

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 767 878**

51 Int. Cl.:

C08G 63/91 (2006.01)

C08L 67/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.04.2010 PCT/US2010/031272**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.10.2010 WO10121051**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.04.2010 E 10765198 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019 EP 2419469**

54 Título: **Composiciones proteínicas de fase invertible biocompatibles y procedimientos para producir y usar las mismas**

30 Prioridad:

17.04.2009 US 170545 P

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

18.06.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**HANDLEY, IAN y
WONG, JOANNA**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 767 878 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 proteínicas de fase invertible biocompatibles y procedimientos para producir y usar las mismas

Antecedentes de la invención**Campo de la invención**

- 5 El campo de las composiciones proteínicas de fase invertible biocompatibles y procedimientos para producir y usar las mismas.

Se han utilizado varias composiciones selladoras para controlar la fuga de líquido en un sitio quirúrgico, así como para otras aplicaciones. Sin embargo, las composiciones selladoras disponibles actualmente pueden sufrir serias limitaciones con respecto al campo en el que pueden usarse, así como su biocompatibilidad y sus propiedades físicas. Los efectos secundarios, tales como inflamación, formación fibrosa aguda en el sitio de la herida, toxicidad, incapacidad para utilizar en un campo sangriento, malas propiedades físicas del sellador y mala adhesión al sitio quirúrgico, pueden tener un grave impacto en el paciente y, en consecuencia, pueden desempeñar un papel importante en la eficacia a largo plazo de la reparación. Además, los selladores útiles tienen propiedades que pueden hacerlos más efectivos para la aplicación quirúrgica. Las características, tales como la capacidad de localización en una ubicación específica, los tiempos de polimerización adecuadamente largos o cortos y las características de resorción *in vivo* adecuadas, son vitales para completar con éxito el procedimiento de sellado.

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

Antecedentes de la técnica

- 20 Se han notificado diversas composiciones y aplicaciones de fase invertible en las patentes de Estados Unidos n.º: 3.438.374; 5.292.362; 5.385.606; 5.575.815; 5.583.1 14; 5.843.156; 6.162.241; 6.290.729; 6.310.036; 6.329.337; 6.371.975; 6.372.229; 6.423.333; y 6.458.147; así como las solicitudes de Estados Unidos n.º: 2002/0015724; 2002/0022588; 2002/0183244; y 2004/0081676.

- 25 El documento WO 2004/012678 A2 describe composiciones proteínicas de fase invertible biocompatibles, que se preparan combinando un sustrato proteínico y un reticulante. El sustrato proteínico incluye una o más proteínas y un modificador de adhesión, y el reticulante puede ser un dialdehído tratado térmicamente, por ejemplo, glutaraldehído tratado térmicamente.

- 30 El documento US 2004/052850 A1 describe un sellante de tejido hemostático proteínico que comprende un material de sustrato y un agente de reticulación, en el que el material de sustrato comprende un material proteínico, un carbohidrato y un modificador de adhesión.

Breve resumen de la invención

- Se proporcionan composiciones proteínicas de fase invertible biocompatibles y procedimientos para producir y usar las mismas. Las composiciones de fase invertible objeto se preparan combinando un reticulante y un sustrato. El sustrato incluye un material proteínico y una poliamina en una proporción en peso que tiene un efecto sinérgico de mejora de la viscosidad sobre la composición del sustrato y, al menos en muchas realizaciones, el sustrato incluye un carbohidrato. El material proteínico incluye una o más proteínas, tal como una proteína de albúmina. La poliamina es una amina polimérica catiónica, tal como una polietilenoimina. El agente de reticulación comprende un agente de reticulación que comprende un producto de reacción de un exceso de un agente de reticulación de dialdehído líquido y un glicosaminoglicano. En ciertas realizaciones, el reticulante es un agente de reticulación macromolecular, tal como un dialdehído tratado térmicamente reticulado a un polímero fisiológicamente aceptable, tal como un glicosaminoglicano. En ciertas realizaciones, la viscosidad cinemática del sustrato y el reticulante son aproximadamente iguales. También se proporcionan métodos de producción y kits para usar en la preparación de las composiciones objeto. Las composiciones objeto, los métodos, los kits y los sistemas se utilizan en diversas aplicaciones diferentes.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 ilustra el efecto sinérgico de la polietilenoimina (PEI) sobre la viscosidad cinemática de diversas composiciones de fase invertible biocompatible de acuerdo con realizaciones representativas de la presente invención.

Descripción detallada de la invención

Se proporcionan composiciones proteínicas de fase invertible biocompatibles y procedimientos para producir y usar las mismas. Las composiciones de fase invertible objeto se preparan combinando un reticulante y un sustrato, donde el sustrato incluye un material proteínico y una poliamina en una proporción en peso que tiene un efecto sinérgico de mejora de la viscosidad sobre la composición del sustrato. A proporciones en peso particulares de poliamina a material proteínico, El inesperado efecto sinérgico de aumentar la viscosidad cinemática del sustrato disminuye significativamente la velocidad de flujo desde el sitio de aplicación hasta el nivel deseado, mientras se promueve la mezcla y curado eficientes de las composiciones combinadas de reticulante y sustrato, aumentando así la utilidad de las composiciones proteicas de fase invertible biocompatible. También se proporcionan kits para usar en la preparación de las composiciones objeto. Las composiciones objeto, los kits y los sistemas se utilizan en diversas aplicaciones diferentes.

Antes de que la presente invención se describa con más detalle, ha de comprenderse que la presente invención no se limita a las realizaciones particulares descritas, ya que pueden, por supuesto, variar. También debe entenderse que la terminología utilizada en el presente documento únicamente tiene el fin de describir realizaciones particulares, y no se pretende que sea limitante, ya que el alcance de la presente invención estará limitado únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, al décimo 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 el intervalo indicado, está comprendido dentro de la invención. Pueden incluirse independientemente los límites superiores e inferiores de estos intervalos más pequeños y también se encuentran incluidos en la invención, sujetos a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo indicado. Cuando el intervalo indicado incluye uno o ambos límites, también se incluyen en la invención los intervalos que excluyen uno cualquiera o ambos límites incluidos.

En el presente documento se presentan determinados valores con valores numéricos que están precedidos por el término "aproximadamente". En el presente documento, el término "aproximadamente" se usa para proporcionar una ayuda literal al número exacto al que antecede, así como un número que es próximo a o aproximadamente el número que precede al término. En la determinación de si un número es próximo a o aproximadamente un número citado específicamente, el número no citado próximo o aproximado puede ser un número que, en el contexto en el que se presenta, proporciona el equivalente sustancial del número citado específicamente.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el comprendido habitualmente por un experto en la técnica a la que pertenece la presente invención. Aunque también pueden usarse en la puesta en práctica o el ensayo de la presente invención cualesquier métodos y materiales similares o equivalentes a los que se describen en el presente documento, a continuación, se describen métodos y materiales ilustrativos representativos.

Todas las publicaciones y patentes citadas en esta especificación se incorporan en el presente documento como referencia como si cada publicación o patente individual se indicara específica e individualmente para incorporarse como referencia y se incorpore aquí como referencia para divulgar y describir los métodos y/o materiales en relación con los cuales se citan las publicaciones. La mención de cualquier publicación es para su divulgación antes de la fecha de presentación y no debe interpretarse como admisión de que la presente invención no tiene derecho a preceder a dicha publicación en virtud de la invención anterior. Además, las fechas de publicación proporcionadas pueden ser diferentes de las fechas de publicación reales, lo que podría necesitar ser confirmado de manera independiente.

Se indica que, tal como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un/a", "uno/a" y "el/la" incluyen las referencias en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Se observa además que las reivindicaciones pueden redactarse para excluir cualquier elemento opcional. Como tal, esta afirmación pretende servir como fundamento para el uso de dicha terminología excluyente tal como "solamente", "solo" y similares en relación con la cita de los elementos de las reivindicaciones o para el uso de una limitación "negativa".

Tal como será evidente para los expertos en la técnica tras la lectura de la presente divulgación, cada una de las realizaciones individuales descritas e ilustradas en el presente documento tiene características y componentes discretos que fácilmente pueden separarse o combinarse con las características de cualquiera de las otras realizaciones sin apartarse del alcance o espíritu de la presente invención. Cualquier método citado puede llevarse a cabo en el orden de los eventos citados o en cualquier otro orden que sea posible lógicamente.

En la descripción adicional de la invención sujeto, las composiciones de fase invertible objeto se describen primero con mayor detalle, seguido de una revisión de aplicaciones representativas en las que las composiciones encuentran

uso, así como una revisión de kits y sistemas que encuentran uso en la fabricación o uso de las composiciones de fase invertible objeto.

Composición proteínica de fase invertible biocompatible

- 5 Como se ha resumido anteriormente, la presente invención proporciona una composición proteínica de fase invertible biocompatible que, con el tiempo, se somete a una inversión de fase desde un primer estado fluido a un segundo, estado sólido. Las composiciones de fase invertible objeto se caracterizan por ser capaces de unir tejido tanto en ambientes húmedos (por ejemplo, sangre) como secos, en los que la adhesión de la composición al tejido es excepcionalmente fuerte. Una característica adicional de las composiciones objeto es que son bien toleradas y no provocan una respuesta inflamatoria sustancial, si hay alguna respuesta inflamatoria.
- 10 Las composiciones proteínicas de fase invertible objeto se preparan combinando o mezclando un sustrato proteínico con un reticulante. Cada uno de estos componentes o composiciones precursoras se revisa ahora por separado con mayor detalle.

Sustrato proteínico

- 15 El sustrato a partir del cual se preparan las composiciones de fase invertible objeto es un sustrato proteínico, y generalmente es una composición fluida, por ejemplo, una composición acuosa, compuesto por al menos un componente proteínico y un componente de poliamina, y, en muchas realizaciones, un componente de carbohidrato. El sustrato proteínico puede incluir además uno o más componentes adicionales, incluyendo, pero sin limitación: un agente de pegajosidad; un plastificante; y similares.

- 20 El componente proteínico y el componente de poliamina están presentes en una proporción en peso que proporciona un efecto sinérgico de mejora de la viscosidad sobre el sustrato proteínico. Por "efecto sinérgico de mejora de la viscosidad" se entiende un efecto de mejora de la viscosidad producido por la interacción de dos o más componentes que es mayor que la suma del efecto de viscosidad producido por cada componente en ausencia del otro. Por lo general, los componentes proteínicos y de poliamina están presentes en una proporción en peso de poliamina a material proteínico de aproximadamente 1:4 a 1:400. Ciertas proporciones de poliamina a material proteínico dan como resultado una composición objeto que exhibe efectos sinérgicos de viscosidad de particular interés. Por ejemplo, en una composición de fase invertible que comprende cantidades sinérgicas de material proteínico que aumentan la viscosidad, tal como albúmina y una poliamina altamente catiónica, tal como polietiliminina, la proporción en peso de poliamina y el material proteínico de aproximadamente 1:5 a 1:100, normalmente de aproximadamente 1:8 a 1:80, y, más generalmente de aproximadamente 1:10 a 1:40.

- 30 En muchas realizaciones, cuando se incluye un carbohidrato en el sustrato proteínico, los componentes carbohidrato y proteínico están presentes en una proporción en peso entre el carbohidrato y el material proteínico de aproximadamente 1:8 a 1:800. Ciertas proporciones de carbohidrato a material proteínico dan como resultado una composición de sustrato de interés específico. Por ejemplo, en una composición de fase invertible que comprende cantidades sinérgicas de material proteínico que aumentan la viscosidad, tal como albúmina y una poliamina altamente catiónica, tal como polietiliminina, la proporción en peso del carbohidrato al material proteínico es de aproximadamente 1:130 a 1:400, normalmente de aproximadamente 1:150 a 1:350, y, en ciertas realizaciones, de aproximadamente 1:200 a 1:300.

Componente proteínico

- 40 El componente proteínico del sustrato está formado por una o más proteínas distintas. Las proteínas de este componente pueden ser proteínas sintéticas o naturales, de modo que las proteínas se pueden obtener/preparar usando cualquier protocolo conveniente, por ejemplo, purificación a partir de fuentes naturales, producción recombinante, producción sintética y similares, de modo que, en ciertas realizaciones, las proteínas se obtienen a partir de fuentes naturales, por ejemplo, bovinos o seres humanos. Las proteínas específicas de interés incluyen, pero sin limitación: albúminas, colágenos, elastinas, fibrinas y similares.
- 45 La cantidad de proteína en la composición del sustrato puede variar, de modo que la selección específica de concentración depende de la aplicación deseada y los parámetros del producto deseados, por lo tanto, tal como tenacidad, dureza, elasticidad, características de reabsorción y efectos de agregación plaquetaria. En ciertas realizaciones, la concentración total de proteína total en las composiciones de sustrato varía de aproximadamente 1 a 75 % (p/p), tal como 1-50 % (p/p), incluyendo de 5 a 40 % (p/p).
- 50 En ciertas realizaciones, la proteína principal de la composición del sustrato de esta realización es albúmina, en la que la albúmina puede ser una albúmina de origen natural, por ejemplo, albúmina humana, albúmina bovina, etc., o una variante de la misma. Tal como se conoce en la técnica, la albúmina se puede adquirir en forma de polvo y luego solubilizarse en una suspensión acuosa, o, como alternativa, se puede adquirir en forma acuosa. La albúmina

purificada puede derivar de una cualquiera de varias fuentes diferentes que incluyen, bovino, ovino, equino, humano o aviar de acuerdo con métodos bien conocidos (por ejemplo, Cohn et. al., J. Amer. Chem. Soc. 69:1753) o se puede adquirir en forma purificada de un proveedor, tales como Aldrich Chemical (St. Louis, MO), en forma liofilizada o acuosa. La albúmina puede derivatizarse para actuar como vehículo de medicamentos, tales como sulfato de heparina, factores de crecimiento, antibióticos, o puede modificarse en un esfuerzo por moderar la viscosidad o hidrofilia. La derivatización con agentes acilantes, tales como, pero sin limitación, anhídrido succínico y cloruros de laurilo, es útil para la producción de sitios de unión para la adición de moléculas útiles. En estas realizaciones en las que el componente proteináceo incluye albúmina, la albúmina puede estar presente en concentraciones que varían de aproximadamente 10 a aproximadamente 50 % (p/p), tal como de aproximadamente 30 a aproximadamente 40 % (p/p).

En ciertas realizaciones, el componente proteináceo también incluye un colágeno, por ejemplo, un colágeno de origen 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 derivatizarse para aumentar su utilidad. Se ha descubierto que los agentes de acilación, tales como anhídridos o cloruros ácidos, producen sitios útiles para la unión de moléculas, tales como factores de crecimiento y antibióticos. Cuando están presentes, el colágeno a veces varía de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 % (p/p), incluyendo de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 % (p/p), tal como de aproximadamente 1 a aproximadamente 4 % (p/p), incluyendo de aproximadamente 2 a 4 % (p/p).

El componente proteináceo objeto, como se ha descrito anteriormente, puede o no incluir uno o más agentes activos, por ejemplo, fármacos, presente en él, según se desee. Cuando están presentes, el o los agentes pueden estar unidos a polímeros, según se desee.

Componente de poliamina

El componente de poliamina del sustrato es una amina polimérica catiónica. Las poliaminas pueden ser lineales o ramificadas, sustituidas o no sustituidas, e incluyen homopolímeros, heteropolímeros y copolímeros de polialquilimininas catiónicas, polivinilimininas, poliaminoácidos y similares. El peso molecular de tales polímeros es generalmente mayor que aproximadamente 500 Dalton, teniendo un peso molecular promedio que varía de aproximadamente 500 a 1 millón de Dalton, y generalmente de aproximadamente 500 a aproximadamente 100000 Dalton. Por lo general, el componente de poliamina del sustrato es una amina polimérica altamente catiónica, con una alta densidad de carga que le permite absorber fuertemente en sustancias cargadas negativamente. Los ejemplos de tales poliaminas incluyen, pero no se limitan a, polietilenimininas (PEI), polivinilamininas (PVA), polilisina (PL) y derivados de los mismos, tales como copolímeros de polilisina, copolímeros de polivinilamina, polietilenimina carboxilada, una polietilenimina fosforilada, una polietilenimina sulfonada, una polietilenimina acilada, polietilenimininas solubles en agua hidroxiladas y similares. Las poliaminas están disponibles comercialmente, tal como de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO USA) o BASF (Ludwigshafen, Alemania), e incluyen PEI lineales o ramificadas, sustituidas o no sustituidas, PVA y PL, tal como la serie de productos PEI Lupasol® de BASF.

Las poliaminas pueden incluir opcionalmente enlaces degradables, por ejemplo, la PEI ramificada reticulada con enlaces éster degradables es un ejemplo de un derivado de PEI de este tipo. La poliamina también puede derivatizarse para actuar como vehículo de medicamentos, tales como sulfato de heparina, factores de crecimiento, antibióticos, o puede modificarse en un esfuerzo por moderar la viscosidad o hidrofilia. La derivatización con agentes de acilación, tales como, pero sin limitación, anhídrido succínico, cloruros de acilo y cloruros de laurilo, es útil para la producción de sitios de unión para la adición de moléculas útiles. Las poliaminas de particular interés son ramificadas, tal como poliamina ramificada que tiene al menos un grupo amina primaria, al menos una secundaria y al menos una terciaria, tal como una PEI ramificada.

En ciertas realizaciones, el componente de poliamina del sustrato es una composición de sustrato es PEI, en el que la PEI puede ser lineal, ramificada, sustituida o no sustituida, o mezclas de las mismas. Tal como se conoce en la técnica, la PEI puede sintetizarse de acuerdo con métodos bien conocidos (por ejemplo, "Encyclopedia of polymer science and technology", Jacqueline I. Kroschwitz, H. F. (Herman Francis) Mark, Wiley-Interscience, 2004; Murata et al., J Biochem. (2008) 144(4):447-455; Ito et al., J Control Release (2006) 112(3):382-388; Brus et al., Eur J Pharm Biopharm. (2004) 57(3):427-430; Forrest et al., Bioconjug Chem. (2003) 14(5):934-940; Petersen et al., Bioconjug Chem. (2002) 13(4):812-821; y Sagara et al., J Control Release. (2002) 79(1-3):271-281; y las patentes de Estados Unidos: 4.187.256; 5.990.224; y 6.652,886) o se pueden comprar a un proveedor, tal como Sigma-Aldrich o BASF. De interés específico es PEI ramificada que contiene una mezcla de aminas primarias, aminas secundarias y terciarias, y que tienen un peso molecular de aproximadamente 50.000 a 100.000, tal como PEI (número de catálogo 195444) disponible de MP Biomedical, Inc.

La cantidad de poliamina en la composición de sustrato puede variar, de modo que la selección específica de concentración depende de la aplicación deseada y los parámetros del producto deseados, tal como tenacidad, dureza, elasticidad, características de reabsorción y efectos de agregación plaquetaria. La poliamina a veces varía de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 % (p/p), incluyendo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 4

% (p/p), tal como de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 4 % (p/p), incluyendo de aproximadamente 0,5 % a 3 % (p/p), de aproximadamente 1 a 3 % (p/p) y de aproximadamente 1 a 2 % (p/p).

5 Como se ha mencionado anteriormente, ciertas proporciones entre poliamina y el material proteínico dan como resultado una composición de sustrato que exhibe efectos de viscosidad sinérgicos, y, en muchas realizaciones, también se incluye un componente de carbohidrato. Como tal, se selecciona el porcentaje en peso de poliamina en la composición de sustrato para lograr la relación deseada y el efecto de viscosidad sinérgica, tal como se describe en la sección Experimental.

10 El componente de poliamina objeto, como se ha descrito anteriormente, puede o no incluir uno o más agentes activos, por ejemplo, fármacos, presente en él, según se desee. Cuando están presentes, el o los agentes pueden estar unidos a polímeros, según se desee.

Componentes opcionales

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

Agente adherente

20 También pueden estar presentes uno o más agentes adherentes. Los agentes adherentes mejoran la adhesividad del sellador a la superficie biológica. En muchas realizaciones, los modificadores de adhesión son compuestos poliméricos que tienen funcionalidades cargadas, por ejemplo, aminas, etc. Mientras que se pueden usar numerosos modificadores de adhesión, uno de particular aplicabilidad es PEI, que ayuda a la fijación a las superficies biológicas. Además, la presencia de PEI en el sustrato aumenta significativamente la presencia de terminales de amina adecuados para producir enlaces cruzados con el agente de reticulación. Cuando se incluye PEI como agente adhesivo y componente de poliamina, la proporción entre el material proteínico y la PEI en la composición de sustrato se selecciona para exhibir el efecto de viscosidad sinérgica deseado, tal como se describe en la sección Experimental. Los modificadores de adhesión adicionales de interés incluyen, pero sin limitación: gelatina, carboximetilcelulosa, butilhidroxitolueno, etc.

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

Agentes plastificantes

35 De acuerdo con la invención, un agente plastificante puede estar presente en el sustrato. El agente plastificante proporciona una serie de funciones, incluyendo la humectación de una superficie o, como alternativa, aumentando el módulo elástico del material, o aún más, ayudando en la mezcla y aplicación del material. Existen numerosos agentes plastificantes, incluyendo ácidos grasos, por ejemplo, ácido oleico, ácido palmítico, etc., dioctilftalato, fosfolípidos y ácido fosfatídico. Debido a que los plastificantes son típicamente sustancias orgánicas insolubles en agua y no son fácilmente miscibles con agua, a veces es ventajoso modificar su miscibilidad con agua, premezclando el plastificante apropiado con un alcohol para reducir la tensión superficial asociada con la solución. Con este fin, se puede usar cualquier alcohol. En una realización representativa de la presente invención, el ácido oleico se mezcla con etanol para formar una solución al 50 % (p/p) y esta solución se usa después para plastificar el sustrato proteínico durante el proceso de formulación. Considerando 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 0,01 a 10 % (p/p), incluyendo de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 % (p/p). Otros agentes plastificantes de interés incluyen, pero sin limitación: polietilenglicol, glicerina, butilhidroxitolueno, etc.

Procoagulante de carbohidratos

50 En ciertas realizaciones, los sustratos incluyen un procoagulante de carbohidratos. El quitosano y los derivados del quitosano son potentes coagulantes de la sangre y, por lo tanto, son beneficiosos en la formulación de materiales selladores capaces de sellar lesiones vasculares. Si bien se ha demostrado que prácticamente todos los materiales de quitina tienen alguna actividad procoagulante, de acuerdo con la invención, el uso de quitina acetilada se emplea como aditivo para la formulación de selladores destinados al control de la sangre. La acetilación de la molécula se puede lograr de varias maneras diferentes, pero un método común es el tratamiento de mezclas de quitosano/ácido acético con anhídridos ácidos, tal 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 proteínicos y reticulados

in situ son beneficiosos para la creación de un miembro estructural biocompuesto. Como tal, el procoagulante de carbohidratos puede ser quitosano, quitosano de bajo peso molecular, quitina, oligosacáridos de quitosano y derivados de quitosano de los mismos. De acuerdo con las enseñanzas de la presente invención, el componente de carbohidrato, por ejemplo, quitosano, puede estar presente en concentraciones que varían de aproximadamente 0 a aproximadamente 20 %, tal como de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 % (p/p).

Cargas

Las cargas de interés incluyen cargas de refuerzo y no de refuerzo. Se pueden incluir cargas de refuerzo, tales como seda fibrosa picada, poliéster, PTFE, nylon, fibras de carbono, polipropileno, poliuretano, vidrio, etc. Las fibras pueden ser modificadas, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente para los otros componentes, según se desee, por ejemplo, para aumentar la humectabilidad, la mezclabilidad, etc. Las cargas de refuerzo pueden estar presentes de aproximadamente 0 a 40 %, tal como de aproximadamente 10 % a aproximadamente 30 %. También se pueden incluir cargas no reforzantes, por ejemplo, arcilla, mica, hidroxiapatita, sulfato cálcico, astillas de hueso, etc. En los casos en los que se desee, estas cargas también pueden modificarse, por ejemplo, tal como se ha descrito anteriormente. Las cargas no reforzantes pueden estar presentes de aproximadamente 0 a 40 %, tal como de aproximadamente 10 % a aproximadamente 30 %.

Agentes biológicamente activo

Se pueden incluir agentes biológicamente activos, por ejemplo, factores de crecimiento óseo, activadores tisulares, activadores del crecimiento del cartílago, agentes activos de molécula pequeña, etc. Por lo tanto, los agentes biológicamente activos pueden incluir péptidos, polipéptidos, proteínas, sacáridos, polisacáridos y carbohidratos, ácidos nucleicos y materiales orgánicos e inorgánicos de molécula pequeña. Los agentes biológicamente activos específicos incluyen antibióticos, antivíricos, antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos, antineoplásicos, antiespasmódicos, incluidos los bloqueantes de canales, moduladores de las interacciones entre la célula y la matriz extracelular, incluidos los inhibidores del crecimiento celular y las moléculas antiadherentes, enzimas e inhibidores enzimáticos, anticoagulantes, factores de crecimiento, ADN, inhibidores de la síntesis de ARN y proteínas, agentes migratorios anti-celulares, vasodilatadores y otros medicamentos utilizados para el tratamiento de lesiones en los tejidos. Los ejemplos de estos compuestos incluyen inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, agentes antitrombóticos, prostaciclina, heparina, salicilatos, agentes trombocíticos, agentes antiproliferativos, nitratos, fármacos bloqueantes de los canales de calcio, estreptocinasa, urocinasa, activador de plasminógeno tisular (TPA) y activador de plasminógeno anisolado (PA) y complejo activador de plasminógeno-estreptoquinasa anisolado (APSAC), colchicina y agentes alquilantes, factores moduladores del crecimiento, tales como interleucinas, factor de crecimiento de transformación P y congéneres del factor de crecimiento derivado de plaquetas, anticuerpos monoclonales dirigidos contra factores de crecimiento, componentes modificados de la matriz extracelular o sus receptores, secuestrantes de lípidos y colesterol y otros agentes que pueden modular el tono y la función vascular, arteriosclerosis y la respuesta curativa a la lesión de un vaso u órgano después de una intervención.

Agente espumante

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

Modificadores adicionales

También pueden estar presentes modificadores adicionales. Por ejemplo, también pueden estar presentes mezclas de uno o más polímeros (por ejemplo, mezclas de polímeros), tales como teflón, PET, nylon, hidrogeles, polipropileno, etc. Las mezclas poliméricas pueden modificarse, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente, para proporcionar las propiedades deseadas. Estos modificadores adicionales pueden estar presentes en cantidades que varían de aproximadamente 0 a 50 %, incluyendo de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 %.

Composición reticulante

Como se ha indicado anteriormente, la composición de fase invertible se produce combinando un sustrato proteínico, como se ha descrito anteriormente, con un reticulante, en la que el reticulante estabiliza el sustrato proteínico, por ejemplo, formando enlaces covalentes entre funcionalidades presentes en diferentes cadenas de polipéptidos del sustrato proteínico. La reticulación típicamente 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. Se han identificado numerosos agentes de reticulación. Los ejemplos de agentes de reticulación incluyen, pero sin limitación: moléculas fotooxidativas; carbodiimidas; compuestos que contienen carbonilo, por ejemplo, mono y dicarbonilos, incluidos ácidos carboxílicos, por ejemplo, ácidos dicarboxílicos, tales como ácido adípico, ácido glutárico y similares, y aldehídos, incluidos mono y dialdehídos, por ejemplo, glutaraldehído; etc. El agente de reticulación empleado comprende un agente de reticulación que comprende un producto de reacción de un exceso de un agente de reticulación de dialdehído líquido y un glicosaminoglicano. En ciertas realizaciones, el reticulante aldehído se trata previamente para producir un reticulante de aldehído estabilizado, por ejemplo, un reticulante estabilizado de glutaraldehído, por ejemplo, en el que el reticulante es aldehído termoestabilizado, tal como glutaraldehído estabilizado al calor (como se describe en la Patente de Estados Unidos N.º 7,303,757, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia).

La cantidad de agente de reticulación en la composición puede variar. En ciertas realizaciones, la cantidad de agente de reticulación varía de 0,1 a 20 % (v/v), tal como de 0,5 a 15 % (v/v) e incluyendo de 1 a 10 % (v/v).

En muchas realizaciones, la composición de fase invertible se produce combinando un sustrato proteínico líquido, como se ha descrito anteriormente, con una composición reticulante líquida que incluye un agente de reticulación macromolecular. El agente de reticulación macromolecular se produce combinando un exceso de un agente de reticulación, por ejemplo, un dialdehído tratado térmicamente, con una cantidad de un polímero fisiológicamente aceptable, tal como un glicosaminoglicano. El exceso de agente de reticulación y el polímero fisiológicamente aceptable reaccionan para producir un agente de reticulación macromolecular. Tras la combinación del agente de reticulación macromolecular con el sustrato proteínico, el agente de reticulación macromolecular reacciona con proteínas en el componente del sustrato para producir una composición final caracterizada por la presencia de una red interpenetrante.

Como tal, el agente de reticulación macromolecular del componente reticulante es uno que se produce combinando un exceso de un agente de reticulación con una cantidad de un polímero fisiológicamente aceptable. En esta realización, el agente de reticulación está presente en la composición de reticulación en exceso con respecto a la cantidad de polímero fisiológicamente aceptable. En ciertas realizaciones, la cantidad de agente de reticulación varía de 0,1 a 20 % (v/v), tal como de 0,5 a 15 % (v/v) e incluyendo de 1 a 10 % (v/v). En ciertas realizaciones, la cantidad de polímero fisiológicamente aceptable constituye de 0,01 a 5 % (peso/v), tal como de 0,05 a 3 % (p/v) incluyendo de 0,1 a 1 % (p/v) de la composición de reticulación.

El polímero fisiológicamente aceptable puede ser cualquier polímero que el cuerpo tolere y reaccione con el agente de reticulación para producir un producto de reticulación macromolecular prepolímero. El producto prepolímero es uno que es un producto de reacción entre el agente de reticulación y el polímero, e incluye una cadena principal de polímero con una o más moléculas de reticulación unidas covalentemente a la misma, de modo que la cadena principal de polímero incluye uno o más grupos funcionales de reticulación, donde los grupos funcionales de reticulación incluyen al menos un resto reactivo, por ejemplo, un resto aldehído, que puede unirse covalentemente al componente proteico del sustrato proteínico. Como tal, el producto prepolímero conserva la capacidad de reticularse al entrar en contacto con el sustrato proteínico. El producto prepolímero de ciertas realizaciones es una macromolécula soluble que comprende una molécula de cadena principal polimérica unida a moléculas de agente de reticulación, en el que al menos una porción de las moléculas del agente de reticulación unido retienen un resto de reticulación libre que puede unir proteínas en el sustrato proteínico. Este agente de reticulación "macromolecular" del producto prepolímero puede variar en peso molecular promedio y, en ciertas realizaciones, puede variar en peso de 10.000 a 4 millones de Dalton, tal como de 500.000 a 2 millones de Dalton.

En ciertas realizaciones, el polímero fisiológicamente aceptable es un glicosaminoglicano (es decir, un mucopolisacárido). Los glicosaminoglicanos específicos de interés incluyen, pero sin limitación: sulfato de condroitina; dermatánsulfato; queratánsulfato; heparina; heparánsulfato; e hialuronano (es decir, ácido hialurónico). En ciertas realizaciones, el componente glicosaminoglicano es el hialuronano.

El componente de reticulación, tal como los descritos anteriormente, puede esterilizarse de acuerdo con cualquier protocolo conveniente, en el que los protocolos de esterilización de interés incluyen, pero sin limitación: gamma, haz de electrones y similares. Generalmente, el componente de reticulación líquido es uno que es estable al almacenamiento. Por almacenamiento estable se entiende que el sustrato se puede mantener en condiciones de almacenamiento, tal como la temperatura ambiente durante un período de al menos 3 años o más, tal como 5 años o más, sin sufrir ningún cambio sustancial que afecte negativamente a la función del sustrato de modo que ya no sea adecuado para su uso en la preparación de una composición de fase invertible biocompatible de la invención.

Si bien la viscosidad del componente de reticulación puede variar, en ciertas realizaciones, se aproxima a la viscosidad del componente proteínico, expresada en centistokes (cSt) a aproximadamente 25 °C, variando de aproximadamente 10cSt a 150 cSt, tal como de aproximadamente 30 cSt a 70 cSt. En ciertas realizaciones, la viscosidad de la composición de reticulación se aproxima a la viscosidad de la composición de sustrato proteínico,

expresada en centistokes (cSt) a aproximadamente 25 °C, tal como en un intervalo de aproximadamente 10cSt a 200 cSt, incluyendo de aproximadamente 20 cSt a 150 cSt, y típicamente de aproximadamente 30 cSt a 125 cSt.

En ciertas realizaciones, la composición de reticulación puede incluir además una cantidad de un agente modificador de la viscosidad. Los agentes modificadores de la viscosidad de interés incluyen, pero sin limitación: polímeros de polioxi-etileno o polioxi-propileno o sus copolímeros, tales como polietilenglicol y polipropilenglicol; éteres de celulosa no iónicos, tales como metilcelulosa, etilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa, carboxietilcelulosa e hidroxipropilcelulosa; celulosas adicionales, tales como carboximetilcelulosa sódica, carboximetilcelulosa de calcio, carboximetilalmidón; y similares. En ciertas realizaciones de particular interés, el agente emulsionante es un éter de celulosa, particularmente un éter de celulosa no iónico, tal como carboximetilcelulosa. La carboximetilcelulosa está disponible en diversas fuentes comerciales, incluyendo, pero sin limitaciones, Sigma, Hercules, Fluka y Noviant. En ciertas realizaciones, el peso molecular promedio del éter de celulosa es de al menos aproximadamente 1.000 Dalton, tal como de al menos aproximadamente 5000 Dalton, en el que el peso molecular promedio puede ser tan alto como de 10.000 Dalton o más, por ejemplo, 50.000 Dalton o más, 100.000 Dalton o más, y varía en ciertas realizaciones de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 100.000 Dalton, tal como de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 50.000 Dalton. La proporción del agente modificador de la viscosidad en el sellador en ciertas realizaciones varía de 0,01 a 10 % (v/v), tal como de 0,1 a 4 % (v/v) incluyendo de 0,5 a 2 % (v/v).

Tampón

Tras la mezcla del sustrato proteínico y el reticulante para producir la composición invertible de fase objeto, el tamponamiento de la composición de fase invertible se emplea en ciertas realizaciones por varias razones, por ejemplo, para optimizar la fuerza de unión de la composición a la superficie de unión, para optimizar las condiciones necesarias para que se produzca la reticulación interna, etc. Por ejemplo, la reticulación óptima para proteínas usando 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 la presente invención, siempre que no interfieran con el terminal carbonilo del reticulante ni modifiquen el término amina de los aminoácidos. Por ejemplo, los tampones fosfato tienen un valor de 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 fosfato de hasta 1 M de concentración es adecuado para su uso como tampón en la presente invención, en la que, en ciertas realizaciones, el tampón fosfato tiene una concentración de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,3 M. Aunque el tamponamiento con fosfato de las soluciones es ideal para la estabilidad del sustrato proteico en aplicaciones en las que se requiere una mayor adhesión, también se puede usar un tampón ácido. Se ha descubierto que los tampones citrato 0,1-1 M y que tienen un intervalo de pH de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 6,5 son útiles para la presente invención.

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

35 Combinación de sustrato y reticulante para producir composición de fase invertible

Como se ha resumido anteriormente, las composiciones de fase invertible objeto se preparan combinando un sustrato proteínico líquido y un reticulante líquido en cantidades apropiadas y en condiciones suficientes para que se produzca la composición de fase invertible. En ciertas realizaciones, el sustrato y el reticulante se combinan en una proporción (v/v) que varía de aproximadamente 1/5 a aproximadamente 5/1; de modo que se produce una composición de fase invertible resultante en la que la concentración de proteína total varía de aproximadamente 10 a aproximadamente 60 %, tal como de aproximadamente 20 a aproximadamente 50 %, incluyendo de aproximadamente 30 a aproximadamente 40 % y la composición reticulante total varía de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 %, tal como de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 15 %, incluyendo de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 %.

La combinación del sustrato y el reticulante se produce típicamente en condiciones de mezcla, de modo que los dos componentes líquidos se combinen o mezclen completamente entre sí. La combinación o mezcla se puede llevar a cabo utilizando cualquier protocolo conveniente, por ejemplo, combinando manualmente dos componentes, mediante el empleo de un dispositivo que combina los dos componentes, etc. La combinación o mezcla se lleva a cabo típicamente a una temperatura que varía de aproximadamente 20 a aproximadamente 40 °C, tal como la temperatura ambiente.

La combinación del sustrato proteínico y el reticulante como se ha descrito anteriormente da como resultado la producción de una composición de fase invertible. Por "composición de fase invertible" se entiende una composición que va desde un primer estado líquido a un segundo estado no fluido, por ejemplo, gel o sólido. En el segundo estado no fluido, la composición es sustancialmente, si no completamente, incapaz de flujo de fluido. La composición de fase invertible típicamente permanece en un estado fluido, tras la combinación de los componentes de sustrato y reticulante, durante un período de tiempo que varía 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 varía de aproximadamente 15 °C a aproximadamente 40 °C, tal como de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C.

5 Las formulaciones de fase invertible específicas incluyen como componentes: (i) una primera composición que comprende un sustrato proteináceo, la composición del sustrato que comprende una polietilenimina ramificada, aproximadamente 30 % -50 % de albúmina y aproximadamente 0,1 % -0,3 % de quitosano, en la que la proporción en peso de polietilenimina ramificada a albúmina es de aproximadamente 1:5 a aproximadamente 1:80; y (ii) una segunda composición que comprende una composición de reticulación que tiene aproximadamente 3 % -10 % de glutaraldehído tratado térmicamente y, opcionalmente, uno o más de aproximadamente 0,1 % -1 % de ácido hialurónico, y aproximadamente 0 % -1,5 % de sal sódica de carboximetilcelulosa de alta viscosidad.

15 En una realización particular, se proporciona una formulación de fase invertible que incluye como componentes: (i) una primera composición que comprende una composición de sustrato proteináceo que tiene una polietilenimina ramificada, aproximadamente 40 % de albúmina y aproximadamente 0,16 % de quitosano, en la que la proporción en peso de polietilenimina ramificada a albúmina es de aproximadamente 1:10 a aproximadamente 1:40; y (ii) una segunda composición que comprende una composición de reticulación que tiene aproximadamente 4,4 % -7,5 % de glutaraldehído tratado térmicamente y, opcionalmente, uno o más de aproximadamente 0,2 % de ácido hialurónico, y aproximadamente 0 % -0,75 % de sal sódica de carboximetilcelulosa de alta viscosidad.

20 Como también se ha descrito anteriormente, se pueden incorporar diversos materiales adicionales en las composiciones de fase invertible para servir a cualquiera de varios propósitos, tales como modificar las características físicas de la composición y/o ayudar en la reparación de un tejido o material biológico al que se aplica la composición. Por ejemplo, se pueden incorporar agentes biológicamente activos, tales como péptidos, proteínas, ácidos nucleicos, moléculas de carbohidratos, moléculas pequeñas y similares para atraer y unir tipos de células específicas, tales como glóbulos blancos y plaquetas, o se pueden usar materiales, tales como fibronectina, vimentina y colágeno para mejorar la curación mediante unión no específica. También se pueden incluir materiales traza, tales como sales de bario, yodo o tantalio, para permitir la visualización y/o monitorización de la composición de fase invertible. En ciertas realizaciones, se pueden usar diferentes agentes biológicamente activos en diferentes aplicaciones o capas cuando una o más composiciones de fase invertible se aplican diferencialmente.

30 En ciertas realizaciones, también se pueden incorporar células o aplicar en relación con las composiciones de fase invertible antes, durante y/o después de la aplicación de la composición. Cuando se usan, las células se incluyen generalmente en la composición de sustrato proteináceo o se aplican junto con o por separado de la composición de fase invertible de una manera que permita su adherencia en el sitio de aplicación. Las células pueden ser células artificiales vivas, fantasmas celulares (es decir, fantasmas de glóbulos rojos o plaquetas), o pseudoviriones, dependiendo de un uso final dado. Por ejemplo, las células pueden seleccionarse para producir agentes específicos tales como factores de crecimiento en el sitio de aplicación. También se pueden incluir agentes biológicamente activos que modulan la viabilidad, la diferenciación y/o el crecimiento celular. En algunas realizaciones, las células pueden ser células madre o, en otras realizaciones, células progenitoras correspondientes al tipo de tejido en la ubicación del tratamiento u otras células, proporcionando ventajas terapéuticas. Por ejemplo, las células hepáticas incorporadas en la composición de fase invertible y aplicadas a una herida o superficie del hígado de un paciente pueden ayudar en su regeneración y reparación. Esto puede ser particularmente útil en casos en los que enfermedades como cirrosis, fibrosis, enfermedad quística o malignidad dan como resultado tejido no funcional, formación de cicatrices o reemplazo de tejido con células cancerosas. Se pueden aplicar métodos similares a otros órganos y tejidos también.

45 Los agentes biológicamente activos pueden incorporarse físicamente y/o mediante unión química. La incorporación física se lleva a cabo mezclando el agente biológicamente activo con el material de fase invertible antes y/o durante la aplicación a la superficie objetivo y el curado. El material generalmente se mezcla con la solución de sustrato proteináceo para formar una solución, suspensión o dispersión. En una realización, el agente biológicamente activo puede encapsularse dentro de dispositivos de administración, tales como microesferas, microcápsulas, liposomas, fantasmas celulares o pseudoviriones, que en sí mismos afectan a las tasas de liberación y la absorción por las células. La incorporación química del agente biológicamente activo se lleva a cabo acoplado químicamente el agente a un material polimérico del sustrato proteináceo o de la composición de reticulación, generalmente el sustrato proteináceo, antes o en el momento de la polimerización (por ejemplo, mediante conjugación a través de grupos funcionales reactivos, tales como aminas, hidroxilos, tioles y similares). Para garantizar que se mantengan los tiempos de curado deseados y las propiedades de explosión de la composición de fase invertible, la incorporación física y/o química de un agente biológicamente activo tiene en cuenta las cantidades relativas de sustrato proteináceo y reticulante presentes en la composición final, y puede ajustarse en consecuencia.

Métodos

Las composiciones de fase invertible biocompatibles objeto se emplean en métodos en los que una cantidad de la composición de fase invertible se libera en un sitio o ubicación particular de un sujeto, paciente o huésped que lo

necesite, típicamente un sitio quirúrgico, sitio de lesión, lugar de sutura u otra ubicación con sangrado o sangre expuesta. El sujeto, paciente o huésped es típicamente un "mamífero" o "mamífero" donde estos términos se usan ampliamente para describir organismos que están dentro de la clase mamífero, incluyendo, pero sin limitación, los órdenes carnívoro (por ejemplo, perros y gatos), roedores (por ejemplo, ratones, cobayas y ratas), lagomorfos (por ejemplo, conejos) y primates (por ejemplo, seres humanos, chimpancés y monos). En muchas realizaciones, los animales o huéspedes, es decir, los sujetos (también denominados en el presente documento pacientes) 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 varía de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 ml, tal como de aproximadamente 1 a aproximadamente 25 ml, que incluye 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 objeto, la composición objeto, en muchas realizaciones, se administra localmente a una región particular, sitio o ubicación del huésped, donde el sitio o ubicación puede, por supuesto, variar. Los sitios o lugares representativos incluyen, pero sin limitación: recipientes, órganos y similares. 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 stent, que se describe con mayor detalle en lo sucesivo.

Utilidad

Las composiciones de fase invertible biocompatibles objeto se utilizan en diversas aplicaciones diferentes. Las aplicaciones representativas de las composiciones de fase invertible objeto incluyen las descritas en las patentes de Estados Unidos números 3,438,374; 5.092.841; 5.292.362; 5.385.606; 5.575.815; 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; 6.547.806; y 7.303.757; así como las solicitudes de Estados Unidos n.º 2002/0015724; 2002/0022588; 2002/0133193; 2002/0173770; 2002/0183244; 2002/019490; 2002/0032143; cuyas divulgaciones se han incorporado como referencia en la presente documento.

Sistemas

También se proporcionan sistemas para su uso en la práctica de los métodos objeto. Los sistemas pueden incluir elementos de suministro de fluidos para el suministro del sustrato y la composición de reticulación al sitio de administración, elementos de mezcla, etc. Los ejemplos de tales sistemas incluyen los descritos en la Patente de Estados Unidos n.º 7,303,757; cuya divulgación se incorpora por referencia en el presente documento.

Kits

También se proporcionan kits para su uso en la práctica de los métodos objeto, en la que los kits incluyen típicamente un sustrato líquido distinto y componentes de composición de reticulación líquida de una composición de fluido de fase invertible, tal como se ha descrito anteriormente. El sustrato y las composiciones de reticulación pueden estar presentes en recipientes separados en el kit, por ejemplo, en el que el sustrato está presente en un primer recipiente y el agente de reticulación está presente en un segundo recipiente, donde los recipientes pueden o no estar presentes en una configuración combinada.

Los kits objeto también pueden incluir un dispositivo de mezcla, para mezclar el sustrato y el reticulante juntos para producir la composición de fase invertible. Los kits también pueden incluir un dispositivo de administración (que puede incluir o no un elemento de mezcla), tal como una jeringa de doble émbolo, dispositivos de catéter y similares, tal como se ha descrito anteriormente.

El kit puede incluir además otros componentes, por ejemplo, alambres de guía, alambres sensores, etc., que pueden ser útiles para practicar los métodos objeto.

Además de los componentes mencionados anteriormente, los kits objeto generalmente incluyen además instrucciones para usar los componentes del kit para practicar los métodos objeto. Las instrucciones para practicar los métodos objeto generalmente se graban en un medio de grabación adecuado. Por ejemplo, las instrucciones pueden estar impresas en un sustrato, tal como papel o plástico, etc. Como tal, las instrucciones pueden estar presentes en los kits como un prospecto, en el etiquetado del recipiente del kit o componentes del mismo (es decir, asociado con el embalaje o subenvasado), etc. En otras realizaciones, las instrucciones están presentes como un archivo de datos de almacenamiento electrónico presente en un medio de almacenamiento legible por ordenador adecuado, por ejemplo, CD ROM, disquete, etc. En otras realizaciones más, las instrucciones reales no están presentes en el kit, pero se proporcionan los 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, esto significa que para obtener las instrucciones se registra en un sustrato adecuado.

Los siguientes ejemplos se proporcionan solo como ilustración y no como limitación.

5 Parte experimental

Se prepararon diversas formulaciones de composiciones de fase invertible en las que se incluyó polietilenimina ramificada (PEI) [peso molecular de 50.000 a 100.000] en el componente proteico. Las formulaciones ilustrativas se probaron como se muestra en la Tabla 1 en la que el viscosímetro utilizado fue 405-U190, la temperatura era 23,7 °C (temperatura ambiente), y la constante de viscosidad era 2,528 cSt/s (centistokes por segundo).

10 Tabla 1: Estudio de hidrogel - Medición de la viscosidad

Muestra	Albúmina (%)	Quitosano (%)	PEI (%)	Viaje en el tiempo (s)	Viscosidad cinemática (cSt)
1	40	0,16	0	7	16,853
2	40	0,16	1	28	70,784
3	40	0,16	2	41	102,805
4	40	0,16	4	74	187,072
5	0	0	20	4	10,112

Datos obtenidos del promedio de N = 3
 Viscosidad cinemática = Viaje (s) en el tiempo x Constante de viscosidad (cSt/s) Clave: PEI = polietilenimina; s = segundos; cSt = centistokes

Las formulaciones anteriores se probaron antes de combinarlas con la solución de reticulante.

Los resultados mostrados en la Figura 1 y la Tabla 1 demuestran que cuando se proporciona una poliamina tal como una polietilenimina en el componente de proteína en proporciones en peso particulares, la viscosidad se mejora sinérgicamente, lo que da como resultado una composición selladora global mejorada de dos componentes.

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

REIVINDICACIONES

1. Una composición de fase invertible producida combinando:

un sustrato que comprende una poliamina y un material proteínico en una proporción en peso que tiene un efecto sinérgico de mejora de la viscosidad; y
5 un agente de reticulación que comprende un agente de reticulación que comprende un producto de reacción de un exceso de un agente de reticulación de dialdehído líquido y un glicosaminoglicano.
2. La composición de fase invertible según la reivindicación 1, en la que dicha poliamina es una polialquilenimina, tal como una polietilenimina, a saber, una polietilenimina ramificada.
3. La composición de fase invertible según la reivindicación 2, en la que la poliamina es una polietilenimina ramificada en la que la composición tiene una proporción en peso de polietilenimina ramificada a material proteínico de 1:5 a 80, preferiblemente 1:10 a 40.
10
4. La composición de fase invertible de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicho sustrato tiene una viscosidad cinemática a 25 °C de 70 a 200 centistokes.
5. La composición de fase invertible de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicho sustrato comprende además un carbohidrato, en la que dicho carbohidrato es, preferiblemente, quitosano.
15
6. La composición de fase invertible de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicho aldehído líquido, comprende glutaraldehído, preferiblemente glutaraldehído estabilizado al calor.
7. La composición de fase invertible de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el glicosaminoglicano comprende hialuronano.
8. La composición de fase invertible de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la viscosidad de dicho sustrato se aproxima a la de dicho reticulante.
20
9. La composición de fase invertible según la reivindicación 8, en la que dicho reticulante comprende además un agente modificador de la viscosidad.
10. a composición de fase invertible de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicho material proteínico se selecciona del grupo que consiste en: albúmina, elastina, fibrina y formas solubles e insolubles de colágeno y sus combinaciones.
25
11. La composición de fase invertible de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicho sustrato comprende además un agente seleccionado del grupo que consiste en un agente adherente y un agente plastificante.
- 30 12. La composición de fase invertible de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicho reticulante comprende además un agente seleccionado del grupo que consiste en un agente adherente y un agente plastificante.
13. Un método para producir una composición de fase invertible, comprendiendo dicho método:

combinar:

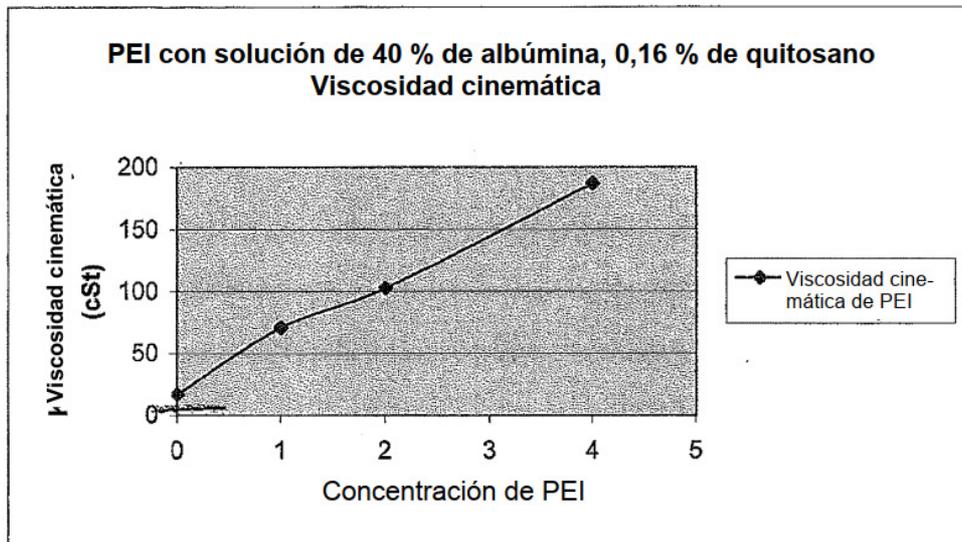
35 (a) un sustrato líquido que comprende una poliamina y un material proteínico en una proporción en peso que tiene un efecto sinérgico de mejora de la viscosidad, siendo la proporción en peso de poliamina a material proteínico de aproximadamente 1:4 a 1:400; y
en el que la composición de reticulación líquida que comprende un producto de reacción de un exceso de un agente de reticulación de dialdehído líquido y un glicosaminoglicano, en el que la combinación de reticulación
40 líquida se ha formado antes de combinar con el sustrato proteínico líquido;

para producir dicha composición de fase invertible.
14. Una composición en fase sólida producida por el método de la reivindicación 13.
15. Un kit para producir una composición de fase invertible, comprendiendo dicho kit:

un sustrato que comprende una poliamina y un material proteínico en una proporción en peso que tiene un efecto sinérgico de mejora de la viscosidad cuando se combinan, estando la proporción en peso de poliamina a material proteínico en el intervalo de 1:5 a 1:100; y

- 5 una composición de reticulación que comprende un agente reticulante que comprende un producto de reacción de un exceso de un agente reticulante dialdehído líquido y un glicosaminoglicano, en la que la combinación de reticulación líquida se ha formado antes de combinar con el sustrato proteínico líquido.

FIG.1



** 20 % de PEI excluido del gráfico