

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **3 027 859**

(51) Int. Cl.:

A61B 17/22 (2006.01)
A61L 24/00 (2006.01)
A61L 24/04 (2006.01)
A61L 24/10 (2006.01)
A61P 13/04 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.06.2021 E 21178420 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.03.2025 EP 4101398**

(54) Título: **Composición de múltiples componentes para eliminar partículas**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.06.2025

(73) Titular/es:

**PURENUM GMBH (100.00%)
Fahrenheitstraße 1
28359 Bremen, DE**

(72) Inventor/es:

**STÖSSLEIN, SEBASTIAN y
GRUNWALD, INGO**

(74) Agente/Representante:

CURELL SUÑOL, S.L.P.

ES 3 027 859 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición de múltiples componentes para eliminar partículas

5 La presente invención se refiere a una composición de múltiples componentes formadora de gel que comprende un componente que contiene por lo menos un polímero reticulable y un componente que contiene por lo menos un agente de reticulación, conteniendo los dos componentes por lo menos un colorante, y a un gel reticulado, así como a una composición de este tipo o un gel de este tipo para la aplicación en un procedimiento para eliminar partículas no deseadas de un paciente.

10 Otros aspectos de la presente invención o en su contexto, así como formas de realización preferidas se describen a continuación, así como en las reivindicaciones adjuntas.

15 La acumulación de productos de precipitación o depósitos de diversos tipos es un problema que aparece habitualmente en el cuerpo humano. Formas conocidas de esto son, entre otras, cálculos biliares o cálculos renales. Los cálculos biliares aparecen en aproximadamente del 10 al 15 % de la población adulta, siendo los países industrializados occidentales los más afectados. Aproximadamente la mitad de la población alemana mayor de 60 años presenta cálculos biliares. Si bien los cálculos biliares a menudo permanecen asintomáticos, sin embargo, en algunos casos provocan cólicos con dolor intenso, valores hepáticos elevados y síntomas generales de enfermedad, incluyendo coloración amarillenta (ictericia).

20 Desde el punto de vista epidemiológico, la afección de cálculos renales es una de las enfermedades más comunes en la humanidad, con una incidencia del 1,45 % en Alemania en el año 2000, lo que corresponde a aproximadamente 1.200.000 casos nuevos al año. Sólo en Alemania puede partirse de un total de aproximadamente 750.000 casos de tratamiento al año. Se estima que en Alemania se realizan unos 400.000 tratamientos para eliminar cálculos al año, de los que aproximadamente la mitad son para el tratamiento de cálculos recurrentes. Las cifras mencionadas pueden extrapolarse a los millones de tratamientos de este tipo que se realizan en todo el mundo. Con un coste total de más de 1.500 millones de euros, la nefrolitiasis representa un factor de coste significativo en el sistema sanitario alemán. Los cálculos renales también pueden provocar dolor intenso, desencadenar nefritis, dañar los riñones o incluso conducir a insuficiencia renal aguda (por regla general, unilateral).

25 Los cálculos salivales pueden formarse en todas las glándulas de la boca. A menudo, estos se eliminan por sí solos de los conductos glandulares excretores. Sin embargo, estos cálculos también pueden quedar atrapados en los conductos glandulares excretores y conducir, por ejemplo, a una inflamación aguda y dolorosa de las glándulas salivales.

30 Las causas de ambos problemas son diversas y van desde una dieta poco saludable y rica en grasas o la falta de líquidos o la falta de ejercicio hasta enfermedades como la diabetes mellitus o la gota e incluso la predisposición genética.

35 Los cálculos salivares, biliares, pancreáticos o renales a menudo sólo se detectan en un estadio ya avanzado, por regla general, cuando aparecen los primeros síntomas (más graves). Los cálculos pueden localizarse en los propios órganos o en los conductos eferentes. En la mayoría de los casos, los cálculos formados ya son demasiado grandes para poder eliminarse del cuerpo en una sola pieza mediante procedimientos mínimamente invasivos. En este caso, los cálculos formados se trituran y se eliminan los fragmentos individuales de los mismos, por ejemplo, con ayuda de un endoscopio. En algunos casos se forman varios cálculos, que igualmente deben eliminarse por completo.

40 Un método para tratar los cálculos renales mediante la disolución específica de los depósitos utilizando sales de amonio cuaternario se describe, por ejemplo, en el documento US 5.244.913.

45 No sólo en el caso de cálculos salivares, biliares o renales deben eliminarse varias partículas no deseadas de un paciente. En otros casos, por ejemplo, en el caso de fracturas comminutas, en este caso esquirlas (del inglés, "splitter") del hueso propio del cuerpo, o abrasiones, en este caso, por ejemplo, cuerpos extraños tales como piedras, esquirlas de metal, plástico o madera o fragmentos de los mismos, deben eliminarse del paciente lo más completamente posible un gran número de partículas.

50 Todos estos casos tienen en común que debe eliminarse un gran número de partículas del paciente de la forma más sencilla posible, pero al mismo tiempo de la forma más completa posible.

55 Por ejemplo, si los cálculos salivares, biliares, pancreáticos o renales no se eliminan del cuerpo de forma natural, o si existen indicaciones médicas para un tratamiento inmediato, la endoscopia (técnicas de endoscopia mínimamente invasivas), junto con el tratamiento con ondas de choque extracorpóreas (LEOC), representa el tratamiento terapéutico de referencia. Ante la creciente evidencia de peores resultados con la LEOC, se utilizan preferentemente los procedimientos endoscópicos. Puede suponerse que actualmente entre el 60 y el 70 % de

- 5 todos los pacientes con cálculos se tratan mediante endoscopia. Esta tendencia está aumentando. Con la ayuda de técnicas endoscópicas se Trituran los cálculos renales y se eliminan en el lugar. Un problema que aún no se ha resuelto es el de los pequeños fragmentos residuales (<2 mm) que no pueden eliminarse eficazmente durante el tratamiento. Los fragmentos restantes de cálculos renales actúan como "núcleos de cristalización" a partir de los cuales se desarrollan el 70 % de los cálculos nuevos. Esto conduce a su vez a más problemas médicos y a la necesidad de tratamiento. Los fragmentos de este tipo se denominaban anteriormente fragmentos residuales clínicamente irrelevantes (CIRF), pero en los últimos años ha quedado claro que, en efecto, son clínicamente muy relevantes.
- 10 En la litotricia, los cálculos renales se rompen mediante ondas de choque extracorpóreas o sondas de aire comprimido o láser insertadas por endoscopia. De esta manera se obtienen trozos de distintos tamaños que pueden retirarse con instrumentos de agarre o enjuagarse. Un problema que aparece en la litotricia es que los fragmentos pueden dispersarse durante la fragmentación o llegar a regiones difíciles de alcanzar.
- 15 El documento WO 2005/037062 se refiere a un método mediante el cual los cálculos renales se confinan (no se circundan) en una región específica con ayuda de un tapón de polímero, lo que puede impedir en gran medida el daño tisular de los fragmentos formados durante la fragmentación. Según el documento WO 2005/037062 se inyecta un líquido formador de gel en la luz de por lo menos un lado de un cálculo renal, por ejemplo, un polímero termosensible que forma un tapón de gel a la temperatura corporal. El polímero, por regla general, no entra en contacto con el cálculo renal, pero sirve para aumentar la eficacia de la litotricia impidiendo que el cálculo renal se desplace y protegiendo el tejido circundante del daño provocado por la fragmentación. La utilización de este sistema está recomendado o permitido explícitamente sólo fuera del riñón.
- 20 25 Un planteamiento para eliminar objetos, como coágulos sanguíneos, del cuerpo utilizando un adhesivo se indica en el documento US 2008/0065012. El adhesivo se extiende sobre una superficie y se introduce en el cuerpo con ayuda de un catéter. Una vez que el objeto se ha adherido a la superficie, se retira el catéter llevándose consigo el objeto.
- 30 Los adhesivos basados en macromoléculas biológicas y, en particular, en sistemas de polímeros formadores de gel se utilizan cada vez más en la tecnología médica. A este respecto, su alta biocompatibilidad es uno de los criterios de selección más importantes.
- 35 En el documento US 6.663.594 B2 se describe un método para inmovilizar un objeto, por ejemplo, un cálculo renal, en el cuerpo, en el que se inyecta un fluido formador de gel en el cuerpo. En contacto con el objeto, se forma un gel que captura e inmoviliza por lo menos parcialmente el objeto. La inmovilización sirve para permitir que el objeto se fragmente posteriormente sin riesgo de que los trozos se distribuyan o de eliminar el objeto o los trozos del cuerpo mediante una herramienta endoscópica. A este respecto, el gel evita que el objeto o un trozo se resbale y no pueda ser agarrado por la herramienta. Después de eliminar el objeto o los trozos, el gel se disuelve o se extrae por medio de una herramienta endoscópica. La desventaja de este método es que, al triturar los cálculos renales, el gel ya endurecido puede destruirse y con ello liberarse nuevamente fragmentos o bien fragmentos individuales pueden salir fuera del polímero. No es posible agarrar los fragmentos del gel con herramientas de agarre convencionales. Además, el procedimiento descrito es muy complejo, ya que los cálculos o fragmentos de cálculos se agarran y se eliminan individualmente. Como resultado, es relativamente probable que queden fragmentos de cálculos individuales.
- 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95
- 45 Un problema de la litotricia es, en particular, la aparición de fragmentos de cálculos de tamaño pequeño a medio (especialmente < 2 mm), también conocidos como "arenilla", ya que estos trozos no pueden agarrarse ni enjuagarse de manera eficaz. Los fragmentos residuales de este tamaño se deslizan a través de las mallas de los instrumentos de agarre (pinzas o cestas de sujeción) y hacen que la extracción de arenilla sea muy laboriosa y prácticamente imposible para masas de cálculos grandes. Sin embargo, la retención de fragmentos de cálculos renales de este tipo conduce en un porcentaje muy elevado de casos a la formación de nuevos cálculos renales, ya que los trozos o fragmentos actúan como "núcleos de cristalización".
- 55 El documento WO 2014/173467 describe un sistema formador de gel que comprende un componente que contiene uno o más polímeros reticulables, un componente que contiene uno o más agentes de reticulación y dado el caso un componente que contiene partículas magnetizables. El sistema formador de gel puede utilizarse para eliminar cálculos urinarios. De esta manera el/los cálculo(s) urinario(s) se tritura(n). Luego, el componente que contiene uno o más agentes de reticulación y el componente que contiene partículas magnetizables se mezclan y se inyectan a través de un catéter utilizando un aparato de endoscopia en la región de las vías urinarias que contiene los fragmentos del/de los cálculo(s) urinario(s) triturado(s). Luego se añade el componente que contiene uno o más polímeros reticulables, mediante lo cual se forma un gel. El gel solidificado circunda parcial o completamente los cálculos urinarios o los fragmentos de los mismos y pueden eliminarse junto con los cálculos urinarios o fragmentos de los mismos mediante un instrumento de agarre a través del endoscopio quirúrgico.
- 60 65 70 75 80 85 90 95
- 65 Sin embargo, se ha demostrado durante la realización que un gel incoloro provoca algunas dificultades para eliminar los cálculos renales o sus fragmentos. No puede controlarse con precisión la cantidad exacta y la ubicación

exacta del/de los componente(s) injectado(s). Tampoco es posible determinar si ya se ha completado la formación del gel y el gel incoloro formado es difícil de encontrar por endoscopia. Además, no puede determinarse si los componentes respectivos se arremolinan por la utilización de una disolución de enjuague o por una dosificación excesiva, mediante lo cual pueden diluirse los componentes hasta tal punto que no puede garantizarse un funcionamiento correcto.

Para abordar estos problemas, Cloutier J, Cordeiro ER, Kamphuis GM, Villa L, Letendre J, de la Rosette JJ, Traxer O (2014) "The glueclot technique: a new technique description for small calyceal stone fragments removal" Urolithiasis 42 (5):441-444, utiliza sangre autóloga. Sin embargo, primero debe extraerse la sangre, lo que requiere una etapa adicional en la aplicación. Además, la formación de un coágulo de sangre a partir de sangre coagulada tarda significativamente más tiempo que la formación de un gel solidificado a partir de los componentes del documento WO 2014/173467. El bajo contraste de color entre la sangre y el tejido del paciente también dificulta la aplicación. Además, el médico responsable desea ver los fragmentos de cálculos incrustados como comprobación del éxito del procedimiento. Sin embargo, esto no es posible en el caso de un coágulo de sangre debido al fuerte color de la sangre. Sin embargo, diluir la sangre impediría la formación de un coágulo de sangre sólido o reduciría en gran medida su resistencia. Además, la sangre autóloga no puede aplicarse específicamente en la región de los fragmentos de cálculos, por ejemplo, en la parte distal del cáliz renal, utilizando un catéter fino (la sangre presenta una viscosidad demasiado alta para esto).

El sistema formador de gel del documento WO 2014/173467 puede contener adicionalmente uno o más colorantes que facilitan la visualización endoscópica del gel solidificado o de uno, ambos, varios o todos los componentes utilizados (antes del endurecimiento).

Asimismo, el documento WO 2014/173468 describe un kit para producir un gel reticulado que puede contener partículas de óxido de hierro.

Sin embargo, se ha descubierto que la utilización de muchos colorantes de este tipo también presenta desventajas significativas, por ejemplo, cuando el gel se vuelve comparable a un coágulo de sangre, tal como se describe en Cloutier J, Cordeiro ER, Kamphuis GM, Villa L, Letendre J, de la Rosette JJ, Traxer O (2014) "The glueclot technique: a new technique description for small calyceal stone fragments removal" Urolithiasis 42 (5):441-444), ya no es transparente. Un gel incoloro o transparente ofrece la posibilidad de controlar la encapsulación de los cálculos renales o fragmentos de los mismos durante la formación del gel. Si los cálculos renales o sus fragmentos no están circundados o lo están apenas, la eliminación del gel no provocará la eliminación (completa) de los cálculos renales o sus fragmentos. Por consiguiente, durante el procedimiento no puede realizarse ningún control de éxito con un gel con color, lo que puede requerir, en determinadas circunstancias, la reinyección de los componentes y la formación de gel y prolongar significativamente el procedimiento.

La utilización de colorantes también ha demostrado ser especialmente problemático porque los colorantes utilizados no sólo tiñen el gel sino también el tejido circundante. Aunque el gel puede visualizarse por endoscopia mediante un colorante, la eliminación completa del gel sin dañar el tejido circundante se complica drásticamente.

También se descubrió que la consistencia del gel que va a formarse se ve influenciada negativamente por muchos colorantes. Esto genera el riesgo de que el gel generado no sea lo suficientemente firme durante la eliminación y sólo pueda eliminarse mediante endoscopia con gran esfuerzo, junto con los cálculos renales o sus fragmentos. Por el contrario, determinadas sustancias cromóforas pueden provocar que el gel se vuelva demasiado sólido o presente una consistencia gomosa. Esto provoca que el gel formado no se disuelva o sólo se disuelva mal o ya no pueda descomponerse en trozos más pequeños con ayuda de las pinzas.

La utilización de colorantes conlleva ciertamente ventajas, pero éstas sólo pueden conseguirse aceptando las desventajas descritas.

Los problemas correspondientes, así como las ventajas y desventajas de la utilización de colorante(s), también aparecen en la eliminación de cálculos salivales, pancreáticos o biliares, así como otros cálculos corporales tal como se describe en la presente memoria, y pueden transferirse fácilmente a otros casos en los que deben eliminarse partículas de un paciente, por ejemplo, a los otros casos descritos anteriormente.

Por tanto, el objetivo principal de la presente invención fue proporcionar una posibilidad mediante la cual pueden eliminarse partículas de un paciente y mediante la cual pueden lograrse las ventajas mencionadas anteriormente, o tantas de estas ventajas como sea posible, sin las desventajas enumeradas, o con la menor cantidad posible de desventajas.

En particular, un objetivo de la presente invención fue proporcionar un medio mejorado que sea adecuado para extraer de manera fiable partículas del cuerpo.

El objetivo principal de la presente invención se alcanza mediante una composición de múltiples componentes formadora de gel, preferentemente una composición de dos componentes, para formar un gel,

estando compuesta la composición por o comprendiendo

5 un componente (A), que contiene uno o varios polímeros reticulables, preferentemente reticulables de manera catiónica, y

10 un componente (B), que contiene uno o varios agentes de reticulación para reticular el o los polímero(s) reticulable(s)

15 comprendiendo el componente (A) y el componente (B) por lo menos un colorante, siendo el/los colorante(s) en el componente (A) distinto(s) del/de los colorante(s) en el componente (B),

llevando a cabo el por lo menos un colorante una coloración transparente del gel y opcionalmente del 15 componente (A) y/o del componente (B),

15 no perjudicando el por lo menos un colorante la reticulación del o de los polímero(s) reticulable(s) en el caso de poner en contacto los componentes (A) y (B),

20 no saliendo el por lo menos un colorante del gel formado,

25 incluyendo o estando compuesto el por lo menos un colorante por una molécula con color seleccionada del grupo que consiste en dextranos, polietilenglicol, almidón, gomas gellan, polielectrolitos tales como poli-l-lisina y otros poliaminoácidos, como por ejemplo poli(ornitina), poli(arginina), poli(histidina); polipéptidos y proteínas tales como, por ejemplo, gelatina, así como polisacáridos tales como quitosano, alginatos tales como alginato de sodio, poli(ácido glicólico) (PGA), poli(ácido láctico) (PLA), poli-2-hidroxi-butirato (PHB), policaprolactona (PCL), poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), sulfato de protamina, espermidina, albúmina, carragenano, furcelarano, pectina, goma xantana, ácido hialurónico, carboximetilcelulosa sódica, heparina, sulfato de heparano, derivados de celulosa o carboximetilcelulosa sódica, sulfato de condroitina, sulfato de dermatano y sulfato de dextrano,

30 para la aplicación en un procedimiento para eliminar partículas no deseadas de un paciente.

35 El término "composición formadora de gel" tal como se utiliza en la presente memoria debe entenderse preferentemente en el sentido de que la composición no sólo es capaz de formar un gel, sino que la mezcla de los componentes de la composición también genera realmente un gel.

El gel generado mediante la mezcla de los componentes de la composición es preferentemente un hidrogel.

40 Además, se prefiere que el o por lo menos uno del por lo menos un colorante tenga un alto contraste con el tejido del paciente en el que se utiliza la composición de múltiples componentes. Por tanto, se prefiere que el o por lo menos uno de los por lo menos un colorante no proporcione una coloración roja o amarilla anaranjada.

45 Además, se prefiere especialmente que el colorante sea fisiológicamente inocuo y, por tanto, pueda utilizarse sin problemas en la aplicación sobre/en un paciente.

50 Sorprendentemente, se ha descubierto que algunos colorantes permiten una coloración transparente sin presentar las características negativas mencionadas anteriormente. A este respecto, por un lado, el gel solidificado puede colorearse con el colorante, pero por otro lado, también puede colorearse la mezcla aún no solidificada de los componentes (A) y (B) y, dado el caso, otros componentes.

55 Preferentemente el colorante colorea el gel solidificado y/o la mezcla de los componentes (A) y (B) así como dado el caso otros componentes y/o el/los componente(s) (A) y/o (B) y/o dado el caso otros componentes presentes con una coloración transparente. Preferentemente el gel solidificado incluye el/los colorante(s). Preferentemente tres o todos los componentes incluyen por lo menos un colorante. Preferentemente, el o los colorante(s) del componente respectivo (tal como se describió anteriormente) también pueden añadirse poco antes de su utilización.

60 El término "transparente" tal como se utiliza en la presente memoria describe la propiedad de un objeto o material (en este caso un gel solidificado y, dado el caso, el/los componente(s) (A), (B) y/o, dado el caso, otros componentes) de ser transparente. El término, tal como se utiliza en este caso, comprende no sólo la transmisión de luz completa sino también la propiedad de ser sólo parcialmente transparente (translúcido). El contrapunto de "transparente" es "opaco", es decir, estanco a la luz. Preferentemente, el término "transparente" describe todos los materiales que no son "opacos". El cálculo de la transmisión (transmitancia de la luz) y su inversa, la opacidad O, así como los métodos utilizados para medir el flujo luminoso son conocidos por el experto en la materia. Preferentemente, la transmisión o el flujo luminoso se mide mediante espectroscopía UV-Vis. La transmisión T se calcula generalmente como la razón entre el flujo luminoso incidente sobre un material (I_0) con respecto al flujo luminoso transmitido por este material I :

$$T = I / I_0$$

$$O = I_0 / I$$

- 5 Un valor de $T = 100\%$ u $O = 1$ significa transparencia completa, mientras que un valor de $T = 0\%$ u $O = \infty$ describe opacidad completa. Preferentemente, el término "transparente" describe una transmisión T de más del 15 %, preferentemente de por lo menos el 16 %, de manera especialmente preferible de por lo menos el 17 %, de manera más especialmente preferible de por lo menos el 18 %.
- 10 De manera especialmente preferible, la transmisión T se mide con un espectrómetro UV-Vis, preferentemente mediante medición en el espectro visible, de manera especialmente preferible en un intervalo de desde 400 hasta 800 nm.
- 15 Preferentemente, la transmisión T se mide con un procedimiento que comprende las siguientes etapas:
- (i) proporcionar un gel según la invención,
 - (ii) proporcionar una referencia, preferentemente agua,
- 20 (iii) medir la transmisión T con un espectrómetro, preferentemente con un espectrómetro UV-Vis, preferentemente mediante la medición en el espectro visible, de manera especialmente preferible en un intervalo de desde 400 hasta 800 nm.
- 25 Preferentemente en el procedimiento el gel de la etapa (i) y la referencia de la etapa (ii) se introducen en recipientes adecuados para la medición, preferentemente cubetas.
- 30 Se describen características preferidas adicionales en el ejemplo 5, en donde un procedimiento para medir la transmisión T puede incluir o estar compuesto por una, varias o todas las características del ejemplo 5.
- 35 Mediante una coloración transparente, tal como se define en la presente memoria, se permite al usuario utilizar las ventajas de un colorante. Así, la coloración transparente es útil en el llenado del aparato o adyuvante de aplicación (por ejemplo, un catéter). Igualmente, la coloración transparente también ayuda a la dosificación en la zona de aplicación en el cuerpo del paciente: la coloración transparente muestra dónde está aplicándose actualmente el componente con color, cuánto está aplicándose y dónde ya se ha aplicado el componente con color. La coloración transparente también es útil durante la formación del gel, ya que permite ver si se producen turbulencias durante la aplicación. Después de eliminar el gel solidificado junto con las partículas circundadas por el mismo de la región del cuerpo del paciente también puede detectarse mediante la coloración transparente para determinar si todavía hay constituyentes del gel en el cuerpo del paciente. Al mismo tiempo, también puede realizarse mediante una coloración transparente el control de éxito: mediante la coloración transparente resulta evidente si las partículas que deben eliminarse ya están circundadas por el gel o cuáles de las partículas ya están circundadas y dónde todavía se necesita un gel de este tipo para eliminar las partículas.
- 40 Se ha demostrado que los colorantes que permiten una coloración blanca o negra a menudo no permiten la transparencia (véase la figura 1). Por tanto, se prefiere que el o por lo menos uno del por lo menos un colorante no proporcione una coloración negra o blanca.
- 45 Además de la concentración del colorante utilizado, el tipo de colorante presenta una gran influencia en la generación de una coloración transparente. La estructura química, como la distribución de electrones, las cargas o su masa o composición molecular, determina principalmente la idoneidad de un colorante para producir una coloración transparente.
- 50 Por el término "el por lo menos un colorante no perjudica la reticulación del o de los polímero(s) reticulable(s) en el caso de poner en contacto los componentes" tal como se utiliza en la presente memoria se entiende que una reticulación del o de los polímero(s) reticulable(s) todavía es posible al poner en contacto los componentes y puede generarse un gel solidificado. Mediante la adición de sustancias tales como, por ejemplo, colorantes puede ralentizarse la reticulación, pero en este caso no se considera que esté perjudicada, ya que la reticulación sigue teniendo lugar. Preferentemente, el o los colorante(s) utilizado(s) no modifica(n) o no modifica(n) sustancialmente el tiempo requerido para la reticulación. Lo mismo se aplica a la posibilidad de disolver nuevamente el gel.
- 55 También es especialmente ventajoso que el colorante no salga del gel solidificado y/o del componente o uno de los componentes que contienen el colorante. En este caso no se colorea ningún tejido circundante del paciente y el colorante puede servir como indicador para el gel o el componente que contiene el colorante. Por tanto, es posible un control de éxito de si el gel solidificado se ha eliminado de nuevo completamente del paciente. También se minimiza la confusión entre el gel y el tejido del paciente y cuando posteriormente se elimina el gel, sólo se elimina el propio gel y las partículas circundadas por el mismo y no el tejido (propio del cuerpo) del paciente, que

no debe eliminarse. Así se minimizan las lesiones accidentales en el tejido circundante del paciente.

Preferentemente, un colorante a los efectos de la presente invención es una estructura química que absorbe y refleja parcialmente la luz en el espectro de la luz visible y, a su vez, vuelve a emitir luz de una longitud de onda específica o un patrón de longitud de onda específico en el rango de la longitud de onda visible. A este respecto, un colorante contiene un cromóforo.

Los colorantes que incluyen o están compuestos por las propias moléculas grandes con color han demostrado ser especialmente ventajosos. Las moléculas de este tipo pueden seleccionarse del grupo que consiste en dextranos, preferentemente con una masa molecular de por lo menos 10 kDa, de manera especialmente preferible por lo menos 20 kDa; polietilenglicol, almidón, gomas gellan, polielectrolitos tales como poli-L-lisina y otros poliaminoácidos, tales como por ejemplo poli(ornitina), poli(arginina), poli(histidina); polipéptidos y proteínas tales como, por ejemplo, gelatina, así como polisacáridos tales como quitosano, alginatos tales como alginato de sodio, poli(ácido glicólico) (PGA), poli(ácido láctico) (PLA), poli-2-hidroxi-butirato (PHB), policaprolactona (PCL), poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), sulfato de protamina, espermidina, albúmina, carragenano, furcelarano, pectina, goma xantana, ácido hialurónico, carboximetilcelulosa sódica, heparina, sulfato de heparano, diversos derivados de celulosa o carboximetilcelulosa sódica, sulfato de condroitina, sulfato de dermatano y sulfato de dextrano.

Posteriormente, tales moléculas se marcan preferentemente con color de modo que puedan servir como colorantes según la invención. Un marcado de este tipo puede realizarse en particular mediante la aplicación de colorantes reactivos.

Por colorantes reactivos se entienden preferentemente compuestos químicos con un cromóforo que presentan una o más funciones que permiten la formación de un enlace covalente. La unión se realiza a través de un "anclaje reactivo" que comprende o consiste en, por ejemplo, heterociclos aromáticos sustituidos con halógeno, tales como "monoclorotriazinas", "monofluorotriazinas", "difluoropirimidinas", "difluorocloropirimidinas" y "dicloroquinoxalincarboxamidas".

Preferentemente, los colorantes de vinilsulfona que forman un enlace covalente a través de un grupo vinilsulfona, como C.I. Reactive Black 5, C.I. Reactive Blue 19, C.I. Reactive Orange 107 y C.I. Reactive Red 239, también se consideran colorantes reactivos.

Para el marcado de color de las moléculas, tal como se describió anteriormente, son en particular adecuados los comercializados bajo las marcas Cibacron (Ciba Ltd.) y Procion (ICI), por ejemplo Cibacron blue (F3G-A), C.I. Reactive Blue 235, C.I. Reactive Blue 204, C.I. Reactive Blue 7, C.I. Reactive Red 1, Cibacron Orange G-E, Cibacron Brilliant Blue FBR-P, Cibacron Blue F3G-A, Cibacron Brilliant Red 3B-A, Cibacron Brown 3GR-A, Cibacron Scarlet Red 2G, Cibacron Scarlet Red 4G-P, Cibacron Brilliant red B-A, Procion Brilliant Orange HGRS, Procion-Blue HBS, Procion-Brilliant red H7BS, Procion-Orange-Brown HGS, Procion-Scarlet Red H3GS, Procion-Red H3B, Procion-Red HE2B, Procion-Red P3BN, Procion-Red MX2B, Procion-Blue MX3G, Procion-Yellow MXR, Procion-Yellow H5G, Procion-Red H8BN, Procion-Green H-4G, Procion-Brown H-GR, Procion-Blue MX-G, Procion-Blue HE-RD, Procion-Blue H-B, Procion-Blue MXR, Procion-Yellow HA, Procion-Green HE-4BD, Procion-Red HE7B, Procion-Red MX5B, Procion-Red MY. 8B, Procion Ruby MXB, Procion Scarlet Red MXG, Procion Orange MXG, Procion Yellow MX6G, Procion Brown H2G, Procion Yellow MX8G, Procion Turquoise HA, Procion Turquoise H7G, Procion Brown MX5BR, Procion Blue MX7RX, Procion Blue MX4G.

Preferentemente, tal marcado de color tiene lugar uniendo de manera covalente dicha sustancia a las moléculas grandes tal como se describió anteriormente. El azul de dextrano ha demostrado ser un colorante especialmente preferido según la invención. Preferentemente, los colorantes se forman a partir de una combinación de una molécula grande tal como se describe en la presente memoria y por lo menos un marcador tal como se describe en la presente memoria.

Las moléculas grandes son, en particular, ventajosas ya que debido a su tamaño no pueden liberarse del gel solidificado. Preferentemente, el colorante es lo suficientemente grande como para que el movimiento del colorante a través del gel solidificado se evite sustancialmente debido al tamaño del colorante. Preferentemente, es posible el movimiento del colorante a través del gel no solidificado.

Preferentemente, un colorante, tal como se describe en la presente memoria, según la presente invención puede unirse a o interactuar con uno o más polímero(s) del componente (A) y/o el componente (B) de manera covalente, iónica, a través de interacciones hidrófobas, a través de puentes de hidrógeno y/o a través de interacciones de van der Waals.

Preferentemente un colorante, tal como se describe en la presente memoria, según la presente invención puede unirse de manera covalente o iónica a uno o más constituyente(s) adicional(es) del componente (A) y/o del componente (B).

Especialmente (pero no sólo) para la tinción del componente (B) sirven no sólo los colorantes basados en moléculas grandes, tal como se describe en la presente memoria, sino también colorantes más pequeños, siempre que se adhieran al gel solidificado a través de interacciones físicas tales como carga, mediante lo cual preferentemente se evita igualmente el movimiento del colorante a través del gel solidificado sustancialmente.

5 Ventajosamente, los colorantes utilizados según la invención pueden teñir el/los componente(s) (A) y (B) para facilitar o controlar su localización y dosificación. Además, se evita ventajosamente la confusión entre la composición (A) y/o (B) y/o el gel preparado y el tejido del paciente.

10 El componente (A) y el componente (B) comprenden por lo menos un colorante y el/los colorante(s) en el componente (A) es/son distinto(s) del/de los colorante(s) en el componente (B). Esto ha resultado, en particular, ventajoso ya que puede distinguirse entre los componentes (A) y (B) mediante el color. También es preferible y ventajosamente posible determinar si los componentes (A) y (B) ya se han mezclado o se mezclaron, ya que al mezclar los dos componentes preferentemente se genera un color que se distingue del color de los componentes con color (A) y/o (B).

15 Preferentemente, el componente (A) y el componente (B) comprenden cada uno por lo menos un colorante que comprende una molécula grande tal como se describe en la presente memoria. Preferentemente, sólo el componente (A) o sólo el componente (B) comprende por lo menos un colorante que comprende una molécula grande tal como se describe en la presente memoria. Preferentemente, sólo el componente (A) o sólo el componente (B) comprende por lo menos un colorante que comprende una molécula grande tal como se describe en la presente memoria y en cada caso el otro componente, el componente (B) o el componente (A), comprende un colorante más pequeño tal como se describe en la presente memoria.

20 25 30 Los polímeros o unidades poliméricas del componente (A) se reticulan preferentemente a través de interacciones iónicas (véase el componente (B)). Por tanto, un gran número de macromoléculas que actúan como ligandos de cationes mono o polivalentes y pueden formar complejos quelados son adecuadas para la aplicación según la invención. Entre ellos se incluyen en particular hidrogeles, adhesivos biocompatibles a base de azúcar (por ejemplo, celulosas modificadas) o proteinógenos, o sistemas a base de fibrina o colágeno (los polímeros especialmente preferidos se describen a continuación).

35 Preferentemente es o son el o uno, varios o todos los polímeros reticulables del componente (A) seleccionados del grupo que consiste en polisacáridos, en particular polisacáridos con grupos funcionales desprotonados o desprotonables, preferentemente grupos carboxilo, preferentemente polisacáridos del grupo de los poliurónidos, de manera especialmente preferible polisacáridos del grupo de los alginatos y pectinas, y en cada caso sus derivados químicos.

40 45 Los polisacáridos tales como dextrans, carragenanos, alginatos, gomas gellan y pectinas son especialmente adecuados para su utilización en el organismo porque no provocan reacciones inflamatorias o rechazos inmunológicos y llevan un bajo riesgo de traumatismo tisular. Además, son biodegradables y disponen de numerosos grupos ácido carboxílico que pueden formar complejos quelados con cationes multivalentes o reticularse químicamente. Son ventajosamente capaces de reticularse bajo el agua y a temperaturas fisiológicas y pueden manipularse fácilmente en disolución. La reticulación tiene lugar de manera rápida, pero sin adherirse a las estructuras tisulares finas del paciente ni a los instrumentos de endoscopia. Los geles generados presentan suficiente estabilidad y flexibilidad para poder extraerse junto con las partículas.

50 Se utilizan preferentemente cationes adecuados como agentes de reticulación del componente (B). Ventajosamente, se trata por regla general de cationes que están presentes de manera natural en los sistemas fisiológicos. Ventajosamente, no es necesario añadir reactivos adicionales (agresivos) para iniciar la reticulación en condiciones fisiológicas. Además, ventajosamente no se producen subproductos no deseados.

55 Según la invención, se prefieren tales composiciones que puedan endurecer en condiciones fisiológicas. Para formar reticulaciones estables a través de puentes catiónicos, es ventajoso que los polímeros del componente (A) dispongan de grupos funcionales (en número suficiente) que estén presentes como unidades cargadas negativamente incluso a pH (ligeramente) ácido. En algunas composiciones, por ejemplo, el grado de reticulación o la velocidad de la reticulación pueden controlarse a través de variables controlables tales como las concentraciones o los valores de pH de los componentes individuales.

60 65 Adicional o alternativamente el o uno, varios o todos los agentes de reticulación se selecciona(n) del componente (B) preferentemente del grupo que consiste en cationes di y trivalentes, preferentemente de iones de plomo, cobre, bario, estroncio, cadmio, calcio, cobalto, níquel, zinc, manganeso y magnesio, de manera especialmente preferible de iones de hierro y calcio.

Los iones de hierro y calcio son cationes presentes de manera natural en los sistemas fisiológicos que pueden administrarse fácilmente en forma de disoluciones biológicamente compatibles. Tienen una química de coordinación adecuada y pueden formar complejos quelados estables para la reticulación.

Según la invención, el colorante puede comprender un polímero, en donde el polímero del colorante y el o uno del/de los polímero(s) reticulable(s) del componente (A) pueden corresponder entre sí. En este caso, el o uno del/de los polímero(s) reticulable(s) del componente (A) y el polímero del colorante se basan en los mismos polímeros, teniéndose en cuenta el tipo de monómeros de los que están compuestos estos polímeros, y preferentemente no el número de monómeros.

Una composición según la invención puede contener otros componentes adicionales. Por ejemplo, pueden añadirse sustancias que fomenten la formación del gel y/o la incorporación de las partículas a los componentes (A) y/o (B) y/o a uno o varios componentes adicionales de una composición según la invención. Tales sustancias pueden ser, por ejemplo, agentes de entrecruzamiento para aumentar la estabilidad del gel.

Según la invención es, por tanto, preferible que el componente (A), el componente (B), y/o (uno) más componente(s) contenido(s) dado el caso en la composición contenga una o más sustancias para mejorar la reticulación del o de los polímero(s) reticulable(s), en particular agentes de entrecruzamiento, preferentemente aminoácidos.

Preferentemente la concentración del/de los agente(s) de entrecruzamiento contenido(s) en el componente (B), con respecto al volumen total del componente (B), asciende por lo menos a 0,01 mol/l y se encuentra preferentemente en el intervalo de desde 0,01 hasta 3,0 mol/l, de manera especialmente preferible en el intervalo de desde 0,1 hasta 1,0 mol/l. Si uno de los agentes de reticulación también es un colorante tal como se describe en la presente memoria, este agente de reticulación se tendrá en cuenta como tal para calcular la concentración del o de los agente(s) de reticulación contenido(s) en el componente (B).

El componente (B) puede contener otros constituyentes además de los agentes de reticulación mencionados. Para calcular la cantidad total del/de los agente(s) de reticulación en el componente (B), la totalidad del componente (B), junto con los constituyentes igualmente presentes además del/de los agente(s) de reticulación, sirve como base para el cálculo.

La cantidad de agente de reticulación presente influye tanto en la velocidad de la reacción de reticulación como en la estabilidad y flexibilidad del gel reticulado. Las cantidades especificadas en la realización preferida de la presente invención descrita anteriormente garantizan que se forme lo más rápidamente posible un gel estable y flexible, que dado el caso puede eliminarse del cuerpo en una sola pieza.

Según una configuración preferida adicional de la presente invención, el componente (A) y/o el componente (B) presentan un valor de pH ácido, preferentemente un valor de pH en el intervalo de desde 3,5 hasta 4,5. Según una configuración preferida adicional de la presente invención, el componente (A) y/o el componente (B) presentan un valor de pH neutro, preferentemente un valor de pH en el intervalo de desde 6,5 hasta 8,0, de manera especialmente preferible un valor de pH en el intervalo de desde 7,0 hasta 7,5.

En un pH en el intervalo de desde 3,5 hasta 4,5, los cationes del componente (B) están libres en disolución y, por tanto, están disponibles para la complejación. Ventajosamente, en este intervalo de pH, los grupos ácidos que se encuentran en el polisacárido están en gran parte desprotonados, lo que da como resultado una reacción de reticulación eficaz. Si se coloca una disolución tamponada (a un pH de aproximadamente 4) en la región de las

partículas que deben eliminarse, la introducción del componente (A) que contiene preferentemente polisacárido conduce a una reducción de la solubilidad. Este proceso toma un cierto tiempo durante el cual se incrustan las partículas que deben eliminarse. Ventajosamente, la velocidad de la reacción de reticulación también puede controlarse a través del pH de los componentes utilizados.

Se ha demostrado que un valor de pH neutro es, en particular, inocuo para el tejido corporal.

Según la invención, preferentemente la composición contiene además partículas magnetizables, en la que

las partículas magnetizables forman parte del componente (A) y/o forman parte del componente (B)
y/o en la que

la composición comprende además el componente (C) que contiene las partículas magnetizables,

de modo que el gel reticulado contiene además partículas magnetizables.

La adición de partículas magnetizables abre un método nuevo y ventajoso para eliminar el gel solidificado del cuerpo aprovechando sus propiedades magnéticas. Por ejemplo, puede utilizarse una herramienta de recuperación endoscópica magnética o, en particular, una cesta endoscópica magnética, que combina las ventajas de un anclaje y de una cesta endoscópica convencional.

Según una realización preferida de la presente invención las partículas magnetizables se seleccionan de partículas que contienen o consisten en elemento(s) ferromagnético(s) tales como hierro, níquel y cobalto, así como aleaciones tales como AlNiCo, SmCo, Nd₂Fe₁₄B, Ni₈₀Fe₂₀, NiFeCo y/o sus óxidos tales como partículas de óxido de hierro, en particular nanopartículas de óxido de hierro de Fe₃O₄ y/o γ-Fe₂O₃.

- 5 Según otra realización preferida de la presente invención, el gel reticulado no contiene ninguna partícula magnetizable.
- 10 En el caso de que el gel reticulado contenga además partículas magnetizables, es preferible que las partículas magnetizables no influyan o no influyan significativamente de manera negativa en el color y/o coloración del gel a efectos de la invención, preferentemente no influyan o no influyan significativamente en el mismo.
- 15 Las partículas de óxido de hierro han demostrado ser adecuadas para aplicaciones de tecnología médica y farmacéuticas, por ejemplo, como medios de contraste administrados por vía intravenosa para tomografía por resonancia magnética nuclear o para tratamiento antineoplásico. Para aumentar la biocompatibilidad y la estabilidad coloidal, dichas partículas suelen recubrirse con, por ejemplo, dextrans, polí(alcoholes vinílicos), ácido dimercaptosuccínico, entre otros.
- 20 Preferentemente, la cantidad total de las partículas magnetizables, con respecto al peso total del componente (A) o (B) o (C) que contiene las partículas magnetizables, asciende por lo menos al 0,1 % en peso y se encuentra preferentemente en el intervalo de desde el 0,1 hasta el 70 % en peso, de manera especialmente preferible en el intervalo de desde el 1 hasta el 11 % en peso. Para garantizar que el gel que comprende las partículas pueda eliminarse de manera eficaz del cuerpo mediante la utilización de interacciones magnéticas, es necesario utilizar una cantidad adecuada de partículas magnetizables en el gel reticulado. Si una de las partículas magnetizables también representa un colorante tal como se describe en la presente memoria, esta partícula magnetizable se tiene en cuenta como tal para calcular la cantidad total de partículas magnetizables. Preferentemente, la(s) partícula(s) magnetizable(s) no son un colorante tal como se describe en la presente memoria.
- 25
- 30 Los componentes (A) y/o (B) y/o (C) (si está presente) también pueden contener otros constituyentes además de los constituyentes mencionados. Para calcular la cantidad total de las partículas magnetizables en el componente que contiene estas partículas, tal como se describió anteriormente, sirve la totalidad del componente (A) o (B) o (C) junto con los constituyentes igualmente presentes además de los constituyentes mencionados. Si varios de los componentes (A), (B) o (C) contienen partículas magnetizables, la cantidad total de las partículas magnetizables en el componente respectivo debe calcularse preferentemente de manera individual para cada componente.
- 35
- 30 Si, además de los componentes (A) y (B) según la invención, están presentes varios componentes adicionales en la composición y uno de los otros componentes comprende partículas magnetizables tal como se describió anteriormente, este componente se considera como componente (C). Si varios de los componentes adicionales comprenden partículas magnetizables tal como se describió anteriormente y estos diversos componentes están presentes como componentes separados, el componente con la mayor concentración de partículas magnetizables tal como se describió anteriormente se considera preferentemente como componente (C).
- 40
- 45 Preferentemente, la invención se refiere a una composición de múltiples componentes formadora de gel, preferentemente una composición de dos componentes, para formar un gel,
- 50 la composición está compuesta por o comprende
- 55 un componente (A), que contiene uno o varios polímeros reticulables, preferentemente reticulables de manera catiónica, y
- 60 un componente (B), que contiene uno o varios agentes de reticulación para reticular el o los polímeros reticulable(s)
- comprendiendo el componente (A) y el componente (B) por lo menos un colorante,
- en la que el o por lo menos un colorante es un colorante tal como se describe en la presente memoria. Preferentemente, el colorante se selecciona de una combinación de una molécula grande, tal como se describe en la presente memoria, y por lo menos un marcador, tal como se describe en la presente memoria o un colorante pequeño, tal como se describe en la presente memoria, para la aplicación en un procedimiento para eliminar partículas no deseadas de un paciente.
- 65 Lo dicho anteriormente respecto a las formas de realización preferidas de la composición de múltiples componentes se aplica también en este caso.
- 65 Igualmente se describe en la presente memoria un gel reticulado que comprende o está compuesto por uno o más polímero(s), partículas magnetizables y por lo menos un colorante, cada uno tal como se describe o define en la

presente memoria,

en el que el gel reticulado puede producirse o se produce

5 (i) proporcionando un componente (A), que contiene uno o varios polímeros reticulables, preferentemente polímeros reticulables de manera catiónica,

10 y proporcionando un componente (B), que contiene uno o varios agentes de reticulación para reticular el o los polímero(s) reticulable(s),

15 así como, opcionalmente, proporcionando un componente (C) o componente(s) adicional(es) (si está(n) presente(s)),

20 en el que el componente (A) y/o el componente (B) y/o, en caso de estar presente, el componente (C) contiene(n) partículas magnetizables,

25 (ii) poniendo en contacto los componentes (A) y (B), así como dado el caso (C) y componentes adicionales (si están presentes) en condiciones que posibilitan la reticulación del o de los polímero(s) reticulable(s), de modo que se genera un gel reticulado,

30 en el que el componente (A) y/o el componente (B) comprenden por lo menos un colorante,

35 en el que el por lo menos un colorante lleva a cabo una coloración transparente del gel y opcionalmente del componente (A) y/o del componente (B),

40 en el que el por lo menos un colorante no perjudica la reticulación del o de los polímero(s) reticulable(s) en el caso de poner en contacto los componentes (A) y (B),

45 y en el que el por lo menos un colorante no sale del gel formado.

50 Lo dicho aquí sobre la composición de múltiples componentes formadora de gel, en particular sus ventajas y realizaciones preferidas, se aplica en consecuencia al gel reticulado descrito en la presente memoria. Igualmente, las declaraciones hechas con respecto al componente (A) o (B) o (C) (si está presente) u otros componentes (si están presentes) y sus constituyentes respectivos también se aplicarán en consecuencia.

55 El componente (A) y el componente (B) comprenden por lo menos un colorante y el/los colorante(s) en el componente (A) es/son distinto(s) del/de los colorante(s) en el componente (B).

60 Preferentemente el procedimiento para producir el gel, tal como se describió anteriormente, comprende además las siguientes etapas:

65 teñir el componente (A) y/o (B) y/o (C) (en caso de estar presente) y/o componentes adicionales (siempre y cuando estén presentes) con un colorante tal como se describe en la presente memoria, en particular tal como se describe en la presente memoria como preferible.

70 La etapa de la tinción tiene lugar preferentemente antes de la puesta en contacto en la etapa (ii) del procedimiento descrito anteriormente.

75 Preferentemente, el o uno, varios o todos los polímeros reticulables del componente (A) se selecciona(n) del grupo que consiste en polisacáridos, en particular dextrans y polisacáridos con grupos funcionales desprotonados o desprotonables, preferentemente grupos carboxilo, preferentemente dextrans y polisacáridos del grupo de los poliurónidos, de manera especialmente preferible dextrans y polisacáridos del grupo de los alginatos y pectinas.

80 Adicional o alternativamente, el o uno, varios o todos los agentes de reticulación del componente (B) preferentemente se selecciona(n) del grupo que consiste en cationes di y trivalentes, preferentemente de iones de hierro y calcio.

85 Adicional o alternativamente, las partículas magnetizables se seleccionan preferentemente de partículas que contienen o consisten en elemento(s) ferromagnético(s) tales como hierro, níquel y cobalto, así como aleaciones tales como AlNiCo, SmCo, Nd₂Fe₁₄B, Ni₈₀Fe₂₀, NiFeCo y/o sus óxidos como partículas de óxido de hierro, en particular nanopartículas de óxido de hierro de Fe₃O₄ y/o γ-Fe₂O₃.

90 Las partículas magnetizables pueden acceder al sistema formador de gel de cualquier manera. Pueden formar parte de una o ambas de las composiciones (A) y/o (B) o también pueden añadirse como un constituyente de otra composición (C).

Preferentemente la cantidad total de las partículas magnetizables, con respecto al peso total del componente (A) o (B) o (C) que contiene las partículas magnetizables, asciende por lo menos al 0,1 % en peso y se encuentra preferentemente en el intervalo de desde el 0,1 hasta el 70 % en peso, de manera especialmente preferible en el intervalo de desde el 1 hasta el 11 % en peso. Si una de las partículas magnetizables también representa un colorante, tal como se describe en la presente memoria, esta partícula magnetizable se toma en cuenta como tal para calcular la cantidad total de las partículas magnetizables. Preferentemente, la(s) partícula(s) magnetizable(s) no es/son ningún colorante tal como se describe en la presente memoria.

Los componentes (A) y/o (B) y/o (C) (si está presente) y/o componentes adicionales (si están presentes) también pueden contener otros constituyentes además de los constituyentes mencionados. Para calcular la cantidad total de las partículas magnetizables en el componente que contiene estas partículas, tal como se describió anteriormente, sirve la totalidad del componente (A) o (B) o (C) o componente(s) adicionales (si están presentes) junto con los constituyentes igualmente presentes además de los constituyentes mencionados. Si varios de los componentes (A), (B) o (C) contienen partículas magnetizables, la cantidad total de las partículas magnetizables en el componente respectivo debe calcularse preferentemente de manera individual para cada componente.

Adicional o alternativamente la concentración del/de los agente(s) de reticulación contenido(s) en el componente (B), con respecto al volumen total del componente (B), asciende preferentemente por lo menos a 0,1 mol/l y se encuentra preferentemente en el intervalo de desde 0,1 hasta 3,0 mol/l, de manera especialmente preferible en el intervalo de desde 0,1 hasta 1,0 mol/l. Si uno de los agentes de reticulación también es un colorante tal como se describe en la presente memoria, este agente de reticulación se tendrá en cuenta como tal para calcular la concentración del o de los agente(s) de reticulación contenido(s) en el componente (B).

El componente (B) puede contener otros constituyentes además de los agentes de reticulación mencionados. Para calcular la cantidad total del/de los agente(s) de reticulación en el componente (B), sirve la totalidad del componente (B), junto con los constituyentes igualmente presentes además del/de los agente(s) de reticulación.

Igualmente se describe en la presente memoria un gel reticulado que está compuesto por o comprende uno o varios polímero(s), partículas magnetizables y por lo menos un colorante, en cada caso tal como se describe o define en la presente memoria.

en el que el gel reticulado puede producirse o se produce

(i) proporcionando un componente (A), que contiene uno o varios polímeros reticulables, preferentemente polímeros reticulables de manera catiónica,

y proporcionando un componente (B), que contiene uno o varios agentes de reticulación para reticular el o los polímero(s) reticulable(s),

así como, opcionalmente, proporcionando un componente (C) o componente(s) adicional(es) (si está(n) presente(s)),

en el que el componente (A) y/o el componente (B) y/o, en caso de estar presente, el componente (C) contiene(n) partículas magnetizables,

(ii) poniendo en contacto los componentes (A) y (B), así como dado el caso (C) y componentes adicionales (si están presentes) en condiciones que posibilitan la reticulación del o de los polímero(s) reticulable(s), de modo que se genera un gel reticulado,

en el que el componente (A) y el componente (B) comprenden por lo menos un colorante,

en el que el por lo menos un colorante es un colorante tal como se describe en la presente memoria. Preferentemente, el colorante se selecciona de una combinación de una molécula grande, tal como se describe en la presente memoria, y por lo menos un marcador, tal como se describe en la presente memoria o un colorante pequeño, tal como se describe en la presente memoria.

Lo dicho anteriormente respecto a las formas de realización preferidas del gel reticulado o de la composición de múltiples componentes se aplica también en este caso.

La presente invención se refiere a una composición formadora de gel tal como se describe en la presente memoria para la aplicación en un procedimiento para eliminar partículas no deseadas de un paciente.

La eliminación de partículas no deseadas mencionada anteriormente es un procedimiento quirúrgico invasivo. Una aplicación meramente cosmética no se ve afectada por esto. La eliminación de partículas no deseadas se lleva a cabo de forma dirigida y las partículas no deseadas se eliminan a este respecto del cuerpo de forma deliberada.

Las partículas (no deseadas) que deben eliminarse a los efectos de la presente invención pueden ser partículas de cualquier tipo que deban o puedan eliminarse del cuerpo del paciente desde un punto de vista médico. Preferentemente, el término "partículas no deseadas que deben eliminarse" describe todas las partículas (no deseadas) que deben eliminarse en un ser humano o un animal, ya sean autoformadas, formadas mediante ayuda externa o inmovilizadas mediante una entrada externa. Preferentemente, dichas partículas pueden eliminarse en conjunto.

Preferentemente, las partículas son depósitos, productos de precipitación, cuerpos extraños y/o fragmentos de los mismos y/o esquirlas de estructuras propias del cuerpo. En particular, los depósitos pueden incluir cálculos urinarios, cálculos salivales, cálculos biliares, cálculos pancreáticos o cálculos renales. Por productos de precipitación se entienden partículas como los cálculos biliares, que son un producto de precipitación de la bilis. Los cuerpos extraños pueden ser, por ejemplo, fragmentos minerales, esquirlas de metal, plástico o madera que entran en el cuerpo, por ejemplo, a través de lesiones como abrasiones. El término "fragmentos de los mismos" se refiere a las formas de partículas antes mencionadas e indica que pueden descomponerse en pedazos o trozos más pequeños antes o durante la eliminación. También es posible que la aplicación a este respecto sólo elimine partes (fragmentos), mientras que los fragmentos restantes se eliminan en una etapa posterior u otro procedimiento. Las esquirlas de estructuras propias del cuerpo pueden surgir, por ejemplo, durante operaciones como la inserción o retirada de implantes y, por tanto, pueden ser, por ejemplo, esquirlas de hueso o restos de fresado. Esto también incluye preferentemente esquirlas de otras estructuras tales como tejido cartilaginoso o fragmentos de tumores que puedan haber surgido durante un procedimiento quirúrgico previo o concurrente. El término esquirla comprende a este respecto estructuras de cualquier forma y tamaño.

Preferentemente la eliminación de las partículas no deseadas tiene lugar como un procedimiento que contiene las siguientes etapas:

- (i) proporcionar los componentes (A) y (B) así como dado el caso (C) y componente(s) adicionales (si están presentes),
- (ii) introducir los componentes (A) y (B) así como dado el caso (C) y componente(s) adicionales (si están presentes) en el cuerpo del paciente en una región que contenga las partículas que deben eliminarse, en condiciones, en las que con el contacto del componente (A) con el componente (B) se posibilita una reticulación del o de los polímero(s) reticulable(s), de modo que se genera un gel reticulado que circunda parcial o completamente las partículas que deben eliminarse,
- (iii) eliminar el gel reticulado junto con las partículas circundadas por el mismo de la región del cuerpo del paciente.

Los componentes (A), (B) y dado el caso (C) o componentes adicionales (si están presentes) pueden introducirse en la etapa (ii) al mismo tiempo o uno después de otro. Los componentes también pueden mezclarse antes de introducirlos en el cuerpo. Los componentes individuales también pueden mezclarse antes de introducirlos en el cuerpo, mientras que otros componentes sólo entran en contacto con uno o varios componentes en el cuerpo. Los componentes (A), (B) y, dado el caso, (C) o componentes adicionales (si están presentes) también pueden introducirse en el organismo al mismo tiempo, pero por separado, es decir, en una forma separada unos de otros.

Preferentemente el procedimiento comprende la siguiente etapa adicional que tiene lugar en el tiempo antes de la etapa (ii):

- (i.2) fragmentar una o más partículas en la región del cuerpo del paciente, de modo que se generen dos o más fragmentos, preferentemente un gran número de fragmentos de la(s) partícula(s).

Si se lleva a cabo esta etapa, es posible que las partículas ya estén presentes como fragmentos, que luego se descomponen a su vez en fragmentos mediante esta etapa.

Preferentemente el término "gran número de fragmentos" comprende por lo menos 5, preferentemente por lo menos 10, de manera especialmente preferible por lo menos 15, de manera más especialmente preferible por lo menos 20 fragmentos. Si una partícula que se fragmenta en esta etapa ya existe como fragmento, el término "gran número de fragmentos de la(s) partícula(s)" se refiere a la partícula ya fragmentada y a los fragmentos que se generan a partir de esta.

El procedimiento puede comprender adicional o alternativamente la siguiente etapa adicional que preferentemente tiene lugar en el tiempo antes de la etapa (ii) y preferentemente después de la etapa (i.2) (en el caso de estar presente):

- (i.3) unir dos o más partículas o dos o más fragmentos, en cada caso tal como se describió anteriormente, o partículas y fragmentos.

Preferentemente, las partículas y/o fragmentos unidos se denominan además partículas y/o fragmentos.

5 La figura 1 (parte izquierda) muestra un riñón de cerdo en el que se produjo un gel según la invención con azul de dextrano (flecha blanca) y un gel de control con colorante negro (flecha negra). La figura 1 (parte derecha) muestra los geles eliminados, parte superior: transparente, según la invención; parte inferior: no transparente, que no es según la invención.

10 La figura 2 muestra los riñones de cerdo utilizados para los experimentos (parte izquierda) y un riñón de cerdo cortado (parte derecha).

15 La figura 3 muestra una jeringuilla desechable con un componente (A) según la invención descrita en la presente memoria (parte izquierda) y una jeringuilla desechable con un componente (A) que no es según la invención (parte derecha); en este estado no puede observarse ninguna diferencia.

15 La figura 4 muestra un riñón de cerdo (parte izquierda) en el que se produjo un gel según la invención (parte central, flecha blanca) y se eliminó (parte derecha). No se observa ninguna tinción del tejido renal.

20 La figura 5 muestra un riñón de cerdo (parte izquierda) con cálculos renales, en el que se produjo un gel según la invención para circundar los cálculos renales (parte central, flecha blanca) y se eliminó (parte derecha). El gel eliminado contiene los cálculos renales.

25 La figura 6 muestra un riñón de cerdo en el que se produjo un gel que no es según la invención con azul brillante FCF (parte superior izquierda, flecha blanca: aún no solidificado; parte superior derecha, flecha blanca: solidificado) y se eliminó (parte inferior). Se tiñó el tejido renal (parte inferior; flechas blancas). La tinción no pudo eliminarse (parte inferior derecha; flecha blanca) ni siquiera mediante lavado (parte inferior izquierda).

30 La figura 7 muestra un riñón de cerdo (parte izquierda) con cálculos renales, en el que se produjo un gel que no es según la invención con verde ácido brillante BS (también llamado verde S) (parte izquierda: aún no solidificado). Se tiñó el tejido renal (parte derecha; flecha blanca, corchete).

35 La figura 8 muestra una comparación de los experimentos con composiciones según la invención (parte inferior en cada caso) y composiciones que no son según la invención (parte superior en cada caso). En el caso de las composiciones que no son según la invención, se ha teñido el tejido renal (flecha blanca en cada caso), parte izquierda: vista general; parte derecha: ampliación.

A continuación se explica con más detalle la presente invención utilizando ejemplos seleccionados.

Ejemplos

40 Ejemplo 1: Producción de los componentes (A), (B) y (C)

Para producir un componente (A) a modo de ejemplo, se disuelven 5 g de azul de dextrano y 4 g de alginato de sodio en 1 l de agua.

45 Para producir un componente (B) a modo de ejemplo, se disuelven 10 g de cloruro de calcio dihidratado en 1 l de agua.

50 Para producir un componente (C) a modo de ejemplo, se prepara una suspensión de partículas que contiene hierro de 4 a 40 mM (de 0,35 a 3,5 g por litro) en agua o tampón fisiológico (M. Geppert *et al.*, Nanotechnology 22 (2011) 145101). Se añade esta disolución a A o B en del 1 % al 50 %.

Ejemplo 2: Elección de diferentes colorantes

55 Se disuelven 2 g de alginato en 200 ml de agua y se tiñen con diversos colorantes. Se produce el componente (B) según el ejemplo 1 y se mezcla con el componente (A) de modo que se genera un gel solidificado.

60 Se utilizaron los siguientes colorantes: color amarillo (riboflavina, E101ii, 29 mg/ml; amarillo de quinoleína E104; curcumina E100; luteína E161 b; tartrazina E102; carotenos E160; amarillo ocaso FCF E110), color rojo (carmín auténtico, E120, 29 mg/ml), color azul (azul brillante, FCF E133, 2 mM). Color verde (clorofilina, E141, 1 mM = 3 mg/ml). Color blanco (dióxido de titanio, E 171, 7 mg/ml). Incoloro (sin colorante).

65 Se demostró que puede producirse un gel con color por medio de diversos colorantes. Especialmente ventajosos fueron los geles que se tiñeron en los colores verde o azul porque proporcionaron un contraste particularmente bueno con el tejido orgánico (mucosa renal) y los geles podían identificarse fácilmente a simple vista bajo la iluminación del laboratorio.

A continuación, se sometieron a prueba además los siguientes colorantes tal como se describió anteriormente: azul brillante FCF, azul de dextrano, azul de metileno, clorofilina de cobre y sodio, dióxido de titanio, azul de tripano, carmín de índigo. De estos colorantes, sólo el azul de dextrano se encuentra dentro de la lista de moléculas con color descrita en la reivindicación 1.

Los experimentos muestran que la biocompatibilidad de los colores varía según las concentraciones utilizadas, que los colores pueden difundir hacia fuera de un hidrogel a diferentes velocidades, que los colores utilizados pueden presentar una influencia negativa sobre la formación del gel y que también pueden influir en la dinámica de la disolución del gel.

En particular, el azul de dextrano y la clorofilina de sodio y cobre cumplieron plenamente con el perfil de requisitos.

Ejemplo 3: Comparación de azul brillante FCF, azul patente V, carmín de índigo, antocianinas y azul de dextrano

Se produjo un componente (A) según el ejemplo 1 con azul de dextrano. Se produjeron los componentes adicionales (A) según el ejemplo 2, utilizando azul brillante FCF (colorante para hornear y para alimentos de Dr. Oetker "azul"), azul patente V (E131), carmín de índigo E(132) o antocianinas E(163) como colorantes.

Se produjo un componente (B) según el ejemplo 1 y se tiñó con 0,023 g de riboflavina.

Se introdujeron ambos componentes en riñones de cerdo (figura 3) por medio de jeringuillas desechables (figura 2) de modo que se formó un gel solidificado. Se eliminaron los geles y se examinó la tinción de los riñones de cerdo.

Se demostró que el azul de dextrano cumplía todos los requisitos, permitiendo un gel teñido de manera transparente y sin teñir el tejido renal circundante (figuras 4 y 5), mientras que los colorantes azul brillante FCF, azul patente V, carmín de índigo y antocianinas no eran adecuados porque teñían el tejido renal circundante (figuras 6 y 7). Incluso después de repetidos lavados, no pudo eliminarse el color del tejido renal (figura 6). La comparación muestra que el azul de dextrano era adecuado, pero el azul brillante FCF no (figura 8).

De estos colorantes, sólo el azul de dextrano se encuentra dentro de la lista de moléculas con color descrita en la reivindicación 1.

Ejemplo 4: Aplicación de un sistema formador de gel según la invención para eliminar cálculos urinarios

El acceso a la luz de las vías urinarias (por ejemplo, el sistema de cálix renal) se logra por vía ureterorenoscópica (a través de la uretra, la vejiga y el uréter) o por vía percutánea (a través de una punción en la piel en el costado).

En el interior se coloca una cubierta especial (posiblemente un tubo de polímero con componentes metálicos) con un diámetro interior de desde 3 hasta 9 mm. Se inserta un endoscopio en la luz de las vías urinarias (por ejemplo, en el sistema de cálix renal) a través de la vaina de acceso provista, se inspecciona la zona operada y se visualiza(n) el cálculo urinario o los cálculos urinarios. Se tritura(n) el cálculo urinario o los cálculos urinarios, por ejemplo, por medio un láser de holmio. Se eliminan los fragmentos grandes y medianos con un instrumento de recuperación de cálculos. A continuación, se introduce un catéter a través del dispositivo endoscópico (a través de la vía de acceso) y se aplican hasta 3 ml, en particular de 300 a 500 µl de un componente (A) según el ejemplo 1 en la región de las vías urinarias (por ejemplo, en el sistema de cálix renal) de tal manera que A circunde o se incruste en los cálculos o los fragmentos del o de los cálculo(s) urinario(s) triturado(s). A continuación se aplican igualmente hasta 9 ml de un componente (B) según el ejemplo 1 en la proximidad de B, también a través del catéter que se encuentra en el endoscopio. No es necesaria la mezcla activa de A con B. Se produce la formación de gel en un plazo de unos segundos a un minuto. Puede lavarse el catéter con una disolución de NaCl al 0,9 % entre la aplicación de A y B. Luego se introduce un instrumento de agarre a través del endoscopio quirúrgico y a través de la cubierta de acceso. El instrumento de agarre agarra el gel solidificado en una sola pieza o varias partes y lo elimina del cuerpo mediante extracción.

Ejemplo 5: Medición de la transmisión T para determinar la transparencia

Se produjo un componente (A) según el ejemplo 1. Se produjo un componente (B) según el ejemplo 1 y se tiñó con 0,023 g de riboflavina. Se mezclaron entre sí los componentes (A) y (B), después de lo cual se formó un gel.

Para medir la transmisión T, se registró el espectro en el espectro visible de 400-800 nm con una amplitud de paso de 1 nm.

Se coloca la sustancia que va a medirse en cubetas convencionales de manera que se consiga un grosor de capa de 10 mm:

Se corta el gel a medida, se coloca en la cubeta y, dado el caso, se llena con componente (B) adicional para eliminar posibles burbujas de aire. También aquí se consigue un grosor de capa de 10 mm.

- Como referencia se midió el agua que se llenó en la cubeta de modo que se logró un grosor de capa de 10 mm.
- 5 Se compara la intensidad de cada punto de medición del gel con la referencia (agua) y se presenta como un porcentaje de la referencia (agua = 100 %).
- 10 Se determina la transmisión T como la media aritmética de todas las intensidades parciales entre 400 y 800 nm en porcentaje.
- 15 Para determinar los valores mínimos de la transmisión T necesarios para la transparencia, se posicionó un texto con letras negras detrás de la cubeta respectiva. Se midió la transmisión T de los geles en los que las letras aún eran visibles a través de la cubeta llena (= gel transparente) o ya no eran visibles (= gel no transparente).
- 20 En el gel según la invención, compuesto por los componentes (A) y (B), tal como se describió anteriormente, las letras negras eran visibles a través de la cubeta llena (gel transparente). Para la transmisión T del gel, se midieron valores entre el 19 y el 25 % en varios experimentos.
- Se prepararon otros geles que no eran según la invención y se introdujeron en cubetas tal como se describió anteriormente. Sin embargo, las letras negras no eran visibles a través de la cubeta llena (geles no transparentes). Para estos geles, se midió una transmisión T de entre el 12 % y el 15 %. De ello se deduce que los geles con una transmisión T de hasta el 15 % todavía no son transparentes.

REIVINDICACIONES

1. Composición de múltiples componentes formadora de gel, preferentemente composición de dos componentes, para la formación de un gel,

5 la composición consistiendo en o comprendiendo

10 un componente (A), que contiene uno o varios polímeros reticulables, preferentemente reticulables de manera catiónica, y

15 un componente (B), que contiene uno o varios agentes de reticulación para reticular el o los polímero(s) reticulable(s),

en la que el componente (A) y el componente (B) comprenden por lo menos un colorante, siendo el/los colorante(s) en el componente (A) distinto(s) del/de los colorante(s) en el componente (B),

en la que el por lo menos un colorante lleva a cabo una coloración transparente del gel y opcionalmente del componente (A) y/o del componente (B),

20 en la que el por lo menos un colorante no perjudica la reticulación del o de los polímero(s) reticulable(s) en el caso de poner en contacto los componentes (A) y (B),

en la que el por lo menos un colorante no sale del gel formado,

25 y en la que el por lo menos un colorante comprende o consiste en una molécula con color seleccionada de entre el grupo que consiste en dextranos, polietilenglicol, almidón, gomas gellan, polielectrolitos tales como poli-l-lisina y otros poliaminoácidos, tales como, por ejemplo poli(ornitina), poli(arginina), poli(histidina); polipéptidos y proteínas tales como, por ejemplo, gelatina, así como polisacáridos tales como, quitosano, alginatos, tales como, alginato de sodio, poli(ácido glicólico) (PGA), poli(ácido láctico) (PLA), poli-2-hidroxibutirato (PHB), policaprolactona (PCL), poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), sulfato de protamina, espermidina, albúmina, carragenano, furcelarano, pectina, goma xantana, ácido hialurónico, carboximetilcelulosa sódica, heparina, sulfato de heparano, derivados de celulosa o carboximetilcelulosa sódica, sulfato de condroitina, sulfato de dermatano y sulfato de dextrano, para la aplicación en un procedimiento para eliminar partículas no deseadas de un paciente.

35 2. Composición formadora de gel para la aplicación según la reivindicación 1,

en la que el o uno, varios o todos los polímeros reticulables del componente (A) se selecciona(n) de entre el grupo que consiste en polisacáridos, en particular dextranos y polisacáridos con grupos funcionales desprotonados o desprotonables, preferentemente grupos carboxilo, preferentemente dextranos y polisacáridos del grupo de los poliurónidos, de manera particularmente preferida dextranos y polisacáridos del grupo de los alginatos y las pectinas,

40 y/o

45 en la que el o uno, varios o todos los agentes de reticulación del componente (B) se selecciona(n) de entre el grupo que consiste en cationes di- y trivalentes, preferentemente de iones de hierro y calcio.

50 3. Composición formadora de gel para la aplicación según una de las reivindicaciones anteriores, en la que la concentración del/de los agente(s) de reticulación contenido(s) en el componente (B), con respecto al volumen total del componente (B), es de por lo menos 0,1 mol/l y se encuentra preferentemente en el intervalo de 0,1 a 3,0 mol/l, de manera especialmente preferida en el intervalo de 0,1 a 1,0 mol/l.

55 4. Composición formadora de gel para la aplicación según una de las reivindicaciones anteriores, en la que el componente (B) presenta un valor de pH neutro, preferentemente un valor de pH en el intervalo de 6,5 a 8,0, de manera especialmente preferida un valor de pH en el intervalo de 7,0 a 7,5.

60 5. Composición formadora de gel para la aplicación según una de las reivindicaciones anteriores, en la que la composición contiene además partículas magnetizables, en la que

las partículas magnetizables forman parte del componente (A) y/o forman parte del componente (B)

y/o en la que

65 la composición comprende además el componente (C), que contiene partículas magnetizables,

en la que preferentemente las partículas magnetizables se seleccionan de entre partículas que contienen o consisten en elemento(s) ferromagnético(s) tales como hierro, níquel y cobalto, así como aleaciones, tales como, AlNiCo, SmCo, Nd₂Fe₁₄B, Ni₈₀Fe₂₀, NiFeCo y/o sus óxidos, tales como, partículas de óxido de hierro, en particular nanopartículas de óxido de hierro de Fe₃O₄ y/o γ-Fe₂O₃.

5 6. Composición formadora de gel para la aplicación según la reivindicación 5, en la que la cantidad total de partículas magnetizables, con respecto al peso total del componente (A) o (B) o (C) que contiene las partículas magnetizables, es de por lo menos al 0,1 % en peso y se encuentra preferentemente en el intervalo del 0,1 al 70 % en peso, de manera especialmente preferida en el intervalo del 1 al 11 % en peso.

10 7. Composición formadora de gel para la aplicación según una de las reivindicaciones anteriores, en la que el componente (A), el componente (B), dado el caso el componente (C) y/o un componente (D) adicional, contenido dado el caso en la composición, contiene una o varias sustancias para mejorar la reticulación del o de los polímero(s) reticulable(s), en particular agentes de entrecruzamiento, preferentemente aminoácidos.

15 8. Composición formadora de gel para la aplicación según una de las reivindicaciones 1 a 7,

en la que las partículas son depósitos, productos de precipitación, cuerpos extraños y/o fragmentos de los mismos y/o esquirlas de estructuras propias del cuerpo.

20 9. Composición formadora de gel para la aplicación según la reivindicación 8, en la que el procedimiento contiene las siguientes etapas:

25 (i) proporcionar los componentes (A) y (B) así como dado el caso (C),

(ii) introducir los componentes (A) y (B) así como dado el caso (C) en el cuerpo del paciente en una región que contiene partículas que deben eliminarse,

30 en condiciones, que en el caso del contacto del componente (A) con el componente (B) posibilitan una reticulación del o de los polímero(s) reticulable(s), de modo que se genere un gel reticulado, que circunda parcial o completamente las partículas que deben eliminarse,

35 (iii) eliminar el gel reticulado junto con las partículas circundadas por el mismo de la región del cuerpo del paciente.

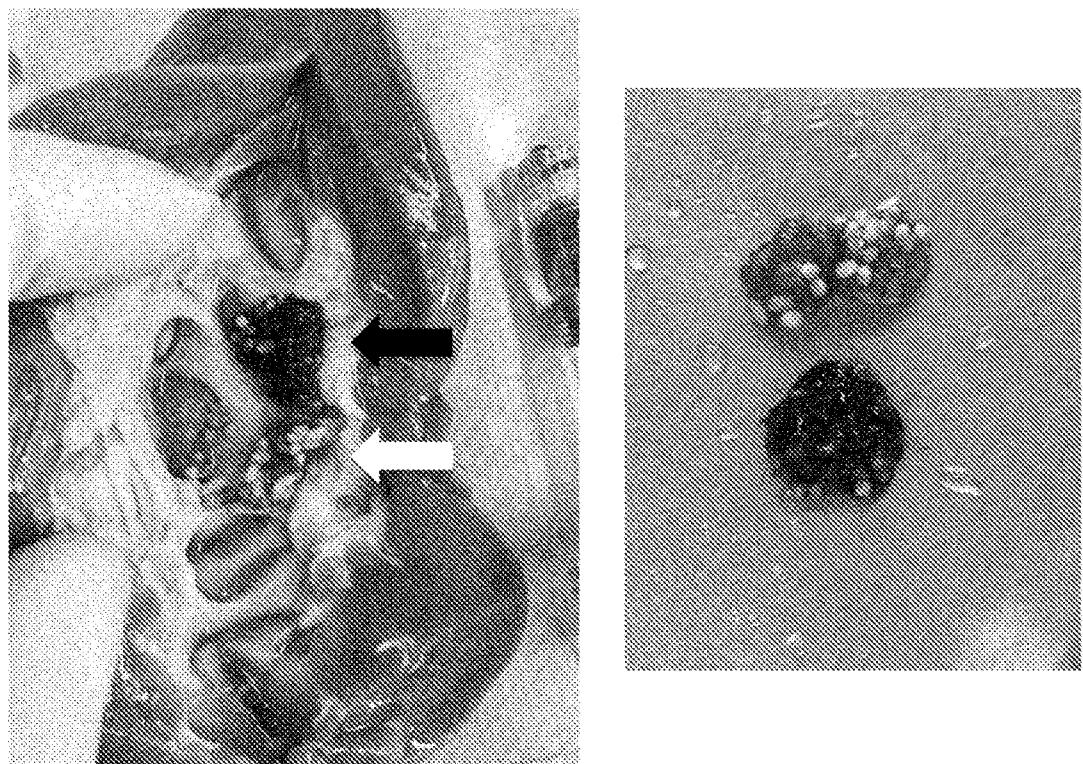
35 10. Composición formadora de gel para la aplicación según una de las reivindicaciones 8 o 9,

en la que el procedimiento comprende la siguiente etapa adicional, que tiene lugar en el tiempo antes de la etapa (ii):

40 fragmentar una o varias partículas en la región del cuerpo del paciente, de modo que se generen dos o más, preferentemente un gran número de fragmentos de la(s) partícula(s).

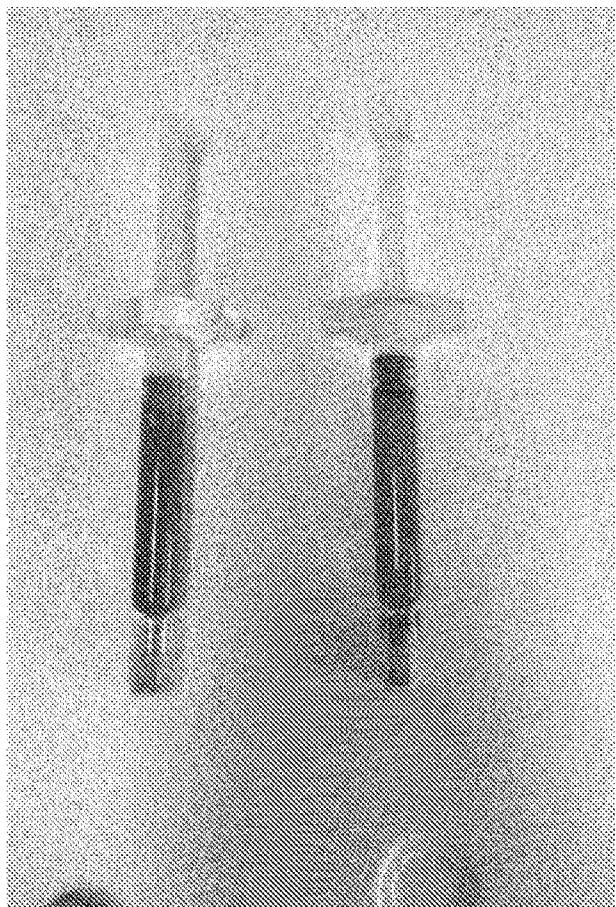
ES 3 027 859 T3

Fig. 1



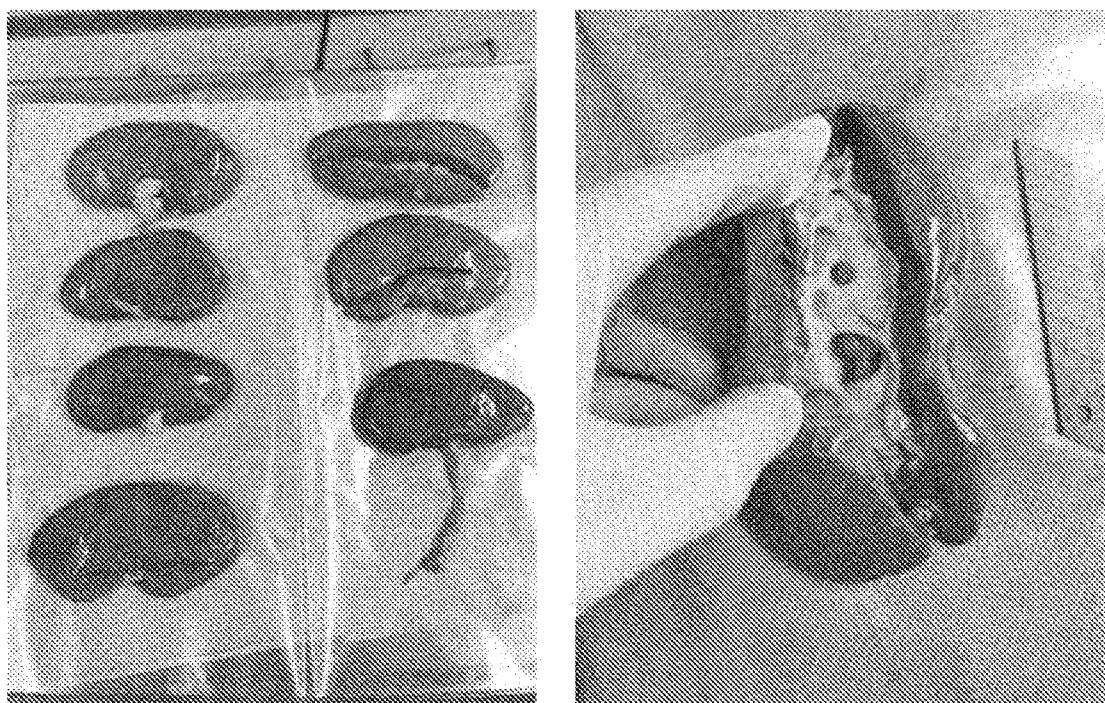
ES 3 027 859 T3

Fig. 2



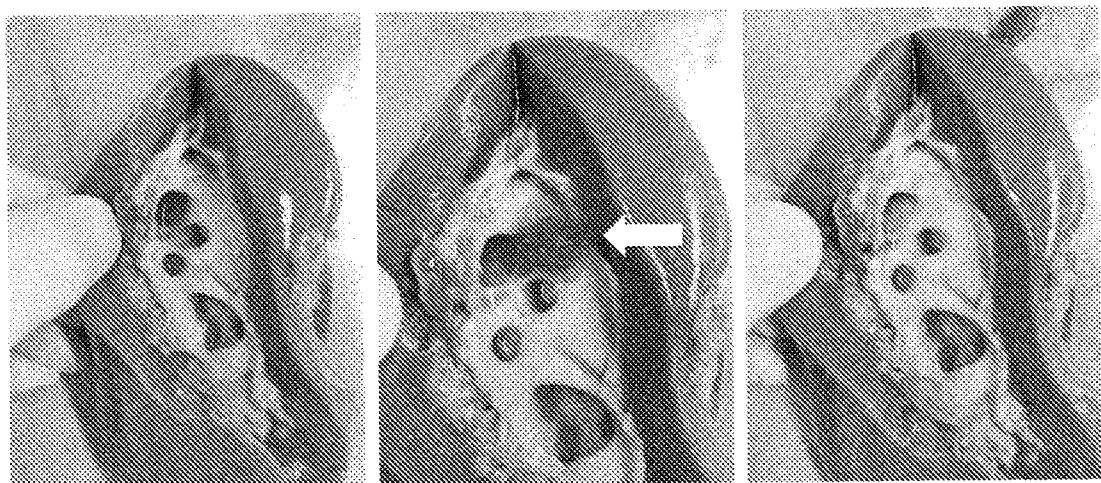
ES 3 027 859 T3

Fig. 3



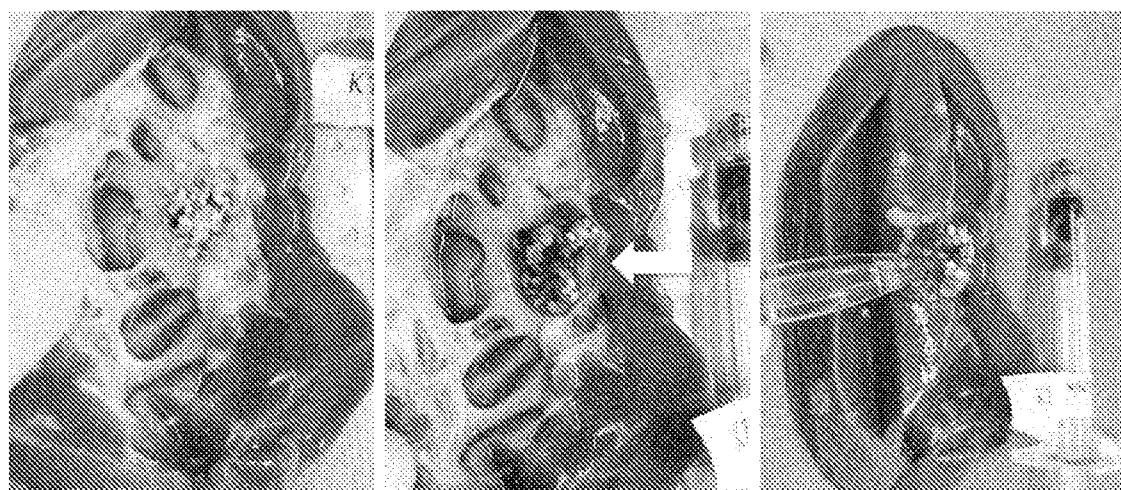
ES 3 027 859 T3

Fig. 4



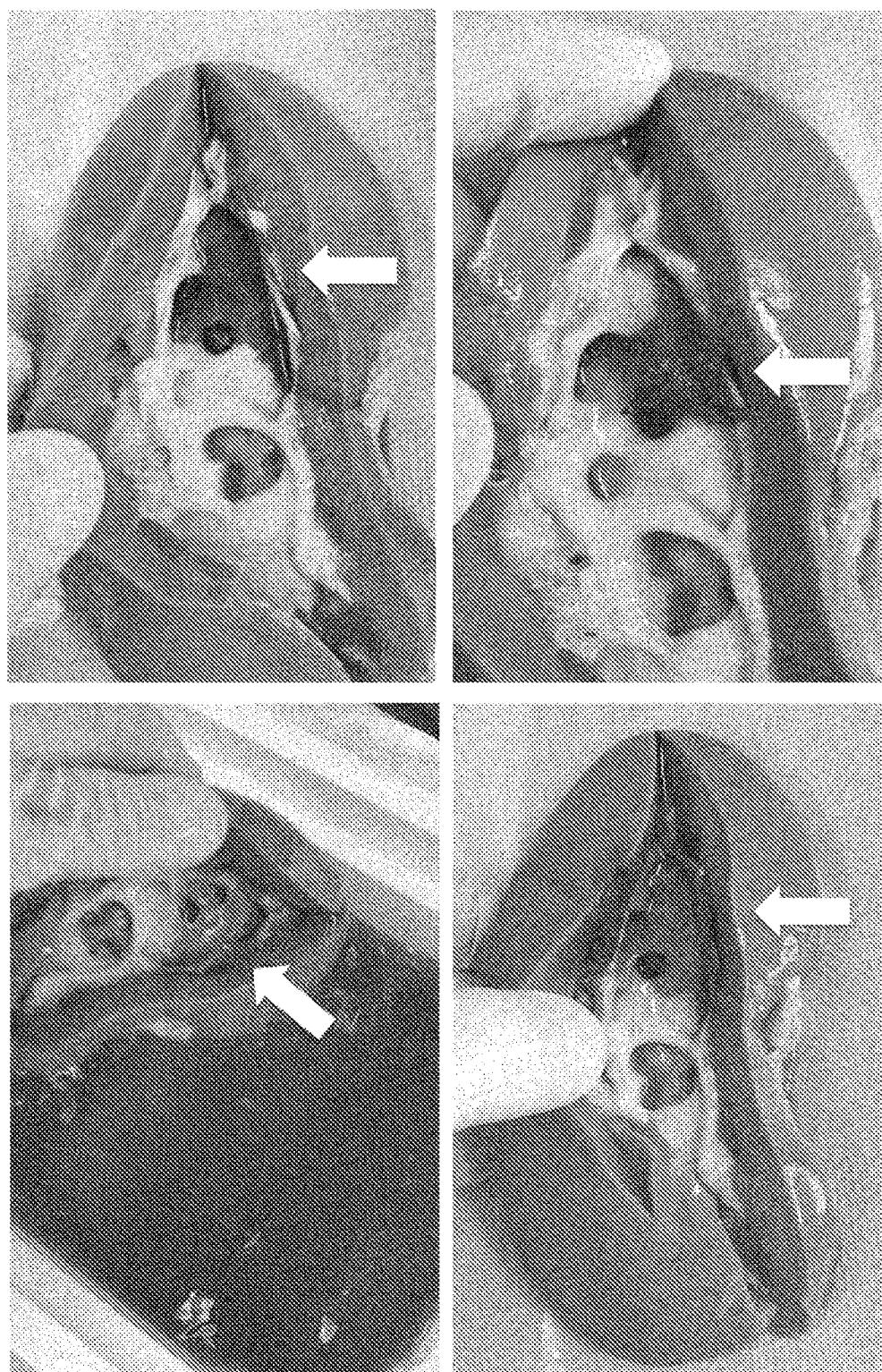
ES 3 027 859 T3

Fig. 5



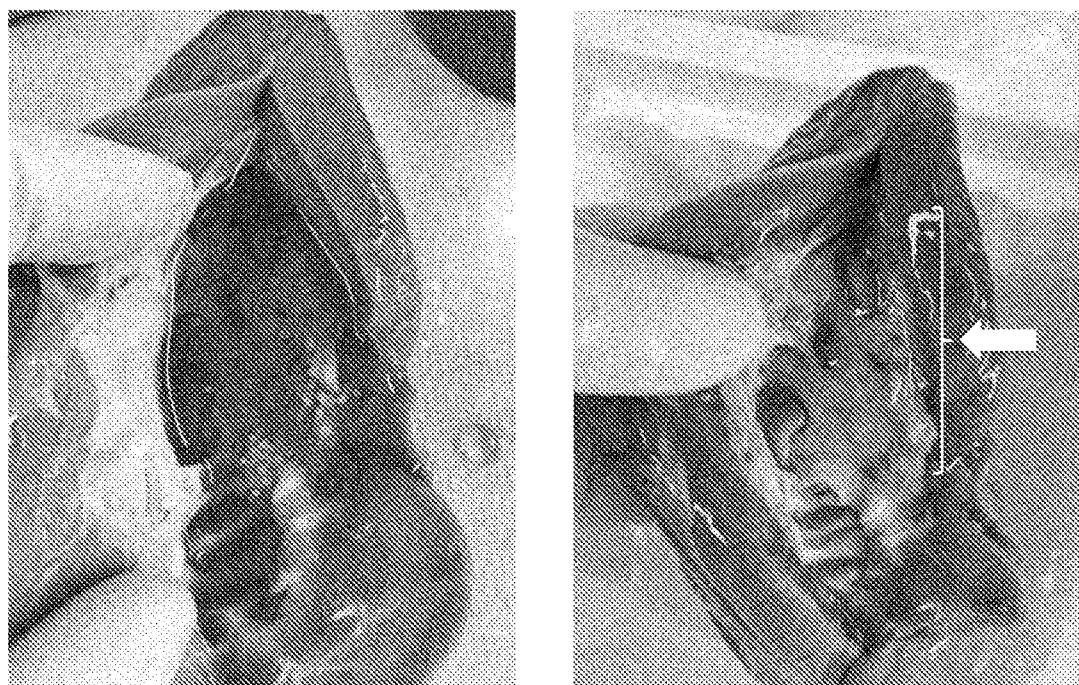
ES 3 027 859 T3

Fig. 6



ES 3 027 859 T3

Fig. 7



ES 3 027 859 T3

Fig. 8

