre 75% y 96% en peso, en particular comprendida entre 77% y 93% en peso, en efecto comprendida entre 80% y 90% en peso respecto al peso total, en particular respecto al peso seco, de la composición, en el que dicho colágeno comprende un contenido de colágeno fibroso y/o fibrilar de por lo menos 50% en peso respecto al peso total del colágeno,
- 50 - por lo menos un monosacárido, en particular glucosa, en una cantidad comprendida entre 1% y 10% en peso respecto al peso total de la composición, especialmente comprendido entre 1% y 12.5% en peso, especialmente comprendido entre 1.5% y 10% en peso, en particular comprendido entre 2% y 8% en peso, y bastante particularmente comprendido entre 2.5% y 7.5% en peso,
- 55 - por lo menos un factor de coagulación, en particular trombina, en una cantidad comprendida entre 0.01 UI/mg y 20 UI/mg de la composición, en particular entre 0.05 UI/mg y 10 UI/mg, en particular entre 0.1 UI/mg y 5 UI/mg, en efecto entre 0.2 UI/mg y 2 UI/mg, y
- 60 - por lo menos un glucosaminoglicano, en particular condroitín sulfato, en una cantidad comprendida entre 2% y 25% en peso respecto al peso total de la composición, especialmente comprendido entre 3% y 20% en peso, en particular comprendido entre 4% y 15% en peso, bastante particularmente comprendido entre 5% y 12.5% en peso.

Según un ejemplo bastante particular, la composición comprende, en efecto consiste en:

- 65 - colágeno del tipo fibrilar, mayoritariamente que comprende colágeno fibroso y/o fibrilar, obteniéndose dicho colágeno del tipo fibrilar mediante, por ejemplo, la extracción en medio básico y estando en una

cantidad de aproximadamente 85% en peso respecto al peso total de la composición,

- glucosa, en una cantidad de aproximadamente 4.9% en peso respecto al peso total de la composición,

5 - trombina, en una cantidad de 0.2 UI/mg y 2 UI/mg de la composición, y

- condroitín sulfato, en una cantidad de aproximadamente 10% en peso respecto al peso total de la composición.

10 Según otro ejemplo particular, la composición comprende, en efecto consiste en:

- colágeno de tipo fibrilar, que mayoritariamente comprende colágeno fibroso y/o fibrilar, obteniendo dicho colágeno del tipo fibrilar mediante, por ejemplo, extracción en medio básico, y encontrándose en una cantidad de aproximadamente 85% en peso respecto al peso total de la composición,

15 - glucosa, en una cantidad de 5% en peso respecto al peso total de la composición,

- y condroitín sulfato, en una cantidad de 10% en peso respecto al peso total de la composición.

20 En el contexto de la presente invención, la expresión “una cantidad de aproximadamente X%” se refiere a una variación de más o menos 20%; en otras palabras, una cantidad de aproximadamente 10% se refiere a 8% a 12%, en particular una variación de más o menos 10%, en efecto más o menos 5%.

25 Al añadir la trombina, se mezclan los polvos de trombina con los polvos de la mezcla molécula homogénea de colágeno/monosacárido ya preparada. Al añadir condroitín sulfato, se añade en primer lugar la trombina a los polvos de condroitín sulfato y esta mezcla se añade a la mezcla anterior de colágeno/monosacárido (ya molida formando polvos). La trombina no resulta estabilizada por carbohidrato ni por colágeno. La trombina nunca está en contacto con una solución del monosacárido (al contrario que en el documento nº WO 98/57678), evitando cualquier desnaturalización de la proteína y una rehidratación de los polvos, conduciendo a una imposibilidad de secarlos nuevamente de forma apropiada.

30 La composición puede proporcionarse en varias formas de polvos sólidos, en particular unos polvos pulverizables. La composición de la invención es preferentemente unos polvos pulverizables.

35 La composición en forma de polvos puede comprender en particular, o consistir en:

- partículas que comprenden, o consisten en, colágeno del tipo fibrilar y por lo menos un monosacárido, en particular glucosa, en las que en particular dichas partículas presentan un tamaño, granulometría y/o densidad tal como las definidas en la presente descripción, y

40 - opcionalmente, partículas que comprenden, o consisten en, por lo menos un glucosaminoglicano, en particular condroitín sulfatos, y/o por lo menos un factor de coagulación, en particular trombina, en el que en particular dichas partículas presentan un tamaño, granulometría y/o densidad tales como las definidas en la presente descripción.

45 La presente composición en forma de polvos, bastante particularmente unos polvos pulverizables, pueden presentar ventajosamente una densidad compactada superior a 0.4 g/l, bastante particularmente superior o igual a 0.41 g/l. En efecto, al utilizar unos polvos como agente hemostático, la densidad debe ser suficiente para evitar cualquier dilución y repulsión del producto por el flujo sanguíneo. El proporcionar a una composición de polvos una densidad superior a 0.4 g/l evita que los polvos sean lavados por la sangre.

50 En la aplicación manual, el cirujano debe comprimir los polvos con una gasa sin retirar el producto al final de la compresión.

55 En el caso de que la composición de polvos esté destinada a ser pulverizada sobre una herida sangrante, resulta preferente que dicha composición presente una densidad mucho más elevada para permitir que los gránulos de los polvos alcancen una determinada energía cinética al eyectarlos a partir del pulverizador. En efecto, los polvos con una densidad baja no pueden desplazarse perfectamente en el aire para alcanzar la herida sin la formación de una nube, lo que no es compatible con la administración precisa que se requiere en la mayoría de casos. El presentar una densidad elevada también permite que el pulverizador proporcione a los polvos suficiente energía cinética para un buen impacto de los polvos sobre la herida. De esta manera, la composición de polvos presenta preferentemente una densidad compactada superior a 0.4 g/ml. Todavía más preferentemente, la composición de polvos presenta una densidad compactada inferior o igual a 0.6 g/ml.

65 Un modo de obtener una composición de polvos con dichas características de densidad consiste en moler una torta de colágeno seco, siendo dicha torta una preparación dura y densa de colágeno. La densidad requerida no

puede alcanzarse mediante molienda de una preparación liofilizada de colágeno, debido a que las partículas finales serían planas y, de esta manera, no pulverizables, con una carga electrostática importante. Por ejemplo, el producto tal como se prepara en el documento nº WO 01/97873 no puede reducirse a unos polvos que presenten dicha densidad y dichas características pulverizables.

5 Los polvos indicados en el documento nº WO 2005/072700 presentan una densidad muy baja y estos polvos no pueden, de esta manera, pulverizarse para alcanzar un órgano diana, especialmente en laparoscopia. En particular, no alcanzan la herida con el impacto requerido que evita la repulsión del flujo sanguíneo.

10 La presente composición, en particular en forma de polvos, bastante particularmente pulverizable, puede presentar preferentemente una densidad compactada superior a 0.4 g/l, en particular superior a 0.41 g/l.

Todavía más preferentemente, la densidad compactada de los polvos de composición es superior a 0.4 g/ml, y lo más preferentemente inferior o igual a 0.6 g/ml.

15 La densidad de carga es generalmente superior o igual a 0.3 g/l, bastante particularmente superior o igual a 0.31 g/l.

20 La densidad de carga es ventajosamente superior a 0.3 g/l, bastante particularmente superior a 0.31 g/l.

Estas densidades se miden según los protocolos indicados en los ejemplos.

25 La composición de la invención ventajosamente presenta una capacidad hemostática comprendida entre 1 segundo y 600 segundos, en particular entre 1 segundo y 200 segundos, más particularmente entre 1 segundo y 60 segundos, en efecto entre 1 segundo y 40 segundos. La capacidad hemostática se mide según el protocolo presentado en los ejemplos.

30 La composición de la invención ventajosamente comprende por lo menos 50% en peso de partículas cuyo tamaño es de entre 200 µm y 400 µm.

Las partículas que constituyen los polvos ventajosamente presentan una granulometría media comprendida entre 10 µm y 500 µm, en particular entre 50 µm y 400 µm.

35 Ventajosamente, por lo menos 90% en peso, en particular 100% en peso, de las partículas que constituyen dichos polvos pueden pasar por un tamiz cuya malla es de 500 µm, en particular de 400 µm.

40 Por lo menos 90% en peso, y en particular por lo menos 95% en peso, de las partículas que constituyen dichos polvos pueden resultar retenidas por un tamiz cuya malla es de 10 µm, especialmente de 20 µm, en efecto de 30 µm, en efecto de 50 µm.

Esta repartición se ha seleccionado para permitir la pulverización de los polvos. Con un tamaño de partículas excesivamente pequeño, los polvos son excesivamente pulverulentos para alcanzar correctamente la diana y con un tamaño de partícula excesivamente elevado los polvos no pueden pulverizarse.

45 El compuesto mayoritario de la composición, en particular colágeno, puede presentar una proporción de hinchado a los 20 minutos comprendida entre 0.7 y 1, medida según el protocolo descrito en los ejemplos (ver el ejemplo 4).

50 La composición, en particular en el caso de que dicha composición comprenda por lo menos un glucosaminoglicano, y en particular en el caso de que dicha composición comprenda condroitín sulfato, puede presentar una proporción de hinchado a los 20 minutos comprendida entre 5 y 15, en particular entre 8 y 12, y bastante particularmente entre 10 y 12, medida según el protocolo indicado en los ejemplos (ver el ejemplo 5).

55 Según una forma de realización preferente, la composición se proporciona en forma de unos polvos secos pulverizables.

La composición en forma de polvos comprende en particular:

- 60 - partículas que comprenden colágeno y un monosacárido, y
- opcionalmente, por lo menos glucosaminoglicano y/o trombina.

La composición puede comprender:

- 65 - partículas que comprenden colágeno, un monosacárido y opcionalmente por lo menos un glucosaminoglicano y/o factor de coagulación,

- partículas que comprenden colágeno, un monosacárido y opcionalmente un factor de coagulación y opcionalmente partículas de glucosaminoglicano,

- 5
- partículas que comprenden colágeno y un monosacárido y partículas que comprenden por lo menos un glucosaminoglicano y/o factor de coagulación.

10 En el contexto de la presente invención, la expresión “polvos secos” se refiere a que la composición comprende un contenido limitado de solvente, en particular agua. Dicho contenido limitado puede ser inferior a 20% en peso, en particular inferior a 15% en peso, en particular inferior a 10%, y bastante particularmente inferior a 5% en peso respecto al peso total de la composición.

15 Dicha forma seca puede obtenerse mediante evaporación simple del solvente utilizado, mediante deshidratación con solventes orgánicos.

La composición en forma de polvos secos puede particularmente administrarse mediante pulverización.

En particular, la invención se refiere a un kit que comprende:

- 20
- una composición según la invención, y
  - un dispositivo de pulverización.

25 La composición es tal como se define según la presente descripción. El experto en la materia conoce diversos dispositivos de pulverización para pulverizar composiciones farmacéuticas en forma de polvos.

En particular, el dispositivo puede comprender un reservorio de gas presurizado, en el que dicha presión se libera por medios activadores de activación, en particular con un gatillo.

30 El dispositivo puede comprender:

- medios de activación,
- un reservorio de polvos, en particular que comprende unos polvos según la invención,
- un reservorio de gases, conectado al reservorio de polvos,
- un pulverizador conectado al reservorio de polvos,
- una válvula A acoplada con los medios de activación, en la que dicha válvula A se cierra en el caso de que los medios de activación se encuentren en reposo y, de esta manera, bloquean el flujo de gas entre el reservorio de gas y el reservorio de polvos, y en la que dicha válvula se encuentra abierta en el caso de que los medios de activación se activen con el fin de administrar una inyección de gas para pulverizar por lo menos parte de los polvos.

45 El reservorio de gases puede acoplarse con medios de suministro de gas presurizado, por ejemplo, un sistema de gas comprimido o un tanque de gas comprimido, en particular con el fin de conseguir que el sistema sea autónomo.

50 El dispositivo puede comprender, entre el reservorio de gas y los medios de suministro, una válvula B, en el que dicha válvula B se encuentra acoplada con los medios de activación.

La válvula B se encuentra por defecto en la posición abierta, excepto en el caso de que se activen los medios de activación, en cuyo caso se encontrará cerrada.

55 De esta manera, en el caso de que la válvula A se encuentre abierta, la válvula B se encontrará cerrada, y viceversa. Esto permite la administración de una cantidad predeterminada de gas presurizado para administrar una dosis de polvos, impidiendo simultáneamente que contaminantes entren en contacto con el interior del dispositivo.

60 En el caso de que el dispositivo no se acople con medios de suministro de gas, la válvula B preferentemente se encontrará cerrada. Esto puede ayudar a limitar los riesgos de contaminación del interior del dispositivo.

65 Bastante particularmente, el reservorio de polvos presenta la forma de un cilindro que comprende varias dosis de polvos. Dicho cilindro puede acoplarse con un propulsor activado por el flujo de gas, permitiendo pulverizar los polvos y, de esta manera, girando el cilindro y cambiando la dosis de polvos después de la activación de los

medios de activación.

5 Las dosis presentes en el cilindro pueden sellarse con el fin de que sean estériles, en particular con un componente que se rompe al cruzar el flujo de gas la dosis anteriormente indicada. Esto permite conservar las dosis en un medio estéril.

El volumen de una dosis puede ser de aproximadamente 0.2 cm<sup>3</sup> a 1 cm<sup>3</sup>, en particular de aproximadamente 0.3 cm<sup>3</sup>.

10 El gas utilizado puede ser aire, dióxido de carbono o cualquier gas inerte.

En particular, el dispositivo es tal como el indicado en la patente europea n° EP11163820.1 y en la solicitud provisional de patente US n° 61/479.805, ambas presentadas el 27 de abril de 2011.

15 La presente invención se refiere además a un procedimiento para preparar una composición hemostática, especialmente tal como se ha definido anteriormente, que comprende por lo menos las etapas siguientes:

- 20 a) formación de una suspensión acuosa que comprende, en efecto que consiste en, colágeno del tipo fibrilar, que principalmente comprende colágeno fibroso y/o fibrilar, y un monosacárido, tal como glucosa,
- b) recuperación del producto en forma de precipitado, pasta o gel, especialmente mediante centrifugación o decantación,
- 25 c) secado del producto, por ejemplo, mediante evaporación,
- d) molienda del producto a la granulometría deseada, en particular mediante un molino de martillo, y
- e) opcionalmente, la adición de trombina y/o condroitín sulfatos, especialmente en forma sólida, en particular en forma de polvos.

30 La formación en la etapa a) de una suspensión acuosa que comprende el colágeno fibroso/fibrilar y un monosacárido conduce a una repartición homogénea del monosacárido en torno a las moléculas de colágeno. Además, el contacto estrecho entre las especies moleculares de colágeno y el monosacárido conduce, tras la deshidratación, a una torta dura adecuada para obtener, mediante molienda, unos polvos con la densidad elevada requerida. Por el contrario, la mezcla de unos polvos de colágeno y unos polvos de glucosa no conduce a unos polvos homogéneos y pulverizables, en particular debido a la densidad y cargas eléctricas.

35 En la etapa a), el colágeno puede encontrarse presente a una concentración comprendida entre 30 g/l y 150 g/l.

40 El monosacárido puede añadirse a la suspensión o a la pasta de colágeno homogénea en una cantidad tal como la definida en la descripción, y más particularmente de aproximadamente 2% a 5% en peso respecto al peso del colágeno.

45 En la etapa a), el monosacárido puede encontrarse presente a una concentración comprendida entre 0.3 g/l y 10 g/l.

50 La suspensión acuosa de colágeno de la etapa a) puede ser ácida, y en particular comprender un ácido, tal como ácido clorhídrico. Dicho ácido puede encontrarse presente a una concentración comprendida entre 0.01 M y 0.5 M, y en particular entre 0.02 M y 0.1 M, en efecto de aproximadamente 0.05 M. Dicha suspensión puede encontrarse en forma de pasta homogénea.

La etapa b) puede comprender el vertido de la suspensión en un molde.

55 La etapa c) se lleva a cabo de manera que se obtiene una torta tan gruesa como resulte posible (superior a la granulometría final deseada), con una densidad muy elevada y el menor número posible de burbujas de aire (menos de 5%) dentro de la torta.

60 A la etapa d) puede seguir una etapa de tamizado de los polvos, notablemente con el fin de obtener la granulometría deseada.

Según una forma de realización preferente, la etapa a) consiste en formar una mezcla que comprende 95% en peso de colágeno del tipo fibrilar y 5% en peso de glucosa. Tras secar (etapa b)) y moler (etapa c)) esta mezcla, se añade condroitín sulfato en un contenido de 10% en peso del peso total de la mezcla, de manera que la composición final comprende:

- colágeno: 86,36% en peso respecto al peso total de la composición,

- glucosa: 4,54% en peso respecto al peso total de la composición,
- condroitín sulfato: 9,09% en peso respecto al peso total de la composición.

5 En el caso de que también se añada trombina, representa un contenido final inferior a 0.01% en peso respecto al peso total de la composición. En la mezcla anterior, la trombina puede encontrarse en una cantidad de 0.083 UI/mg de la composición.

10 Según otra forma de realización, la invención se refiere además a los polvos obtenibles mediante el procedimiento de la invención.

15 Para la totalidad de los productos de polvos anteriormente indicados, resulta bastante evidentemente posible aplicar una molienda más o menos rigurosa para obtener unos polvos de granulometría variable según el tipo de molienda y la duración de la misma.

Según otro de sus aspectos, la presente invención se refiere a la utilización de una composición tal como se ha definido anteriormente como agente hemostático.

20 Según todavía otro de sus aspectos, la invención se refiere a una composición farmacéutica o fármaco que comprende, en efecto que consiste en, una composición tal como se ha definido anteriormente, en particular como un agente hemostático.

25 Según otro de sus aspectos, la invención se refiere a la utilización de una composición tal como se ha definido anteriormente para preparar un fármaco o composición farmacéutica, en particular un fármaco hemostático o composición farmacéutica.

30 Según otro de sus aspectos, la presente invención se refiere a un procedimiento hemostático que comprende el depósito y/o la pulverización de una composición tal como se ha definido anteriormente sobre una parte con hemorragia del cuerpo de un animal. En particular, la composición puede utilizarse en procedimientos quirúrgicos, en particular laparatomías, laparoscopias, celioscopias y procedimientos robotizados.

35 La invención se refiere además a un procedimiento hemostático que comprende una etapa de pulverización de una composición de la invención.

Según otro de sus aspectos, la presente invención se refiere a la utilización de una composición tal como se ha definido anteriormente como adhesivo biológico.

40 Según todavía otro de sus aspectos, la presente invención se refiere a la utilización de una composición tal como se ha definido anteriormente como agente de cicatrización para heridas internas y externas. La expresión "agente cicatrizante" se refiere a un producto que permite obtener una cicatrización clínicamente satisfactoria de los tejidos con los que se encuentra en contacto.

### 45 Ejemplos

#### Ejemplos 1: protocolo para medir la densidad

50 El producto que debe someterse a ensayo (600 mg), en particular en forma de polvos, se introduce en un cilindro graduado de 5 ml. Se mide la altura del producto y se registra el volumen correspondiente. La medición se repite tres veces. A continuación, el producto se compacta tres veces mediante golpeteo del tubo 100 veces sobre una superficie dura. Se mide nuevamente la altura del producto y el volumen correspondiente. De esta manera, se obtienen las densidades del producto antes y después de la compactación, denominadas densidad de carga y densidad compactada, respectivamente.

#### 55 Ejemplo 2: protocolo para medir la capacidad hemostática *in vitro*

60 Se mantuvo sangre humana citrada (aproximadamente 0,1 M) a 37°C en un baño de agua durante la medición. El producto que debía someterse a ensayo (10 mg) se depositó en un tubo de polipropileno de 5 ml con un tapón a presión, y después se añadió la sangre fresca citrada (2 ml). A continuación, se añadió CaCl<sub>2</sub>, de manera que la concentración de CaCl<sub>2</sub> final en la sangre fuese de 15 mM y después se cerró el tubo de ensayo. Seguidamente se mezcló el contenido mediante inversiones vigorosas (10 veces) y después el tubo de ensayo se sumergió en el baño de agua; el tubo de ensayo se devolvió a la posición vertical cada 10 segundos. Se registró el tiempo requerido para formar un coágulo, correspondiente a la capacidad hemostática.

**Ejemplo 3: protocolo para medir el tamaño de partícula**

5 Se tamizó una cantidad conocida de producto, especialmente de polvos, a través de tamices de 50 µm, 100 µm, 200 µm, 300 µm y 400 µm durante 2 minutos (cada tamiz). Se pesaron las fracciones de cada tamiz. Se determinó la proporción de cada intervalo de granulometría.

**Ejemplo 4: protocolo para medir el hinchado del compuesto mayoritario de la composición**

10 El compuesto, en particular colágeno (40 mg a 70 mg) se pesó en un platillo de pesada. En otro platillo de pesada, se depositaron 6 ml de NaCl 0.15 M. El compuesto que debía someterse a ensayo se depositó sobre NaCl 0.15 M (t=0). Tras 20 minutos, se eliminó el exceso de líquido y se pesó el producto hinchado. La proporción de hinchado corresponde a la cantidad de agua absorbida en relación al peso del producto inicial seco.

**Ejemplo 5: protocolo para medir el hinchado de la composición**

15 Se pesó un matraz de 15 ml ( $m_0$ , en mg) y después se añadieron X mg de los polvos de la composición seca ( $m_{0+x}$ , en mg). Se añadió una solución acuosa de NaCl 0.15 M (2 ml) y se dejó que se hinchase la composición durante 20 minutos; a continuación, se centrifugó el matraz a 1,000 rpm.

20 Se eliminó el exceso de NaCl con una pipeta Pasteur y se eliminaron las gotas haciendo girar el matraz sobre papel de filtro; a continuación, se pesó el matraz con los polvos húmedos ( $m_1$ , en mg).

25 Se calculó la proporción de hinchado de la manera siguiente:  $((m_1 - m_0) / (m_{0+x} - m_0))$ .

**Ejemplo 6: preparación de colágeno del tipo fibrilar mediante extracción básica**

30 Trozos de dermis de cerdo (30 kg), desgrasados con acetona, se dejaron hinchar durante 3 horas en 100 kg de solución de NaOH 0.05 M. Las dermis se cortaron finamente en un molino de corte y la pasta obtenida se diluyó con 50 litros de NaOH 0.05 M. A continuación, la mezcla se tamizó bajo presión a través de un tamiz de 1 mm. La pasta obtenida seguidamente se llevó a pH 6-7.5 con HCl y el precipitado obtenido se recolectó mediante centrifugación o filtración a través de un tamiz de 1 mm.

35 El retenido se deshidrató con acetona según procedimientos conocidos por el experto en la materia. De esta manera, este retenido deshidratado consiste en colágeno del tipo fibrilar, con un gran contenido en colágeno fibrilar/fibroso respecto al colágeno no fibrilar. Generalmente, dicho colágeno extraído comprende entre 85% y 95% en peso de colágeno fibrilar/fibroso respecto al peso total del colágeno, y entre 5% y 15% en peso de colágeno no fibrilar respecto al peso total del colágeno.

**Ejemplo 7: preparación de los polvos hemostáticos nº 1**

40 Se añadieron 30 g de colágeno del tipo fibrilar tal como se preparó en el ejemplo 6, a 1 l de una solución acuosa de HCl 0.02 M y la mezcla seguidamente se agitó durante 5 horas. A continuación, a la pasta homogénea obtenida se añadió fructosa en polvo en una cantidad de 2% (0.6 g) en peso respecto al peso del colágeno.

45 La mezcla se homogeneizó durante 1 hora y después se vertió y se deshidrató. Tras el secado, el producto seco se molió a una tasa de 25 g/min utilizando un molino de martillo Fitzpatrick a 7,000 rpm bajo calentamiento controlado. A continuación, el producto se tamizó mediante cribado mecánico para eliminar las partículas cuyo tamaño fuese superior a 400 µm.

50 A continuación, se añadió dermatán sulfato a los polvos en una cantidad de 2% en peso respecto a la materia seca de los polvos (0.612 g).

55 A continuación, la mezcla se homogeneizó utilizando un molino de bolas, se añadió trombina liofilizada a la mezcla en una cantidad de 15 UI/mg de polvos, y finalmente la mezcla se homogeneizó utilizando un molino de bolas.

**Ejemplo 8: preparación de los polvos hemostáticos nº 2**

60 Se añadieron 7.5 kg de colágeno del tipo fibrilar tal como se había preparado en el ejemplo 6, a 50 l de una solución acuosa de HCl 0.05 M y la mezcla seguidamente se agitó durante 16 horas. A continuación, a la pasta homogénea obtenida, se añadió fructosa en polvo en una cantidad de 5% (375 g) en peso respecto al peso del colágeno.

65 La mezcla se homogeneizó durante 3 horas y después se distribuyó sobre placas y se deshidrató. Tras el secado, el producto seco se molió mediante fracción a una tasa de 5 g/min utilizando un molino de martillos a

12,000 rpm bajo calentamiento controlado. A continuación, el producto se tamizó mediante cribado mecánico para eliminar partículas cuyo tamaño fuese superior a 400 µm e inferior a 50 µm.

5 Se midió la granulometría con el fin de verificar que la distribución era tal que 60% de la muestra en peso presentaba una granulometría superior a 200 µm.

A continuación, se añadieron condroitín sulfatos purificados a los polvos en una cantidad de 20% en peso respecto a la materia seca de los polvos (1.575 kg). La mezcla se homogeneizó utilizando un molino de bolas.

10 Finalmente, se añadió trombina liofilizada a la mezcla en una cantidad de 10 UI/mg de polvos. Tal como anteriormente, la mezcla se homogeneizó utilizando un molino de bolas.

#### **Ejemplo 9: preparación de los polvos hemostáticos nº 3**

15 Se añadieron 1000 g de colágeno del tipo fibrilar tal como se habían preparado en el ejemplo 6, a 60 ml de una solución acuosa de HCl 0.02 M y la mezcla seguidamente se agitó durante 5 horas. Seguidamente, a la pasta homogénea obtenida, se añadió glucosa en polvo en una cantidad de 5% (50 g) en peso respecto al peso del colágeno.

20 La mezcla se homogeneizó durante 1 hora y después se vertió y se deshidrató. Tras el secado, el producto seco se molió a una tasa de 25 g/min utilizando un molino de martillo de Fitzpatrick a 7,000 rpm bajo calentamiento controlado. A continuación, el producto se tamizó mediante cribado mecánica para eliminar las partículas cuyo tamaño fuese superior a 400 µm e inferior a 50 µm.

25 A continuación, se añadió condroitín sulfato a los polvos en una cantidad de 10% en peso respecto a la materia seca de los polvos (105 g). La mezcla seguidamente se homogeneizó utilizando un molino de bolas.

Dicha composición de polvos presentaba una densidad compactada de aproximadamente 0.408 g/ml.

#### **Ejemplo 10: preparación de los polvos hemostáticos nº 4**

30 Se añadieron 500 g de colágeno del tipo fibrilar tal como se había preparado en le ejemplo 6, a 30 ml de una solución acuosa de HCl 0.02 M y la mezcla seguidamente se agitó durante 5 horas. A continuación, a la pasta homogénea obtenida, se añadió glucosa en polvo en una cantidad de 5% (25 g) en peso respecto al peso del colágeno.

35 La mezcla se homogeneizó durante 1 hora y después se vertió y se deshidrató. Tras el secado, el producto seco se molió a una tasa de 25 g/min utilizando un molino de bolas de Fitzpatrick a 7,000 rpm bajo calentamiento controlado. El producto seguidamente se tamizó mediante cribado mecánico para eliminar las partículas cuyo tamaño fuese superior a 400 µm e inferior a 50 µm.

40 A continuación, se añadió condroitín sulfato mezclado con trombina en polvo a los polvos en una cantidad de 10% en peso respecto a la materia seca d ellos polvos (52.5 g). Se añadió trombina a la mezcla en una cantidad final de 0.85 U/mg. La mezcla seguidamente se homogeneizó utilizando un molino de bolas.

45 Dicha composición de polvos presentaba una densidad compactada de aproximadamente 0.425 g/ml.

#### **Ejemplo 11: rendimiento de los polvos a base de colágeno hemostáticos nº 3**

50 Los polvos a base de colágeno nº 3 tal como se habían preparado en el ejemplo 9 que contenían colágeno, glucosa, condroitín sulfato, sin trombina, se sometieron a ensayo durante experimentos in vivo.

El protocolo de la experimentación fue el siguiente:

55 - se crearon heridas en la superficie del lóbulo hepático paramediano izquierdo, de un tamaño de aproximadamente  $10 \times 10 \times 1-3 \text{ mm}^3$ .

60 - A continuación, se aplicó un producto a ensayo, durante 30 segundos. Se aplicó suficiente producto para cubrir la herida; el material de ensayo se retuvo en el sitio de la herida mediante compresión suave utilizando una gasa.

65 - Seguidamente se realizó un gradado de sangrado para evaluar el porcentaje de hemostasis alcanzado. En el caso de que se alcanzase una hemostasis clínicamente aceptable, se detenía la experimentación. En caso contrario, se llevaba a cabo otra tanda de compresión-gradado, hasta 5 tandas de compresión. El producto bajo experimentación se renovó en cada tanda.

La experimentación se llevó a cabo con los productos siguientes: una gasa sin ninguna composición hemostática (denominada "Control"), una gasa cubierta con los polvos hemostáticos nº 3 (denominados "GHP nº 3"), la gasa hemostática "Avitene" de Davol (denominada "Avitene", compuesta de fibras de colágeno), la gasa hemostática "Surgicel" de Ethicon (denominada "Surgicel", compuesta de celulosa oxidada).

Se resumen los resultados en la Tabla nº 1, a continuación, que muestra el porcentaje de hemostasis alcanzada para cada producto:

Tabla nº 1

	Tanda 1	Tanda 2	Tanda 3	Tanda 4	Tanda 5
Control	18.2%	36.4%	36.4%	63.6%	63.6%
GHP nº 3	81.8%	100%	100%	100%	100%
Avitene	85.7%	85.7%	71.4%	100%	100%
Surgicel	71.4%	100%	100%	100%	100%

La presente experimentación muestra que los polvos hemostáticos propuestos son muy eficientes muy rápidamente, ya que la hemostasis es completa tras sólo dos tandas, con una eficiencia superior a 80% ya después de la primera tanda.

Para "Avitene", la reducción del porcentaje de hemostasis alcanzado entre la tanda 2 y la tanda 3 se debe al hecho de que la herida ha sangrado nuevamente.

**Ejemplo 12: rendimiento de los polvos a base de colágeno hemostáticos nº 4**

Se sometieron a ensayo los polvos a base de colágeno nº 4, preparados tal como en el ejemplo 10 que contenían colágeno, glucosa, condroitín sulfato y trombina, durante las experimentaciones in vivo.

El protocolo de la experimentación fue el siguiente:

- Modelo animal: cerdos heparinizados.
- Cirugía abdominal:
  - o Laparoscopia de línea media; exposición del hígado; con escalpelo, heridas tangenciales en el hígado de aproximadamente 10\*10\*1-3 mm<sup>3</sup>.
  - o Se aplicó un producto a ensayo de manera que la herida se encontrase bien cubierta; compresión durante 2 min.
  - o Gradado de sangrado (escala de 0 a 4). En caso de éxito, se detenía en la tanda 1. Por el contrario, se permitieron tandas nuevas de compresión y puntuación del sangrado. Se permitieron 5 tandas.
- Cirugía de la cresta ilíaca:
  - o Incisiones dorsolaterales en piel y músculo para exponer las crestas ilíacas; corticotomía con exposición del hueso esponjoso (defectos de aproximadamente 12\*12\*3 mm<sup>3</sup>).
  - o Se aplicó un producto a ensayo de manera que la herida se encontrase bien cubierta; compresión durante 2 min.
  - o Puntuación de sangrado inicial y gradado adicional del sangrado (escala de 0 a 4). En caso de éxito, se detenía en la tanda 1. Por el contrario, se permitieron tandas nuevas de compresión y puntuación del sangrado. Se permitieron 5 tandas.

La experimentación se llevó a cabo con los productos siguientes: una gasa sin ninguna composición hemostática (denominada "Control"), una gasa cubierta con los polvos hemostáticos nº 4 (denominados "GHP nº 4"), la gasa hemostática "Flo seal" de Baxter (denominada "Flo seal", compuesta de gel de matriz de gelatina + trombina), la gasa hemostática "Surgicel" de Ethicon (denominada "Surgicel", compuesta de celulosa oxidada).

- Los resultados fueron los siguientes: cirugía abdominal (n=8 a 10 repeticiones) – resultados proporcionados tras 10 min de compresión (=5 tandas de 2 min cada una).
  - o Control: fracaso 10/10

- o GHP nº 4: éxito 11/11
- o Floseal: éxito 9/9
- 5 o Surgicel: éxito 8/10, fracaso 2/10
- Ortopedia (n=4 repeticiones) – resultados proporcionados tras 10 min de compresión (=5 tandas de 2 min cada una).
- 10 o Control: éxito 1/4, fracaso ¾
- o GHP nº 4: éxito 4/4
- 15 o Floseal: éxito 3/4, fracaso ¼
- o Surgicel: éxito 4/4

La presente experimentación muestra que los polvos hemostáticos propuestos son 100% eficientes para cualquier tipo de heridas, al contrario que los productos del mercado, que son más específicos de herida.

**Ejemplo 13: caracterización del colágeno → presencia de colágeno soluble en el colágeno; determinación de la proporción entre colágeno fibrilar/fibroso y colágeno no fibrilar**

El objetivo de la experimentación era determinar la proporción de colágeno fibrilar/fibroso a colágeno no fibrilar en un colágeno (colágeno extraído o colágeno molido en polvo). Dicha proporción puede determinarse mediante el estudio de la proporción de colágeno insoluble (correspondiente al colágeno fibrilar/fibroso) a colágeno soluble (correspondiente al colágeno no fibrilar) en el colágeno.

La experimentación consistió en la solubilización de aproximadamente 2.5 g del colágeno a ensayo en 166 ml de agua a pH 13 durante 16 horas. A continuación, se centrifugó la solución (10 000 rpm durante 10 minutos). A continuación, se separó el sobrenadante (correspondiente al colágeno no fibrilar) y el residuo (correspondiente al colágeno fibroso/fibrilar). El residuo se secó directamente con baños sucesivos de acetona y bajo un flujo de aire controlado. Se ajustó el pH del sobrenadante a pH 3 con ácido acético y ácido clorhídrico 6 M. Se obtuvo el colágeno sólido a partir del sobrenadante mediante la adición de NaCl 0.6 M y llevando a cabo una centrifugación. A continuación, se secó con baños sucesivos de acetona y bajo un flujo de aire controlado.

Se calcularon los pesos de colágeno a partir del residuo ( $M_{\text{residuo}}$ ) y del sobrenadante ( $M_{\text{sobrenadante}}$ ), y la fórmula  $M_{\text{residuo}}/(M_{\text{residuo}} + M_{\text{sobrenadante}}) \times 100$  proporciona el porcentaje de colágeno fibroso respecto a la cantidad total de colágeno.

En la invención, la proporción  $M_{\text{residuo}}/(M_{\text{residuo}} + M_{\text{sobrenadante}})$  debe ser superior a 80% para el colágeno utilizado para preparar los polvos y para los polvos de colágeno finales. Preferentemente, la proporción es superior a 85%.

Por ejemplo, la experimentación anterior realizada en tres lotes de colágeno preparados tal como en el ejemplo 6 proporciona proporciones muy similares: 92.67%, 94.60% y 91.51%, respectivamente. Tras moler el colágeno de estos tres lotes, la proporción se mantuvo muy similar, ya que era de 91.63%, 88.02% y 88.69%, respectivamente.

Otro modo de mostrar la presencia de colágeno fibroso/fibrilar y el colágeno soluble es realizar una electroforesis en SDS-page.

La figura 1 ilustra dicha electroforesis, en donde la muestra S1 corresponde al sobrenadante de un primer lote (preparado a partir del colágeno extraído tal como en el ejemplo 6), la muestra S2 corresponde al residuo de dicho primer lote y la muestra S3 corresponde al sobrenadante de un segundo lote (también preparado a partir de colágeno extraído tal como en el ejemplo 6); la muestra S4 corresponde al residuo de dicho segundo lote.

Los resultados muestran que, para el colágeno del residuo, una mayor cantidad de fibra no puede migrar a través del gel de acrilamida y se tinte en el tope del gel. La preparación de la muestra no permite dividir cada cadena del colágeno. Por lo tanto, las cadenas alfa se encuentran presentes en una cantidad muy baja. El colágeno del sobrenadante es capaz de migrar completamente en el gel: no hay fibras bloqueadas en el tope; las cadenas del colágeno se dividen apropiadamente durante el procedimiento de electroforesis.

**Datos bibliográficos**

- WO 2005/072700

## ES 2 742 269 T3

- "Nature designs tough collagen: explaining the nanostructure of collagen fibrils," by Markus Buehler (PNAS, 15 de agosto, 2006, vol.103, nº 33, páginas 12285 a 12290)
- 5 - "Extraction of collagen from connective tissue by neutral salt solutions", de Jérôme Gross, John H. Highberger y Francis O. Schmitt (Proceedings of the NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, volumen 41, número I, 15 de enero, 1955)
- 10 - WO 2010/125086
- FR 2 944 706
- WO 01/97873

**REIVINDICACIONES**

1. Composición hemostática en forma de polvos que comprende:
  - 5 - colágeno del tipo fibrilar que comprende un contenido de colágeno fibroso y/o colágeno fibrilar de por lo menos 70% en peso respecto al peso total del colágeno, estando dicho colágeno en un contenido comprendido entre 75% y 96% en peso respecto al peso total de la composición,
  - 10 - por lo menos un monosacárido en un contenido comprendido entre 1% y 12.5% en peso respecto al peso total de la composición, y
  - por lo menos un glucosaminoglicano en un contenido comprendido entre 2% y 25% en peso respecto al peso total de la composición.
- 15 2. Composición según la reivindicación 1, en la que dicha composición comprende una proporción en peso de colágeno/monosacárido comprendida entre 10 y 50, y preferentemente de 19.
3. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en la que el colágeno comprende un contenido de colágeno fibroso y/o colágeno fibrilar comprendido entre 85% y 95% en peso respecto al peso total del colágeno.
- 20 4. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que dicha composición comprende asimismo una proporción en peso de colágeno/compuestos carbohidrato totales comprendida entre 2 y 40, en la que el peso de los compuestos carbohidratos totales es la suma del peso del/de los monosacárido(s) y el peso del/de los glucosaminoglicano(s).
- 25 5. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que dicha composición comprende asimismo un factor de coagulación, en particular trombina, en una cantidad comprendida entre 0.01 UI/mg y 20 UI/mg de la composición.
- 30 6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicha composición presenta una densidad compactada superior a 0.4 g/ml.
7. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que dicha composición comprende por lo menos 50% en peso de partículas cuyo tamaño está comprendido entre 200 µm y 400 µm.
- 35 8. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que el glucosaminoglicano se selecciona de entre condroitín sulfato, dermatán sulfato, ácido hialurónico y mezclas de los mismos.
- 40 9. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que:
  - el colágeno está en un contenido comprendido entre 80% y 90% en peso respecto al peso total de la composición,
  - 45 - dicho por lo menos un monosacárido está en un contenido comprendido entre 2.5% y 7.5% en peso respecto al peso total de la composición, y
  - dicho por lo menos un glucosaminoglicano en un contenido comprendido entre 5% y 12.5% en peso respecto al peso total de la composición.
- 50 10. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende:
  - colágeno en una cantidad de 86.36% en peso respecto al peso total de la composición,
  - 55 - glucosa, en una cantidad de 4.54% en peso respecto al peso total de la composición,
  - condroitín sulfato, en una cantidad de 9.09% en peso respecto al peso total de la composición.
- 60 11. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10, que comprende asimismo trombina, en una cantidad comprendida entre 0.2 UI/mg y 2 UI/mg de la composición.
12. Procedimiento para preparar una composición hemostática que comprende por lo menos las etapas siguientes:
  - 65 a) formación de una suspensión acuosa que comprende un colágeno de tipo fibrilar que presenta un contenido de colágeno fibroso y/o colágeno fibrilar de por lo menos 70% en peso respecto al peso total

del colágeno, y por lo menos un monosacárido, con un contenido de colágeno comprendido entre 75% y 96% en peso respecto al peso total de la composición y un contenido de monosacárido comprendido entre 1% y 12.5% en peso respecto al peso total de la composición,

- 5        b) recuperación del producto en forma de precipitado, pasta o gel, especialmente mediante centrifugación o decantación,
- c) secado del producto,
- 10        d) molienda del producto a la granulometría deseada,
- e) adición de por lo menos un glucosaminoglicano en un contenido comprendido entre 2% y 25% en peso respecto al peso total de la composición.
- 15        13. Procedimiento según la reivindicación 12, en el que el colágeno utilizado en la etapa a) se obtiene mediante extracción básica.
14. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 12 o 13, en el que en la etapa e) se añade asimismo por lo menos un factor de coagulación, especialmente trombina.
- 20        15. Composición según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 o según se obtiene mediante el procedimiento definido en la reivindicación 12 para la utilización de la misma como un agente hemostático.
- 25        16. Kit que comprende.
- la composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, y
  - un dispositivo de pulverización.

Fig. 1

S1 S2 S3 S4

