

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 546 667**

51 Int. Cl.:

A61L 15/22 (2006.01)
A61L 15/42 (2006.01)
A61L 15/58 (2006.01)
A61L 24/00 (2006.01)
A61L 24/04 (2006.01)
A61L 26/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.04.2011 E 11712579 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2015 EP 2555804**

54 Título: **Esponja hemostática**

30 Prioridad:

16.12.2010 US 424031 P
07.04.2010 US 321661 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.09.2015

73 Titular/es:

BAXTER INTERNATIONAL INC. (50.0%)
One Baxter Parkway
Deerfield, IL 60015, US y
BAXTER HEALTHCARE S.A. (50.0%)

72 Inventor/es:

HEDRICH, HANS CHRISTIAN y
HOEFINGHOFF, JORIS

74 Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 546 667 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

Espónja hemostática.

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere al campo de las esponjas hemostáticas, a un método para producirlas y a sus diversos usos.

Antecedentes de la invención

10 Son conocidos desde hace tiempo adhesivos biológicos basados en factores de coagulación de origen humano o animal. En los documentos US 4.362.567, US 4.298.598 y US 4.377.572 se describe un método para producir adhesivos tisulares basados en fibrinógeno y factor XIII. Los adhesivos tisulares se aplican normalmente junto con un componente independiente que contiene trombina, que actúa enzimáticamente sobre el fibrinógeno formando fibrina y sobre el factor XIII formando el factor activo XIIIa, que retícula la fibrina para obtener un coágulo de fibrina estable.

15 Durante muchos años se han utilizado compresas de colágeno para favorecer la cicatrización o detener hemorragias. Su mecanismo de acción en la hemostasia se basa en la aglutinación y activación plaquetaria, la formación de trombina sobre la superficie de las plaquetas activadas y la formación de un coágulo de fibrina hemostática mediante la acción catalítica de la trombina sobre el fibrinógeno. Para mejorar la acción hemostática de las compresas o láminas de colágeno se ha sugerido la inclusión de factores de hemostasia dentro de dichas compresas.

20 En el documento US 4.600.574 se describe un adhesivo tisular basado en colágeno combinado con fibrinógeno y factor XIII. Este material se suministra liofilizado, listo para el uso. El fibrinógeno y el factor XIII se combinan con el colágeno impregnando el material plano de colágeno con una solución que incluye fibrinógeno y factor XIII, y liofilizando dicho material.

El documento WO 97/37694 describe una esponja hemostática basada en colágeno y un activador o proactivador de la coagulación sanguínea distribuidos homogéneamente en su interior. Esta esponja se suministra en forma seca, que puede haber sido secada al aire o liofilizada. Sin embargo, sigue teniendo un contenido en agua de al menos un 2%.

25 La US 5.614.587 se refiere a composiciones bioadhesivas que incluyen colágeno reticulado utilizando un polímero hidrófilo sintético activado de modo multifuncional, y también a métodos de utilización de estas composiciones para producir la adhesión entre una primera superficie y una segunda superficie, pudiendo consistir al menos una de estas dos superficies en una superficie de tejido nativo.

30 La WO2004028404 describe un sellante tisular compuesto por un colágeno o una gelatina sintéticos y un agente reticulante electrófilo que se suministran en estado seco. Al humedecer esta composición a un pH apropiado se produce una reacción entre los 2 componentes y se forma un gel con propiedades sellantes. Este sellante actúa esencialmente de forma análoga a otros dos componentes sellantes conocidos (compuestos por un reactivo con múltiples grupos electrófilos y un reactivo con múltiples grupos nucleófilos) que son conocidos en el estado actual de la técnica o que están disponibles en el mercado, por ejemplo Coseal™. En una realización especial de la invención, los dos componentes del sellante (el reticulante electrófilo y el colágeno/gelatina sintético) están aplicados sobre un biomaterial.

35 En los documentos US 5.428.024, US 5.352.715 y US 5.204.382 se describen composiciones que contienen colágeno y que han modificadas mecánicamente para alterar sus propiedades físicas. Estas patentes se refieren en general a colágenos fibrilares e insolubles. En el documento US 4.803.075 se describe una composición de colágeno inyectable. En el documento US 5.516.532 se describe una composición inyectable de hueso/cartílago. En el documento WO 96/39159 se describe una matriz de suministro basada en colágeno que incluye partículas secas en un rango de tamaño de 5 µm a 850 µm, que se puede suspender en agua y que tiene una densidad de carga superficial particular. En el documento US 5.196.185 se describe una preparación de colágeno con un tamaño de partícula de 1 µm a 50 µm útil como spray de aerosol para formar un apósito. Otras patentes que describen composiciones de colágeno incluyen los documentos US 5.672.336 y US 5.356.614.

45 La US 2008/187591 A1 describe una composición hemostática que incluye un componente formador de hidrogel y al menos dos reticulantes. El documento WO 90/13320 A1 da a conocer una esponja hemostática que incluye trombina y un estabilizador de trombina. El documento US 2006/0258560 A1 da a conocer una composición de sellado tisular que incluye un reticulante y un colágeno sintético o una gelatina sintética, en estado seco, opcionalmente dispuestos sobre una matriz sólida. El documento WO 02/072128 A1 da a conocer composiciones de gelatina que incluyen un "agente humectante".

50 **Sumario de la invención**

El objeto de la invención es una esponja hemostática compuesta porosa que consiste esencialmente en

- i. una matriz de un biomaterial y
- ii. un componente polimérico hidrófilo simple que incluye grupos reactivos electrófilos, siendo dicho componente polimérico hidrófilo un reticulante hidrófilo,

estando i) y ii) asociados entre sí de modo que se conserva la reactividad del componente polimérico, donde el término "asociado" significa

- que dicho componente polimérico está aplicado sobre una superficie de dicha matriz de biomaterial, o
- que dicha matriz está impregnada con dicho material polimérico, o
- ambas cosas.

Se ha comprobado que anteriores compresas de biomateriales fibrosos para la cicatrización, en particular compresas de colágeno, han fallado a la hora de inducir la hemostasia en condiciones de hemostasia deficiente (por ejemplo después de heparinización). La esponja según la presente invención mejora la hemostasia. Además, la esponja de acuerdo con la presente invención presenta una fuerte adherencia al tejido cuando se aplica a una herida. Adicionalmente, la esponja de la presente invención tiene un mejor comportamiento de hinchamiento, es decir, poco hinchamiento, después de su aplicación a una herida.

Otro aspecto se refiere a un método para tratar una herida, que consiste en administrar una esponja hemostática compuesta porosa en el lugar de la herida.

También está previsto un *kit* para preparar una cobertura de heridas que comprende una esponja tal como se da a conocer aquí y una solución tampón. Este *kit* y sus componentes están concebidos en particular para la producción de una esponja médica para el tratamiento de una herida.

Los especialistas en la técnica entenderán fácilmente que todas las realizaciones preferentes dadas a conocer más abajo son ejemplos de realizaciones específicas, pero no limitan necesariamente el concepto general de la invención. Además, todas las realizaciones especiales pueden ser aplicables a todos los aspectos y realizaciones de la invención en cualquier combinación, si no se excluyen mutuamente. Todos los equivalentes o alteraciones o modificaciones obvias reconocidas por los especialistas en la técnica están incluidos en la presente invención.

Descripción detallada de la invención

El objeto de la invención es una esponja hemostática compuesta porosa que consiste en una esponja hemostática compuesta porosa tal como se define en las reivindicaciones.

El término "impregnado" tal como se utiliza aquí incluye el concepto de "absorción polimérica en una matriz de biomaterial".

Los términos "esponja", "compresa" y "velo" se utilizan indistintamente en la descripción de la presente invención.

Preferentemente, el biomaterial es colágeno, una proteína, un biopolímero o un polisacárido. Es especialmente preferente un biomaterial seleccionado de entre el grupo consistente en colágeno, gelatina (en especial gelatina reticulada), fibrina, un polisacárido (en especial quitosano, celulosa oxidada, dextranos activados con aldehído, polialdehídos basados en almidón (obtenibles por oxidación de peryodato)), un biomaterial biodegradable sintético (en especial ácido poliláctico o ácido poliglicólico) y derivados de los mismos, de forma particularmente preferente colágeno.

De acuerdo con la presente invención se proporciona un material compuesto poroso que incluye una matriz insoluble en agua de un biomaterial con propiedades hemostáticas y un agente reticulante polimérico hidrófilo asociado a la misma.

Al entrar en contacto con tejido sangrante, la reacción de reticulación del reticulante polimérico hidrófilo con las proteínas de la sangre conduce a la formación de un gel con propiedades sellantes y hemostáticas. También se produce una reticulación con las proteínas de la superficie del tejido y, dependiendo de la naturaleza del biomaterial de matriz insoluble en agua, además se puede producir una reticulación con el biomaterial de la matriz. Esta última reacción contribuye a una mejor adhesión del material compuesto a la superficie del tejido lesionado.

Además, para la eficacia hemostática del material compuesto de acuerdo con la presente invención es importante que la matriz del biomaterial tenga capacidad de impregnación, es decir, que pueda impregnarse con/absorber líquidos tales como sangre, suero, plasma.

Esta capacidad de impregnación depende particularmente de la naturaleza hidrófila del polímero del que está hecha la matriz, y de una estructura tridimensional de poros abiertos interconectados, o de una red tridimensional de fibras hidrófilas. El tamaño de poro y la elasticidad de la matriz también son importantes para la capacidad de impregnación. El término "elasticidad" significa que la matriz se puede comprimir en solución acuosa y que vuelve a su volumen inicial una vez eliminada la fuerza que provoca la compresión.

La esponja es una red porosa de un biomaterial fibroso capaz de absorber fluidos corporales cuando se aplica sobre una herida. Esto permite que la sangre de una herida (incluyendo todos los componentes sanguíneos, como células sanguíneas o proteínas de coagulación) entre en la esponja. Por tanto, la esponja porosa de acuerdo con la presente invención tiene un volumen interior que es accesible para fluidos externos, como sangre, cuando se aplica a un paciente. Por ejemplo, una esponja porosa de colágeno se puede producir liofilizando un gel, suspensión o solución de colágeno mediante criodesecación (mientras que un secado al aire normal conduce a una película de colágeno). En el caso del colágeno, la esponja porosa resultante de acuerdo con la presente invención tiene normalmente entre 5 y 100 mg de colágeno/cm³, mientras que las películas de colágeno tienen entre 650 y 800 mg de colágeno/cm³. Si fluidos externos, como sangre, entran en contacto con la esponja de acuerdo con la presente invención, el componente polimérico hidrófilo que comprende grupos reactivos puede reaccionar con los componentes de la sangre y/o con la superficie de la matriz del biomaterial, con lo que se reticularan los componentes, que se unen a los (dos o más) grupos reactivos. Además, la esponja normalmente es flexible y adecuada para ser aplicada sobre diversos tejidos y lugares con formas diferentes.

El colágeno utilizado para la presente invención puede proceder de cualquier material colágeno, incluyendo líquidos, pastosos, fibrosos o en polvo que se pueden procesar formando una matriz porosa, en especial una matriz porosa y fibrosa. La preparación de un gel de colágeno para la producción de una esponja se describe, por ejemplo, en el documento EP 0891193 y puede incluir una acidificación hasta que se produce la formación de gel y una neutralización subsiguiente del pH. Con el fin de mejorar la capacidad de formación de gel o la solubilidad, el colágeno se puede hidrolizar (parcialmente) o modificar, siempre que no se menoscabe la propiedad de formar una esponja estable después del secado.

Preferentemente, el colágeno o la gelatina de la matriz de la esponja son de origen animal, preferiblemente bovino o equino. No obstante, en caso de una hipersensibilidad del paciente frente a proteínas xenógenas, también se podría utilizar colágeno humano. Además se puede utilizar colágeno sintético o recombinante. Los demás componentes de la esponja son preferiblemente de origen humano, lo que hace que la esponja sea especialmente adecuada para la aplicación a seres humanos.

En una realización preferente, la esponja porosa de colágeno contiene entre aproximadamente 5 y aproximadamente 50, por ejemplo entre aproximadamente 10 y aproximadamente 30, de forma preferente aproximadamente 25 mg de colágeno/cm³ de esponja seca.

El biomaterial puede estar o no reticulado. Preferentemente, el biomaterial ha sido reticulado.

El componente polimérico hidrófilo de la esponja de acuerdo con la presente invención es un reticulante hidrófilo que puede reaccionar con sus grupos reactivos electrófilos una vez que la esponja es aplicada a un paciente (por ejemplo en una herida del paciente o en otro lugar donde el paciente requiera una actividad hemostática). Por tanto, para la presente invención es importante que los grupos reactivos electrófilos del componente polimérico sean reactivos cuando se aplican al paciente. Por ello es necesario fabricar la esponja de acuerdo con la presente invención de modo que, durante el proceso de fabricación, se conserven los grupos reactivos del componente polimérico que deben reaccionar una vez aplicados a una herida.

Esto puede hacerse de diferentes modos. Por ejemplo, algunos componentes poliméricos hidrófilos usuales pueden tener grupos reactivos susceptibles a la hidrólisis después de entrar en contacto con el agua. Por consiguiente, es necesario evitar el contacto prematuro con agua o con líquidos acuosos antes de la administración de la esponja al paciente, en especial durante la fabricación. No obstante, el procesamiento del componente polimérico hidrófilo durante la fabricación también puede ser posible en un medio acuoso en condiciones donde las reacciones de los grupos reactivos están inhibidas (por ejemplo, a pH bajo). Si los componentes poliméricos hidrófilos se pueden fundir, los componentes poliméricos hidrófilos fundidos se pueden pulverizar o imprimir sobre la matriz del biopolímero. También es posible rociar una forma seca (por ejemplo un polvo) del componente polimérico hidrófilo sobre la matriz. En caso necesario, después se puede aplicar un aumento de la temperatura para fundir el componente polimérico hidrófilo rociado en la matriz con el fin de obtener un revestimiento permanente para la esponja. Alternativamente, estos componentes poliméricos hidrófilos se pueden recoger en disolventes orgánicos inertes (inertes en relación con los grupos reactivos de los componentes poliméricos hidrófilos) y disponer sobre la matriz del biomaterial. Ejemplos de estos disolventes orgánicos son etanol seco, acetona seca o diclorometano seco (que son inertes, por ejemplo, en relación con los componentes poliméricos hidrófilos, como PEG sustituidos por éster de NHS).

En una realización preferente, el componente polimérico hidrófilo es un componente polimérico hidrófilo simple y es un polímero de óxido de polialquileño, de forma especialmente preferente un polímero que contiene PEG, en adelante llamado "el material". Los grupos reactivos de dicho material son grupos electrófilos.

El material puede ser un polímero de óxido de polialquileño multielectrófilo, por ejemplo un PEG multielectrófilo. El material puede incluir dos o más grupos electrófilos, como -CON(COCH₂)₂, -CHO, -N=C=O, y/o -N(COCH₂)₂, por ejemplo un componente tal como se describe en el documento WO2008/016983 (incorporado aquí en su totalidad por referencia) y uno de los componentes comerciales de la marca registrada CoSeal®.

Grupos electrófilos preferentes del reticulante polimérico hidrófilo de acuerdo con la presente invención son grupos reactivos con los grupos amino, carboxi, tiol e hidroxil de proteínas, o mezclas de los mismos.

- 5 Grupos reactivos específicos de grupos amino son grupos éster de NHS, grupos imidoéster, grupos aldehído, grupos carboxi en presencia de carbodiimidas, isocianatos o THPP (ácido beta-[tris(hidroximetil)fosfina]propiónico). Es especialmente preferente el pentaeritritolpoli(etilenglicol)éter tetrasuccinimidil glutarato (= pentaeritritol tetraquis[1-1'-oxo-5'-succinimidilpentanoato-2-poli-oxoetilenglicol]éter (= a NHS-PEG con peso molecular 10.000).

Grupos reactivos específicos de grupos carboxi son grupos amino en presencia de carbodiimidas.

Grupos reactivos específicos de grupos tiol son maleimidas y haloacetilos.

- 10 Un grupo reactivo específico de grupos hidroxil es el grupo isocianato. Los grupos reactivos electrófilos del reticulante hidrófilo pueden ser idénticos (homofuncionales) o diferentes (heterofuncionales). El componente polimérico hidrófilo puede tener dos grupos reactivos (homobifuncionales o heterobifuncionales) o más (homo/heterotrifuncionales o más).

En realizaciones especiales, el material es un polímero sintético que preferentemente comprende PEG. El polímero puede ser un derivado de PEG que comprende grupos laterales activos adecuados para la reticulación y adherencia a un tejido.

- 15 Gracias a los grupos reactivos electrófilos, el polímero hidrófilo tiene la capacidad de reticular proteínas sanguíneas y también proteínas de la superficie del tejido. También es posible la reticulación del biomaterial.

El óxido de polialquileno multielectrófilo puede incluir dos o más grupos succinimidilo. El óxido de polialquileno multielectrófilo puede incluir dos o más grupos maleimida.

Preferentemente, el óxido de polialquileno multielectrófilo es un polietilenglicol o un derivado del mismo.

- 20 En una realización particularmente preferente, el componente polimérico es pentaeritritolpoli(etilenglicol)éter tetrasuccinimidil glutarato (=COH102, también pentaeritritol tetraquis[1-1'-oxo-5'-succinimidilpentanoato-2-poli-oxoetilenglicol] éter).

En una realización preferente, la esponja de la presente invención comprende colágeno como biomaterial y el componente polimérico, por ejemplo COH102, está aplicado sobre la superficie del colágeno (= forma revestida).

- 25 De forma especialmente preferente, el revestimiento es un revestimiento discontinuo, por ejemplo tal como muestra la Fig. 6.

En otra realización preferente, el revestimiento es un revestimiento delgado continuo, tal como se obtiene, por ejemplo, pulverizando el componente polimérico de la masa fundida sobre la matriz de biomaterial. Un revestimiento de este tipo es comparable con una estructura de tipo película o cristal, por ejemplo tal como muestra la Fig. 7.

- 30 En otra realización preferente, la esponja de la presente invención comprende colágeno como biomaterial y el componente polimérico, por ejemplo COH102, está impregnado en el colágeno (= forma impregnada).

El peso molecular del componente polimérico oscila preferentemente entre 500 y 50.000, de forma especialmente preferente es de aproximadamente 10.000.

- 35 La cantidad de revestimiento de componente polimérico sobre la esponja de dicho biomaterial oscila entre aproximadamente 1 mg/cm² y aproximadamente 20 mg/cm², de forma especialmente preferente entre aproximadamente 2 mg/cm² y aproximadamente 14 mg/cm² en el caso de la esponja revestida. La concentración de componente polimérico oscila preferentemente entre aproximadamente 5 mg/cm³ y aproximadamente 100 mg/cm³, de forma especialmente preferente entre aproximadamente 10 mg/cm³ y aproximadamente 70 mg/cm³ en el caso de una esponja impregnada.

- 40 En otra realización preferente, la esponja de la presente invención comprende una combinación de formas impregnadas y revestidas. Además, la esponja de acuerdo con la presente invención mantiene la reactividad de los grupos reactivos del componente polimérico hidrófilo que comprende grupos reactivos al estar seca, por ejemplo con un contenido total en agua inferior al 10%, en especial inferior al 2% y en especial inferior al 1% en caso de que el componente polimérico tenga grupos reactivos hidrolizables, por ejemplo NHS-PEG. Contenidos mayores en agua (por ejemplo superiores al 10%) también resultarían en una esponja funcional, pero la estabilidad de almacenamiento sería peor. Por consiguiente, contenidos en agua por debajo del 2% (p/p) son preferentes, por debajo del 1% son incluso más preferentes; por debajo del 0,5% son particularmente preferentes.

En otra realización preferente está presente una capa adicional de otro biomaterial. La capa adicional puede ser del mismo biomaterial que la matriz o puede ser de un biomaterial diferente, por ejemplo la matriz de biomaterial es de

colágeno y la capa adicional es de celulosa oxidada. También pueden estar incluidas todas las combinaciones de los biomateriales arriba mencionados.

- La esponja en conjunto puede ser biodegradable, siendo adecuada para la descomposición *in vivo*, o biorreabsorbible, es decir, capaz de ser reabsorbida *in vivo*, por ejemplo mediante la degradación de proteasas presentes *in vivo* y grupos que son hidrolizables *in vivo*. El concepto "reabsorción completa" significa que no queda ningún fragmento extracelular significativo. Un material biodegradable se diferencia de un material no biodegradable en que el material biodegradable se puede descomponer biológicamente en unidades que pueden ser eliminadas del sistema biológico y/o incorporadas químicamente al sistema biológico. En una realización preferente, el material particular, el material de matriz o la esponja en conjunto pueden ser degradados por un sujeto, en particular un sujeto humano, en menos de 6 meses, menos de 3 meses, menos de 1 mes o menos de 2 semanas.

Una esponja de la presente invención puede contener además un colorante, por ejemplo riboflavina, u otro colorante biocompatible conocido en el estado de la técnica. El colorante se puede incluir, por ejemplo, como capa adicional (revestimiento) y en especial puede ayudar al cirujano a identificar cuál de las superficies de una esponja revestida de la presente invención es la superficie activa o inactiva, respectivamente.

- Preferentemente, la esponja de la presente invención tiene un espesor total inferior a 3 cm, preferentemente entre aproximadamente 1 mm y aproximadamente 3 cm, de forma especialmente preferente entre aproximadamente 1 mm y aproximadamente 2 cm, de forma totalmente preferente entre aproximadamente 1 mm y aproximadamente 2 mm.

En una esponja de la presente invención, preferentemente el espesor del revestimiento oscila entre aproximadamente 0,01 mm y aproximadamente 1 mm.

- La esponja de la presente invención se utiliza preferentemente en cirugía mínimamente invasiva, por ejemplo para aplicación laparoscópica.

La esponja de puede secar y, después del secado, la esponja puede tener un contenido en agua de al menos 0,5 (los porcentajes se indican aquí en p/p). En determinadas realizaciones, la esponja se puede liofilizar o secar al aire.

- La presente invención también proporciona una cobertura de heridas que incluye una esponja de acuerdo con la invención. La esponja y todas las capas adicionales se pueden suministrar en forma de una cobertura de heridas lista para el uso de dimensiones adecuadas. La esponja y/o la cobertura pueden consistir en una compresa o una lámina, preferentemente con un espesor de al menos 1 mm o al menos 2 mm, o al menos 5 mm y/o hasta 20 mm, dependiendo de la indicación. Cuando la esponja flexible relativamente gruesa se aplica a una herida, es importante que la sangre y el fibrinógeno puedan ser absorbidos por toda la esponja antes de que se forme fibrina, que podría actuar como una barrera para la absorción de más secreción de la herida.

Otro aspecto de la invención se refiere a un método para producir una esponja hemostática porosa (= proceso I), que comprende

- proporcionar una esponja porosa que comprende una matriz de un biomaterial en forma seca,
- proporcionar un componente polimérico hidrófilo simple que comprende grupos reactivos electrófilos en forma de polvo seco, donde dicho material polimérico simple es un reticulante hidrófilo,
- poner en contacto a) y b) de modo que el material b) esté presente al menos en una superficie de dicha esponja, y
- fijar el material de b) sobre la esponja de a).

- La fijación se puede conseguir fundiendo el componente polimérico sobre la esponja en un horno precalentado, por ejemplo a temperaturas entre 30°C y 80°C, preferentemente entre 60°C y 65°C, durante un período de tiempo suficiente para la fijación, por ejemplo, entre 1 minuto y 10 minutos, preferentemente durante aproximadamente 4 minutos.

Alternativamente, la fijación se puede lograr mediante una lámpara de rayos infrarrojos y otra fuente de calor. La distancia entre la compresa y el calentador, la intensidad del calentador y el tiempo de exposición a la irradiación infrarroja se ajustan para lograr la fusión del revestimiento con un mínimo de exposición al calor.

- Otro aspecto de la invención se refiere a un método para fabricar una esponja hemostática (= proceso II), que comprende

- proporcionar una esponja porosa que comprende una matriz de un biomaterial en forma seca,
- proporcionar un componente polimérico hidrófilo simple que comprende grupos reactivos electrófilos en forma de solución, donde dicho material polimérico reactivo simple es un reticulante hidrófilo,
- poner en contacto a) y b) de modo que el material de a) se impregne con b), y
- secar el material obtenido en el paso c).

El contacto para lograr la impregnación se puede llevar a cabo disponiendo la solución polimérica sobre la esponja y dejando que la solución empape dicha esponja durante un tiempo suficiente para la absorción, por ejemplo entre aproximadamente 2 minutos y aproximadamente 2 horas, preferentemente 30 minutos.

El secado puede incluir liofilización o secado al aire y comprende eliminar los componentes volátiles del fluido.

- 5 En otro aspecto, la presente invención proporciona una esponja hemostática obtenible mediante un método de fabricación de acuerdo con el proceso (I) o (II).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso de una esponja de la presente invención para el tratamiento de una lesión seleccionada de entre el grupo consistente en una herida, una hemorragia, tejido dañado y/o tejido sangrante. Preferentemente, la esponja de la presente invención se utiliza para sellar tejidos, por ejemplo pulmón, bazo e hígado, y para la hemostasia.

10

El material compuesto de la presente invención también puede utilizarse como un sellante de tejido listo para el uso dondequiera que la concentración proteínica de los fluidos corporales sea lo suficientemente alta como para posibilitar la formación de un gel sellante tal como se describe más arriba.

15

La esponja de la presente invención está especialmente indicada en procedimientos quirúrgicos abiertos y endoscópicos/laparoscópicos/ torascópicos/MIS (cirugía mínimamente invasiva) como un complemento para la hemostasia, para tratar hemorragias quirúrgicas, desde un sangrado lento hasta una hemorragia activa, cuando el control de la hemorragia por ligadura o los procedimientos convencionales son ineficaces o poco prácticos.

20

En una realización preferente, la esponja de la presente invención se aplica junto con una solución tampón, por ejemplo una solución tampón alcalina, como una solución de bicarbonato, tal como NaHCO_3 al 8,4%, pH 8,3, por ejemplo en una gasa.

25

Se ha comprobado que la velocidad de reacción aumenta después de la aplicación de una gasa impregnada con una solución de NaHCO_3 al 8,4% en comparación con una gasa impregnada con una solución salina. Esto se constató mediante una mayor adherencia de la esponja con el tejido después de 2 minutos en el caso de la aplicación de NaHCO_3 .

30

La presente invención proporciona además un *kit* que comprende una esponja de la presente invención y una solución tampón, por ejemplo una solución tampón alcalina, como un bicarbonato o carbonato, junto con sus instrucciones de uso. La solución tampón alcalina tiene preferentemente un pH de aproximadamente 8, tal como 8,3.

35

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un material hemostático compuesto que comprende un material hemostático insoluble en agua (matriz) y un reticulante polimérico hidrófilo con grupos reactivos electrófilos, incluyendo dicho material compuesto poros que permiten que fluidos externos, en especial sangre humana, accedan al interior del mismo. El material hemostático puede ser cualquier material arriba mencionado como "matriz de un biomaterial" que ya tiene por sí mismo ciertas propiedades hemostáticas. En principio, en el estado actual de la técnica se conocen materiales de este tipo, así como sus propiedades hemostáticas. El material compuesto de acuerdo con la presente invención tiene poros que permiten que fluidos externos accedan a la parte interior del mismo, de modo que si se aplica por ejemplo a una herida, la sangre de esta herida puede penetrar en el material compuesto. El material compuesto se puede impregnar a través de estos poros. Algunos ejemplos importantes en la práctica incluyen telas tejidas o no tejidas de una fibra hemostática. Preferentemente, este material hemostático es una tela de celulosa regenerada oxidada. Específicamente es preferible que la esponja de colágeno sea esencialmente de colágeno nativo (es decir, la estructura de fibra de colágeno nativo se conserva en gran medida o se regenera mediante fibrillogénesis durante el procesamiento).

40

45

La reactividad del reticulante polimérico hidrófilo se conserva en el material compuesto de acuerdo con la presente invención. Esto significa que los grupos reactivos del reticulante todavía no han reaccionado con (la superficie de) el material hemostático y no han sido hidrolizados con agua. Esto se puede lograr combinando el material hemostático con el reticulante de modo que no se produzca ninguna reacción de los grupos reactivos del reticulante con el material hemostático o con agua, por ejemplo tal como se describe aquí mediante fusión, pulverización, impregnación bajo condiciones inertes, etc. Normalmente, esto incluye la supresión de condiciones acuosas (o la humectación), en especial la humectación sin la presencia de condiciones ácidas (si los reticulantes no son reactivos bajo condiciones ácidas). Esto posibilita la provisión de materiales hemostáticos reactivos. Preferentemente, el material compuesto de acuerdo con la presente invención contiene un polietilenglicol (PEG) como reticulante polimérico hidrófilo con grupos reactivos, en especial un PEG que incluye dos o más, preferentemente 4, grupos reactivos seleccionados de entre ésteres de succinimidilo ($-\text{CON}(\text{COCH}_2)_2$), aldehídos ($-\text{CHO}$) e isocianatos ($-\text{N}=\text{C}=\text{O}$), de forma especialmente preferente ésteres de succinimidilo, como el componente COH102 tal como se define más abajo Coseal.

50

En una realización preferente, el material de matriz que forma la red porosa de la esponja constituye entre el 1 y el 50%, entre el 1 y el 10% o aproximadamente el 3% de la esponja porosa seca (% p/p).

En general, la matriz de un biomaterial, en especial el colágeno, de acuerdo con la presente invención no es soluble, en particular no es soluble en agua. No obstante, dado que la esponja es porosa y/o higroscópica, se puede hinchar cuando se junta con fluidos acuosos, en especial sangre, suero, plasma, etc. u otros fluidos presentes en heridas, y absorbe estos fluidos.

- 5 La esponja hemostática de acuerdo con la presente invención es absorbente de fluidos. El concepto "absorbente de fluidos" se ha de considerar como el proceso físico de retención de fluidos al entrar en contacto con ellos, que pueden provocar o no el hinchamiento de la esponja. Preferentemente, la esponja puede retener una cantidad de un fluido, en particular sangre, de al menos 1 vez, al menos 2 veces, al menos 4 veces, o al menos 10 veces y/o hasta 100 veces, hasta 20 veces o hasta 10 veces el peso seco de la esponja. El material de la esponja de acuerdo con la presente
10 invención puede absorber fluidos incluso bajo presión.

El material de la esponja porosa de acuerdo con la presente invención tiene preferentemente un tamaño de poro de 5 a 500 μm , preferentemente de 10 a 200 μm . Este tamaño de poro se puede ajustar apropiadamente durante la producción del biomaterial de la esponja, en especial dirigiendo de forma adecuada un proceso de secado durante dicha producción.

- 15 La esponja de acuerdo con la presente invención se suministra preferentemente en una forma "lista para el uso", de modo que se puede aplicar directamente a un paciente que la requiera, por ejemplo en una herida de este paciente (tras lo cual comienza la reticulación). Por consiguiente, la esponja de acuerdo con la invención se envasa en un envase estéril que la protege de la contaminación (por ejemplo por humedad o microorganismos) durante el almacenamiento. Antes de su uso, el envase se puede abrir (preferentemente también bajo condiciones estériles) y la esponja se puede
20 aplicar directamente al paciente ("lista para el uso").

- Tal como ya se ha mencionado, el componente polimérico hidrófilo es un reticulante hidrófilo. De acuerdo con una realización preferente, el reticulante tiene más de dos grupos reactivos electrófilos para la reticulación ("brazos"), por ejemplo tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o más brazos con grupos reactivos para la reticulación. Por ejemplo, el NHS-PEG-NHS es un reticulante hidrófilo eficaz de acuerdo con la presente invención. Sin embargo, para algunas
25 realizaciones puede ser preferible un polímero de 4 brazos (por ejemplo p-NP-PEG de 4 brazos). Con el mismo fundamento, un polímero de 8 brazos (por ejemplo NHS-PEG de 8 brazos) puede ser incluso más preferible para aquellas realizaciones donde resulte beneficiosa una reticulación multirreactiva. Además, el reticulante hidrófilo de acuerdo con la presente invención es un polímero, es decir, una molécula grande (macromolécula) compuesta por unidades estructurales repetitivas que normalmente están unidas por enlaces químicos covalentes. Los polímeros de
30 acuerdo con la presente invención deberían tener un peso molecular de al menos 1.000 Da (para que sirvan adecuadamente como reticulantes para la esponja de acuerdo con la presente invención). Preferentemente, los polímeros reticulantes de acuerdo con la presente invención tienen un peso molecular de al menos 5.000 Da, en especial de al menos 8.000 Da.

- En el caso de algunos reticulantes hidrófilos, la presencia de condiciones de reacción básicas (por ejemplo en el lugar de administración) es preferible o necesaria para el rendimiento funcional (por ejemplo para una reacción de reticulación más rápida en el lugar de administración). Por ejemplo, adicionalmente se pueden suministrar iones carbonato o bicarbonato (por ejemplo como un tampón con un pH 7,6 o superior, preferentemente 8,0 o superior, en especial 8,3 y superior) en el sitio de administración (por ejemplo en forma de una solución tampón o como una tela o compresa impregnada con un tampón de este tipo), para lograr un mayor rendimiento de la esponja de acuerdo con la presente
40 invención o para posibilitar un uso eficiente como material hemostático y/o adherente a las heridas.

Descripción de las figuras

- Figura 1:** Eficiencia hemostática de una compresa de colágeno revestida con NHS-PEG. Se produce una compresa hemostática de acuerdo con el ejemplo 2 y se reviste con 14 mg/cm^2 de COH102 (tal como se define más abajo). La eficiencia hemostática se evalúa de acuerdo con el animal tal como se describe más abajo. La hemorragia se
45 detiene 2 minutos después de la aplicación de la compresa. No se observan nuevas hemorragias.

Figura 2: Eficiencia hemostática de una compresa de colágeno revestida con NHS-PEG. Se produce una compresa hemostática de acuerdo con el ejemplo 3 y se impregna con 8 mg/cm^2 de COH102. La eficiencia hemostática se evalúa de acuerdo con el animal tal como se describe más abajo. La hemorragia se detiene 2 minutos después de la aplicación de la compresa. No se observan nuevas hemorragias.

- 50 **Figura 3:** Eficiencia hemostática de una compresa de colágeno que incluye tela de celulosa oxidada revestida con NHS-PEG. Se produce una compresa hemostática de acuerdo con el ejemplo 5 y se reviste con 14 mg/cm^2 de COH102. La eficiencia hemostática se evalúa de acuerdo con el animal tal como se describe más abajo. La hemorragia se detiene 2 minutos después de la aplicación de la compresa. No se observan nuevas hemorragias.

- 55 **Figura 4:** Eficiencia hemostática de una tela de celulosa oxidada revestida con NHS-PEG. Se produce una compresa hemostática de acuerdo con el ejemplo 6 y se reviste con 14 mg/cm^2 de COH102. La eficiencia hemostática

se evalúa de acuerdo con el animal tal como se describe más abajo. La hemorragia se detiene 2 minutos después de la aplicación de la compresa. No se observan nuevas hemorragias.

Figura 5: Eficiencia hemostática de una compresa de colágeno que incluye fucoidan, como sustancia reforzadora de la hemostasia, revestida con NHS-PEG. Se produce una compresa hemostática de acuerdo con el ejemplo 7 y se reviste con 14 mg/cm² de COH102. La eficiencia hemostática se evalúa de acuerdo con el animal tal como se describe más abajo. La hemorragia se detiene 2 minutos después de la aplicación de la compresa. No se observan nuevas hemorragias.

Figura 6: Imagen de microscopía de barrido electrónico (aumento: x500) de la superficie de una esponja de colágeno con revestimiento discontinuo.

Figura 7: Imagen de microscopía de barrido electrónico (aumento: x500) de la superficie de una esponja de colágeno con revestimiento continuo.

Figura 8: Gelfoam revestido con 14 mg/cm² de COH102 en el modelo de abrasión de lóbulo hepático.

Figura 9: Chitoskin revestido con 14 mg/cm² de COH102 en el modelo de abrasión de lóbulo hepático.

La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos, sin limitarse a los mismos.

En las siguientes secciones se utilizan las siguientes abreviaturas:

TCA	tiempo de coagulación activada
AcOH	ácido acético
NaOAc	acetato de sodio
ac.	acuoso
COH102	pentaeritritolpoli(etilenglicol)éter tetrasuccinimidil glutarato = pentaeritritol tetraquis[1-1'-oxo-5'-succinimidilpentanoato-2-poli-oxoetilenglicol]éter (= un NHS-PEG con peso molecular 10.000)
EtOH	etanol
PEG	polietilenglicol
PET	tereftalato de polietileno
min	minutos
NHS-PEG-NHS	α-[6-[(2,5-dioxo-1-pirrolidinil)oxi]-6-oxohexil]-ω-[6-[(2,5-dioxo-1-pirrolidinil)oxi]-6-oxohexiloxi]polioxi-etileno
NHS-PEG de 8 brazos	hexaglicerol octa(succinimidiloxiglutaril)polioxi-etileno
p-NP-PEG de 4 brazos	pentaeritritoltetra(4-nitrofenoxicarbonil) polioxi-etileno
CHO-PEG-CHO	aldehído-polietilenglicol homobifuncional
epoxi-PEG-epoxi	epoxi-polietilenglicol homobifuncional
epoxi-PEG de 4 brazos	epoxi-polietilenglicol homomultifuncional
ISC-PEG-ISC	isocianato-polietilenglicol homobifuncional
AA-dextrano	dextrano activado con aldehído
DSS	suberato de disuccinimidilo
EGS	éster N-hidroxisuccinimida de ácido etilenglicol-bis(succínico)

Ejemplos

Modelo de hemostasia animal para analizar la eficacia de compresas hemostáticas de la presente invención (modelo de abrasión superficial hepática)

La eficacia de las compresas hemostáticas de la presente invención se analiza en un modelo de abrasión superficial del hígado en cerdos heparinizados (2 x TCA). Con una herramienta de abrasión giratoria redonda y plana se crea una herida sangrante circular (1,8 cm de diámetro) sobre la superficie del hígado. Sobre la herida sangrante se aplica una compresa de la presente invención (tamaño 3 x 3 cm) en su estado seco y se mantiene sujeta ejerciendo una ligera presión con una gasa humedecida con solución salina durante 2 minutos. Después se evalúa la eficacia para detener la hemorragia.

Ejemplo 1: Preparación de una suspensión de colágeno bovino

50 g de corion bovino rebanado se dispersan en 500 ml de una solución de NaOH y la dispersión se agita durante aproximadamente 90 minutos a 25°C. El corion se retira por tamizado y se lava con H₂O destilada hasta que el H₂O efluente alcanza un pH de aproximadamente 8,0. Las rebanadas de corion lavadas se resuspenden en H₂O y el pH se ajusta con HCl a aproximadamente 2,0. La suspensión obtenida se agita durante una noche a aproximadamente 25°C y se obtiene una solución de colágeno. La solución obtenida se enfría a 5°C y el pH se ajusta con NaOH a un valor

- neutro. La precipitación del colágeno se lleva a cabo durante una noche manteniendo la solución a 18°C sin agitación. El colágeno precipitado obtenido se separa por filtración. La concentración de colágeno del material obtenido se determina por gravimetría. Opcionalmente se puede llevar a cabo una reticulación química con glutaraldehído preparando una suspensión acuosa de colágeno al 1% y añadiendo 5.000 ppm de glutaraldehído a 12°C. La suspensión obtenida se agita durante una noche. El colágeno reticulado obtenido se filtra y se lava con H₂O. La concentración de colágeno del material obtenido se determina tal como se describe más arriba.

Ejemplo 2: Compresa de colágeno revestida con NHS-PEG

- Se distribuye homogéneamente polvo COH102 sobre una superficie de una esponja de colágeno comercial (Matritypt®, Dr. Suwelack Skin- and Healthcare, Alemania, grosor 1 mm o 2 mm). Para el revestimiento se utiliza COH102 en cantidades de 2 mg/cm², 7 mg/cm², 10 mg/cm², 14 mg/cm², 20 mg/cm². El polvo de COH102 se fija sobre la superficie de la esponja por fusión. La fusión se lleva a cabo a una temperatura de 60°C a 65°C durante 4 minutos, disponiendo la esponja con la mezcla de polvo de PEG en un horno precalentado.

La esponja seca obtenida se sella junto con un sobre de desecante en una bolsa impermeable a los gases y se esteriliza por irradiación γ a 25 kGray.

- Ejemplo 3: Compresa de colágeno impregnada con NHS-PEG**

- Se preparan soluciones ácidas acuosas (pH 3,0, AcOH) de COH102 con concentraciones de 10 mg/cm³, 20 mg/cm³, 30 mg/cm³ y 40 mg/cm³ y se cargan en bandejas de PET de 9 x 7 cm. Se disponen de colágeno bovino comerciales (Matritypt®), 9 x 7 x 0,1 o 0,2 cm, con el mismo volumen que la solución de COH102 previamente cargada sobre las soluciones para su impregnación durante 20 minutos. La solución de COH102 es absorbida y el material colágeno obtenido se liofiliza. Las esponjas obtenidas se pueden revestir adicionalmente con COH102 tal como se describe en el ejemplo 2.

Después de la liofilización y/o el revestimiento, cada esponja seca obtenida se sella junto con un sobre que contiene desecante en una bolsa impermeable a los gases y se esteriliza por irradiación γ a 25 kGray.

Ejemplo 4: Compresa de colágeno que contiene polvo de celulosa oxidada revestida con NHS-PEG

- 0,5 g o 1 g de polvo Traumastem® P (Bioster, República Checa) se distribuye de forma homogénea en 22 ml de suspensión acuosa de colágeno neutra (2,15 mg/ml; 4,3 mg/ml y 10 mg/ml) producida de acuerdo con el ejemplo 1. La mezcla obtenida se carga en bandejas de PET planas de 9 x 7 cm y se liofiliza. El velo obtenido tiene un grosor de aproximadamente 3-4 mm y está revestido con COH102 tal como se describe en el ejemplo 2.

- Después del revestimiento, cada esponja seca obtenida se sella junto con un sobre que contiene desecante en una bolsa impermeable a los gases y se esteriliza por irradiación γ a 25 kGray.

Ejemplo 5: Compresa de colágeno que contiene tela de celulosa oxidada revestida con NHS-PEG

- Una tela ligera de 6 x 5 cm de Traumastem® TAF (Bioster, República Checa) se sumerge en una suspensión de colágeno bovino al 1% tal como se describe en el ejemplo 1. La tela de celulosa oxidada de 6 x 5 cm retiene aproximadamente 6 g de la suspensión de colágeno. Se obtiene una tela impregnada con la suspensión de colágeno, que se deposita en una bandeja y se liofiliza. El velo obtenido tiene un espesor de 3-4 mm y se reviste con COH102 tal como se describe en el ejemplo 2.

Después del revestimiento, cada esponja obtenida se sella junto con un sobre que contiene desecante en una bolsa impermeable a los gases y se esteriliza por irradiación γ a 25 kGray.

Ejemplo 6: Tela de celulosa oxidada revestida con NHS-PEG

- Una capa doble de velo Traumastem® P (Bioster, República Checa) se reviste con 14 mg/cm² de COH102 tal como se describe en el ejemplo 2. La compresa obtenida tiene un espesor de aproximadamente 1-2 mm.

Ejemplo 7: Compresa de colágeno que contiene fucoidan como sustancia reforzadora de la hemostasia revestida con NHS-PEG

- Una esponja de colágeno bovino Matritypt® (9 x 7 x 0,2 cm) se impregna con el mismo volumen de una solución de Fucoidan de A. nodosum (10 mM y 200 mM en solución de Ca²⁺ 40 mM) y se liofiliza. La esponja obtenida se reviste con COH102 tal como se describe en el ejemplo 2.

Ejemplo 8: Compresa de colágeno que contiene trombina como sustancia reforzadora de la hemostasia revestida con NHS-PEG

Una esponja de colágeno bovino Matristypt® (9 x 7 x 0,2 cm) se impregna con el mismo volumen de una solución de trombina (500 IU/ml) y se liofiliza. La esponja obtenida se reviste con COH102 tal como se describe en el ejemplo 2.

5 Ejemplo 9: Eficacia de sellado de una compresa de colágeno revestida con NHS-PEG

Se produce una compresa hemostática revestida con 14 mg/cm² de COH102 de acuerdo con el ejemplo 2. En el pulmón de un cerdo se realiza una lesión de aproximadamente 1,5 a 2 cm de diámetro con un escalpelo. Sobre la herida se aplica una muestra de 3 x 3 cm de dicha compresa y se sujeta ejerciendo una ligera presión con ayuda de una gasa durante 2 minutos. La gasa se humedece previamente con una solución salina o de bicarbonato básica (pH 8,3).

10 Después de la aplicación, la compresa está firmemente adherida a la superficie del pulmón (véase la Figura 6). La velocidad a la que se obtiene la adherencia aumenta al utilizar una gasa humedecida con bicarbonato. Para controlar la estanqueidad al aire y la adherencia de la compresa con el tejido, el pecho se rellena con solución de Ringer después de 10 minutos. No se observa ninguna fuga de gas o desprendimiento de la compresa.

Ejemplo 10: Eficacia de sellado de una compresa de colágeno impregnada con NHS-PEG

15 Se produce una compresa hemostática impregnada con 40 mg/cm³ de COH102 de acuerdo con el ejemplo 3.

En el pulmón de un cerdo se realiza una lesión de aproximadamente 1,5 a 2 cm de diámetro con un escalpelo. Sobre la herida se aplica una muestra de 3 x 3 cm de dicha compresa y se sujeta ejerciendo una ligera presión con ayuda de una gasa durante 2 minutos. La gasa se humedece previamente con una solución salina de bicarbonato básica (pH 8,3).

20 Después de la aplicación, la compresa está firmemente adherida a la superficie del pulmón. La estanqueidad al aire y la adherencia de la compresa con el tejido se determinan tal como se describe en el ejemplo 9.

Ejemplo 11: Marcado con color de una superficie de la compresa

Una plantilla hecha con una placa de acero inoxidable (1 mm de grosor) con un patrón de agujeros se dispone sobre una cara de una esponja de colágeno de 1 o 2 mm de espesor (Matristypt®, Dr. Suwelack Skin- and Healthcare, Alemania). Los agujeros de la plantilla tienen un diámetro de 2 mm y están situados a una distancia de 1 cm entre sí en

25 los nodos de un retículo cuadrado vertical. Sobre los agujeros de la plantilla se pulveriza una solución acuosa de Erioglaucine al 0,5% (Fluka, Suiza) con un aerógrafo. Después se retira la plantilla y la lámina de colágeno con el patrón de puntos azules obtenida se seca en atmósfera ambiente, en un horno de vacío o en un desecador. El patrón de puntos en un lado tiene la función de distinguir la superficie activa y la superficie inactiva de una compresa revestida. El revestimiento se puede aplicar sobre la cara con puntos o sobre la cara sin puntos.

30 Ejemplo 12: Preparación de un velo de fibrina

Una solución de 2,5 mg/ml de fibrinógeno, Tris/HCl 10 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4 y un volumen igual de 55 IU de trombina/ml, CaCl₂ 10 mM se mezclan utilizando una mezcladora estática e inmediatamente se cargan en una bandeja con una altura de 0,7 cm. Se obtiene así un coágulo de fibrina en la bandeja. Mediante liofilización del coágulo se obtiene un velo de fibrina.

35 Ejemplo 13: Preparación de una compresa de colágeno revestida con NHS-PEG-NHS y análisis de la misma en un modelo animal

Sobre el lado no coloreado de una compresa de colágeno de 6 x 6 cm (producida tal como se describe en el ejemplo 11) se distribuyen homogéneamente 14 mg/cm² y 28 mg/cm² de NHS-PEG-NHS bifuncional (peso molecular 10.000, NOF Corporation, Japón) y se fijan por fusión. Esto se lleva a cabo a aproximadamente 70°C durante 4 minutos colocando la

40 esponja revestida con el polvo de PEG en un horno precalentado.

Las esponjas obtenidas se sellan junto con un sobre que contiene desecante en una bolsa impermeable a los gases.

El rendimiento hemostático de dichas compresas se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de hígado tal como se describe más arriba. Después de 2 minutos se logra la hemostasia. No se observa ninguna nueva hemorragia después de 10 minutos. La adherencia de la compresa sobre el tejido es suficiente.

45 Ejemplo 14: Preparación de una compresa de colágeno revestida con NHS-PEG de 8 brazos y análisis de la misma en un modelo animal

Sobre el lado no coloreado de una compresa de colágeno de 6 x 6 cm, producida tal como se describe en el ejemplo 11, se distribuyen homogéneamente 14 mg/cm² de NHS-PEG de 8 brazos (peso molecular 15.000, NOF Corporation, Japón) y se fijan por fusión. Esto se lleva a cabo a 65°C durante 4 minutos colocando la esponja con el polvo de PEG en

un horno precalentado. La esponja obtenida se sella junto con un sobre que contiene desecante en una bolsa impermeable a los gases.

- 5 El rendimiento hemostático de dicha compresa se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de hígado tal como se describe más arriba. Después de 2 minutos se logra la hemostasia. No se observa ninguna nueva hemorragia después de 10 minutos. La adherencia de la compresa sobre el tejido es suficiente.

Ejemplo 15a: Preparación de una compresa de colágeno revestida con p-NP-PEG de 4 brazos y análisis de la misma en un modelo animal

- 10 Sobre el lado no coloreado de una compresa de colágeno de 6 x 6 cm, producida tal como se describe en el ejemplo 11, se distribuyen homogéneamente 14 mg/cm² de p-NP-PEG de 4 brazos (peso molecular 10.000, NOF Corporation, Japón) y se fijan por fusión. Esto se lleva a cabo a 65°C durante 4 minutos colocando la esponja con el polvo de PEG en un horno precalentado.

La esponja obtenida se sella junto con un sobre que contiene desecante en una bolsa impermeable a los gases.

- 15 El rendimiento hemostático de dicha compresa se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de hígado tal como se describe más arriba. Después de 2 minutos se logra la hemostasia. No se observa ninguna nueva hemorragia después de 10 minutos. La adherencia de la compresa sobre el tejido no es suficiente.

Ejemplo 15b: Preparación de una compresa de colágeno revestida con p-NP-PEG de 4 brazos y análisis de la misma en un modelo animal

- 20 El rendimiento hemostático de la compresa preparada en el Ejemplo 15a se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de hígado tal como se describe más arriba, pero modificado de modo que la compresa se aplica con una gasa previamente humedecida con una solución básica de bicarbonato de Na al 8%. Después de 2 minutos se logra la hemostasia. No se observa ninguna nueva hemorragia después de 10 minutos. La adherencia de la compresa sobre el tejido es suficiente.

Ejemplo 16a: Preparación de una compresa de colágeno revestida con CHO-PEG-CHO y análisis de la misma en un modelo animal

- 25 Sobre el lado no coloreado de una compresa de colágeno de 6 x 6 cm, producida tal como se describe en el ejemplo 11, se distribuyen homogéneamente 9,5 mg/cm² de CHO-PEG-CHO (peso molecular 3.400, Interchim, Francia) y se fijan por fusión. Esto se lleva a cabo a 70°C durante 4 minutos colocando la esponja con el polvo de PEG en un horno precalentado.

La esponja obtenida se sella junto con un sobre que contiene desecante en una bolsa impermeable a los gases.

- 30 El rendimiento hemostático de dicha compresa se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de hígado tal como se describe más arriba. Después de 2 minutos se logra la hemostasia. No se observa ninguna nueva hemorragia después de 10 minutos. La adherencia de la compresa sobre el tejido es suficiente.

Ejemplo 16b: Preparación de una compresa de colágeno revestida con CHO-PEG-CHO y análisis de la misma en un modelo animal

- 35 El rendimiento hemostático de la compresa preparada en el Ejemplo 16a se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de hígado tal como se describe más arriba, pero modificado de modo que la compresa se aplica con una gasa previamente humedecida con una solución básica de bicarbonato de Na. Después de 2 minutos se logra la hemostasia. No se observa ninguna nueva hemorragia después de 10 minutos. La adherencia de la compresa sobre el tejido es suficiente.

- 40 **Ejemplo 17a: Preparación de una compresa de colágeno revestida con epoxi-PEG-epoxi y análisis de la misma en un modelo animal**

- 45 Sobre el lado no coloreado de una compresa de colágeno de 6 x 6 cm, producida tal como se describe en el ejemplo 11, se distribuyen homogéneamente 9,5 mg/cm² de epoxi-PEG-epoxi (peso molecular 3.400, Interchim, Francia) y se fijan por fusión. Esto se lleva a cabo a 70°C durante 4 minutos colocando la esponja con el polvo de PEG en un horno precalentado.

La esponja obtenida se sella junto con un sobre que contiene desecante en una bolsa impermeable a los gases.

El rendimiento hemostático de dicha compresa se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de hígado tal como se describe más arriba. Después de 2 minutos no se logra la hemostasia. La adherencia de la compresa sobre el tejido no es suficiente.

Ejemplo 17b: Preparación de una compresa de colágeno revestida con epoxi-PEG-epoxi y análisis de la misma en un modelo animal

- 5 El rendimiento hemostático de la compresa preparada en el Ejemplo 17a se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de hígado tal como se describe más arriba, pero modificado de tal modo que la compresa se aplica con una gasa previamente humedecida con una solución básica de bicarbonato de Na. Después de 2 minutos se logra la hemostasia. No se observa ninguna nueva hemorragia después de 5 minutos. La adherencia de la compresa sobre el tejido es suficiente.

Ejemplo 18: Preparación de una compresa de colágeno revestida con epoxi-PEG de 4 brazos y análisis de la misma en un modelo animal

- 10 Sobre el lado no coloreado de una compresa de colágeno de 6 x 6 cm, producida tal como se describe en el ejemplo 11, se distribuyen homogéneamente 14 mg/cm² de epoxi-PEG de 4 brazos (peso molecular 10.000, Interchim, Francia) y se fijan por fusión. Esto se lleva a cabo a 70°C durante 4 minutos colocando la esponja con el polvo de PEG en un horno precalentado.

La esponja obtenida se sella junto con un sobre que contiene desecante en una bolsa impermeable a los gases.

- 15 El rendimiento hemostático de dicha compresa se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de hígado tal como se describe más arriba, pero modificado de modo que la compresa se aplica con una gasa previamente humedecida con una solución básica de bicarbonato de Na. Después de 2 minutos se logra la hemostasia. No se observa ninguna nueva hemorragia después de 5 minutos. La adherencia de la compresa sobre el tejido es suficiente.

Ejemplo 19: Preparación de una compresa de colágeno revestida con ISC-PEG-ISC y análisis de la misma en un modelo animal

- 20 Sobre el lado no coloreado de una compresa de colágeno de 6 x 6 cm, producida tal como se describe en el ejemplo 11, se distribuyen homogéneamente 9,5 mg/cm² de ISC-PEG-ISC (peso molecular 3.400, Interchim, Francia) y se fijan por fusión. Esto se lleva a cabo a 70°C durante 4 minutos colocando la esponja con el polvo de PEG en un horno precalentado.

- 25 La esponja obtenida se sella junto con un sobre que contiene desecante en una bolsa impermeable a los gases.

El rendimiento hemostático de dicha compresa se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de hígado tal como se describe más arriba. Después de 2 minutos se logra la hemostasia. No se observa ninguna nueva hemorragia después de 10 minutos. La adherencia de la compresa sobre el tejido es suficiente.

Ejemplo 20: Preparación de una compresa de colágeno revestida con AA-dextrano y análisis de la misma en un modelo animal

- 30 Sobre el lado no coloreado de una compresa de colágeno de 6 x 6 cm, producida tal como se describe en el ejemplo 11, se distribuyen homogéneamente 14 mg/cm² de una mezcla de 0,1 mg/cm² de AA-dextrano (peso molecular 40.000, Pierce, EEUU) y 13,9 mg/cm² de PEG no sustituido (peso molecular 10.000, Sigma Aldrich, Alemania) y se fijan por fusión. Esto se lleva a cabo a 80°C durante 4 minutos colocando la esponja con la mezcla de polvo en un horno precalentado.

- 35 La esponja obtenida se sella junto con un sobre que contiene desecante en una bolsa impermeable a los gases.

- 40 El rendimiento hemostático de dicha compresa se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de lóbulo hepático tal como se describe más arriba, pero modificado de modo que la compresa se aplica con una gasa previamente humedecida con una solución básica de bicarbonato de Na. Después de 2 minutos se logra la hemostasia. No se observa ninguna nueva hemorragia después de 10 minutos. La adherencia de la compresa sobre el tejido es suficiente.

Ejemplo 21a: Preparación de una compresa de colágeno revestida con DSS y análisis de la misma en un modelo animal

- 45 Sobre el lado no coloreado de una compresa de colágeno de 6 x 6 cm, producida tal como se describe en el ejemplo 11, se distribuyen homogéneamente 20 mg/cm² de una mezcla 1:1 de DSS (peso molecular 368,35, Sigma Aldrich, Alemania) y PEG no sustituido (peso molecular 10.000, Sigma Aldrich, Alemania) y se fijan por fusión. Esto se lleva a cabo a 80°C durante 4 minutos colocando la esponja con la mezcla de polvo en un horno precalentado.

La esponja obtenida se sella junto con un sobre que contiene desecante en una bolsa impermeable a los gases.

El rendimiento hemostático de dicha compresa se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de lóbulo hepático tal como se describe más arriba. Después de 2 minutos no se logra la hemostasia. La adherencia de la compresa sobre el tejido no es suficiente.

Ejemplo 21b: Preparación de una compresa de colágeno revestida con DSS y análisis de la misma en un modelo animal

El rendimiento hemostático de la compresa preparada en el Ejemplo 21a se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de lóbulo hepático tal como se describe más arriba, pero modificado de modo que la compresa se aplica con una gasa previamente humedecida con una solución básica de bicarbonato. Después de 2 minutos se logra la hemostasia. No se observa ninguna nueva hemorragia después de 10 minutos. La adherencia de la compresa sobre el tejido es suficiente.

Ejemplo 22a: Preparación de una compresa de colágeno revestida con EGS y análisis de la misma en un modelo animal

Sobre el lado no coloreado de una compresa de colágeno de 6 x 6 cm, producida tal como se describe en el ejemplo 11, se distribuyen homogéneamente 26 mg/cm² de una mezcla 1:1 de EGS (peso molecular 456,36, Sigma Aldrich, Alemania) y PEG no sustituido (peso molecular 10.000, Sigma Aldrich, Alemania) y se fijan por fusión. Esto se lleva a cabo a 80°C durante 4 minutos colocando la esponja con la mezcla de polvo en un horno precalentado.

La esponja obtenida se sella junto con un sobre que contiene desecante en una bolsa impermeable a los gases.

El rendimiento hemostático de dicha compresa se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de lóbulo hepático tal como se describe más arriba. Después de 2 minutos no se logra la hemostasia. La adherencia de la compresa sobre el tejido no es suficiente.

Ejemplo 22b: Preparación de una compresa de colágeno revestida con EGS y análisis de la misma en un modelo animal

El rendimiento hemostático de la compresa preparada en el Ejemplo 22a se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de lóbulo hepático tal como se describe más arriba, pero modificado de modo que la compresa se aplica con una gasa previamente humedecida con una solución básica de bicarbonato de Na. Después de 2 minutos se logra la hemostasia. No se observa ninguna nueva hemorragia después de 10 minutos. La adherencia de la compresa sobre el tejido es suficiente.

Ejemplo 23: Velo de fibrina revestido con NHS-PEG

Sobre un lado del velo de fibrina producido tal como se describe en el ejemplo 12 se distribuyen homogéneamente 14 mg/cm² de COH102 y se fijan por fusión. Esto se lleva a cabo a 65°C durante 4 minutos colocando la esponja revestida con el polvo de PEG en un horno precalentado.

La esponja obtenida se sella junto con un sobre que contiene desecante en una bolsa impermeable a los gases.

El rendimiento hemostático de dicha compresa se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de hígado tal como se describe más arriba. Después de 2 minutos se logra la hemostasia. No se observa ninguna nueva hemorragia después de 10 minutos. La adherencia de la compresa sobre el tejido es suficiente.

Ejemplo 24: Correlación entre la fuerza de adherencia al tejido y el reticulante utilizado para el revestimiento de la compresa de colágeno

Después de aplicar las compresas sobre el tejido sangrante en el modelo de abrasión de hígado se evalúa la adherencia de la compresa sobre el tejido hepático. Con la parte lateral de un fórceps se aplica una ligera fuerza tangencial. Se considera que existe adherencia (unión al tejido) si no es posible desplazar la compresa del lugar de aplicación. Puntuación de adherencia: 1 = el desplazamiento no es posible 5 minutos después de la aplicación; 2 = el desplazamiento no es posible 10 minutos después de la aplicación; 3 = desplazamiento (sin adherencia) 10 minutos después de la aplicación.

Ej. nº	Reticulante	Puntuación de adherencia
13	NHS-PEG-NHS	1
14	NHS-PEG de 8 brazos	1
15a	NHS-PEG de 4 brazos	3
15b	NHS-PEG de 4 brazos aplicación básica	2
16a	CHO-PEG-CHO	1
16b	CHO-PEG-CHO - aplicación básica	2

Ej. nº	Reticulante	Puntuación de adherencia
17a	Epoxi-PEG-epoxi	3
17b	Epoxi-PEG-epoxi - aplicación básica	2
18	Epoxi-PEG de 4 brazos aplicación básica	2
19	ISC-PEG-ISC	1
20	AA-dextrano - aplicación básica	1
21a	DSS	3
21b	DSS - aplicación básica	2
22a	EGS	3
22b	EGS - aplicación básica	2

Ejemplo 25: Esponja de quitosano/gelatina revestida con NHS-PEG y análisis de la misma en un modelo animal

5 Sobre una esponja de quitosano/gelatina comercial (Chitoskin®, Beese Medical, Alemania) se distribuyen homogéneamente 14 mg/cm² de COH102 y se fijan por fusión. Esto se lleva a cabo a 65°C durante 4 minutos colocando la esponja con el polvo de PEG en un horno precalentado. La esponja obtenida se sella junto con un sobre que contiene desecante en una bolsa impermeable a los gases.

El rendimiento hemostático de dicha compresa se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de hígado tal como se describe más arriba. Después de 2 minutos se logra la hemostasia. No se observa ninguna nueva hemorragia después de 10 minutos (Figura 9). La adherencia de la compresa sobre el tejido es suficiente.

10 Ejemplo 26: Preparación de una compresa de gelatina revestida con NHS-PEG y análisis de la misma en un modelo animal

15 Sobre una esponja de gelatina comercial (Gelfoam®, Pfizer, EEUU) se distribuyen homogéneamente 14 mg/cm² de COH102 y se fijan por fusión. Esto se lleva a cabo a aproximadamente 70°C durante 4 minutos colocando las esponjas revestidas con el polvo de PEG en un horno precalentado. La esponja obtenida se sella junto con un sobre que contiene desecante en una bolsa impermeable a los gases.

El rendimiento hemostático de dichas compresas se analiza en cerdos mediante el modelo de abrasión de hígado tal como se describe más arriba. Después de 10 minutos no se logra la hemostasia debido a una falta de adherencia sobre el tejido y a una absorción lenta del líquido por la esponja.

Ejemplo 27: Velocidad de absorción de agua

20 Una pieza de 2 x 2 cm de una esponja de colágeno seca (Matristypt®, Dr. Suwelack, Alemania) o de una esponja de gelatina reticulada seca (Gelfoam®, Pfizer) se disponen sobre la superficie de H₂O destilada en un vaso de precipitados. Las esponjas secas flotan sobre la superficie del agua y absorben agua a través de la superficie de contacto de 2 x 2 cm. Después de 6 segundos, la esponja Matristypt® está totalmente impregnada con H₂O y se retira de la superficie del agua. La esponja Gelfoam®, más gruesa, no está totalmente impregnada con H₂O después de 13 segundos, pero se

25 retira de la superficie del agua después de 13 segundos. A partir de los pesos de las esponjas de 2 x 2 cm antes y después del contacto con la superficie del agua, del tiempo de contacto con la superficie del agua y del área de contacto con la superficie del agua se calculan las velocidades iniciales de absorción de agua de las esponjas (en mg de agua/s) por superficie de contacto (en cm²). Las velocidades iniciales de absorción de agua son de 35 mg x cm⁻¹s⁻¹ en el caso de la esponja Matristypt® y de 0,8 mg x cm⁻¹s⁻¹ en el caso de la esponja Gelfoam®.

REIVINDICACIONES

1. Esponja hemostática compuesta porosa que consiste esencialmente en
 - i) una matriz de un biomaterial y
 - ii) un componente polimérico hidrófilo simple que incluye grupos reactivos electrófilos, siendo dicho componente polimérico hidrófilo un reticulante hidrófilo,
- 5 estando i) y ii) asociados entre sí de modo que se conserva la reactividad del componente polimérico, donde el término "asociado" significa
 - que dicho componente polimérico está aplicado sobre una superficie de dicha matriz de biomaterial, o
 - que dicha matriz está impregnada con dicho material polimérico, o
 - ambas cosas.
- 10
2. Esponja según la reivindicación 1, caracterizada porque dicho biomaterial se selecciona de entre el grupo consistente en colágeno, gelatina, fibrina, un polisacárido, por ejemplo quitosano, un biomaterial biodegradable sintético, por ejemplo ácido poliláctico o ácido poliglicólico, y derivados de los mismos.
3. Esponja según la reivindicación 1 o 2, caracterizada porque el polímero hidrófilo es un polímero de óxido de polialquileno, de forma especialmente preferente un polímero que incluye PEG, por ejemplo un polímero de óxido de polialquileno multielectrófilo, por ejemplo un PEG multielectrófilo, como pentaeritritolpoli(etilenglicol)éter tetrasuccinimidil glutarato.
- 15
4. Esponja según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada porque el biomaterial es colágeno y el componente polimérico es pentaeritritolpoli(etilenglicol)éter tetrasuccinimidil glutarato, estando la forma polimérica revestida sobre el colágeno.
- 20
5. Esponja según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada porque el biomaterial es colágeno y el componente polimérico es pentaeritritolpoli(etilenglicol)éter tetrasuccinimidil glutarato, estando la forma polimérica impregnada en el colágeno.
6. Esponja según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en el tratamiento de una lesión seleccionada de entre el grupo consistente en una herida, una hemorragia, tejido dañado y/o tejido sangrante.
- 25
7. Esponja para su uso según la reivindicación 6, donde el tratamiento comprende administrar la esponja en el lugar de la lesión.
8. Esponja según la reivindicación 7, donde la esponja se aplica a dicha lesión junto con una solución tampón, en especial una solución de bicarbonato, preferentemente en una gasa.
9. *Kit* que comprende una esponja según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y una solución tampón, por ejemplo una solución tampón alcalina, como un bicarbonato, junto con sus instrucciones de uso.
- 30
10. Método para producir una esponja hemostática compuesta porosa, que consiste esencialmente en
 - a) proporcionar una esponja porosa que comprende una matriz de un biomaterial en forma seca,
 - b) proporcionar un componente polimérico hidrófilo simple que comprende grupos reactivos electrófilos en forma de polvo seco, donde dicho material polimérico simple es un reticulante hidrófilo,
 - c) poner en contacto a) y b) de modo que el material b) esté presente al menos en una superficie de dicha esponja, y
 - d) fijar el material de b) sobre la esponja de a).
- 35
11. Método según la reivindicación 10, caracterizado porque la fijación se logra mediante fusión a temperaturas entre 30°C y 80°C, preferentemente entre 60°C y 65°C, durante un período de tiempo suficiente para la fijación, preferentemente entre 1 minuto y 10 minutos, en especial durante aproximadamente 4 minutos.
- 40
12. Método para producir una esponja hemostática compuesta porosa, que comprende
 - a) proporcionar una esponja porosa que comprende una matriz de un biomaterial en forma seca,
 - b) proporcionar un componente polimérico hidrófilo simple que comprende grupos reactivos electrófilos en forma de solución, donde dicho material polimérico reactivo simple es un reticulante hidrófilo,
 - c) poner en contacto a) y b) de modo que el material de a) se impregne con b), y
- 45

d) secar el material obtenido en el paso c).

- 5
13. Material compuesto hemostático que consiste esencialmente en un material hemostático y un reticulante polimérico hidrófilo simple con grupos reactivos electrófilos, incluyendo dicho material compuesto poros que permiten que fluidos externos, en especial sangre humana, accedan al interior del mismo, y siendo dicho material hemostático una tela tejida o no tejida de fibras hemostáticas.
14. Material compuesto hemostático según la reivindicación 13, caracterizado porque dicho material hemostático es una tela de celulosa oxidada.
- 10
15. Material compuesto hemostático según la reivindicación 13 o 14, caracterizado porque dicho reticulante polimérico hidrófilo con grupos reactivos electrófilos es un polietilenglicol (PEG), preferentemente un PEG que incluye dos o más grupos reactivos seleccionados entre ésteres de succinimidilo ($-\text{CON}(\text{COCH}_2)_2$), aldehídos ($-\text{CHO}$) e isocianatos ($-\text{N}=\text{C}=\text{O}$), de forma especialmente preferente ésteres de succinimidilo.

Figura 1

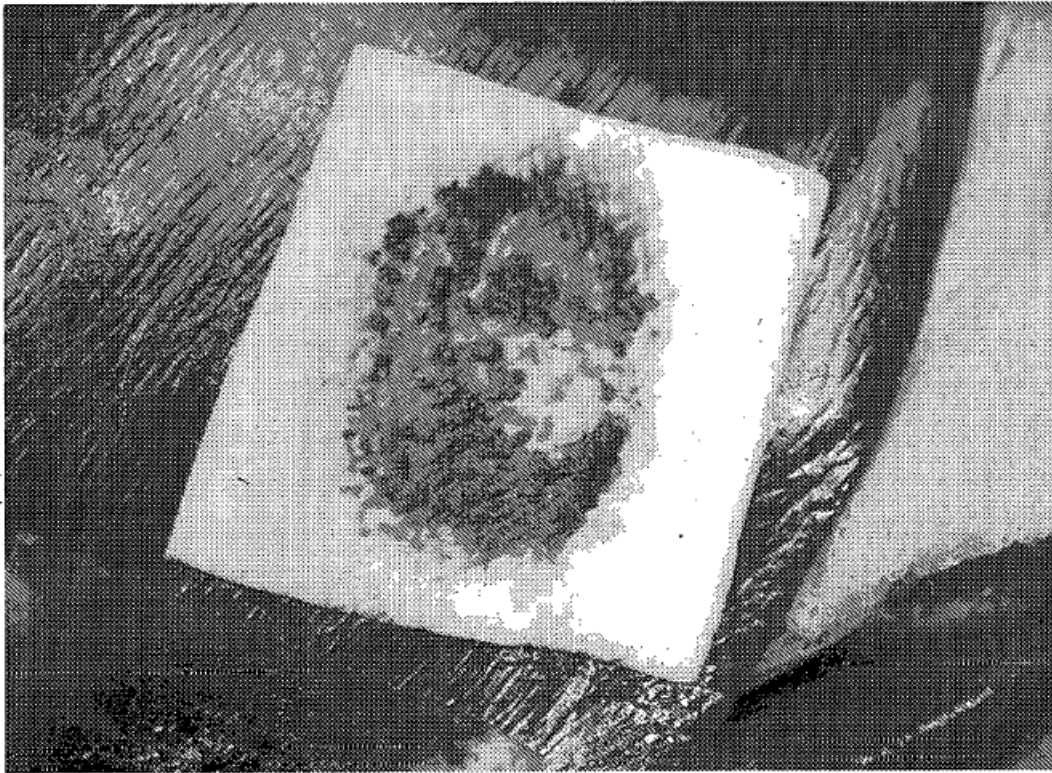


Figura 2

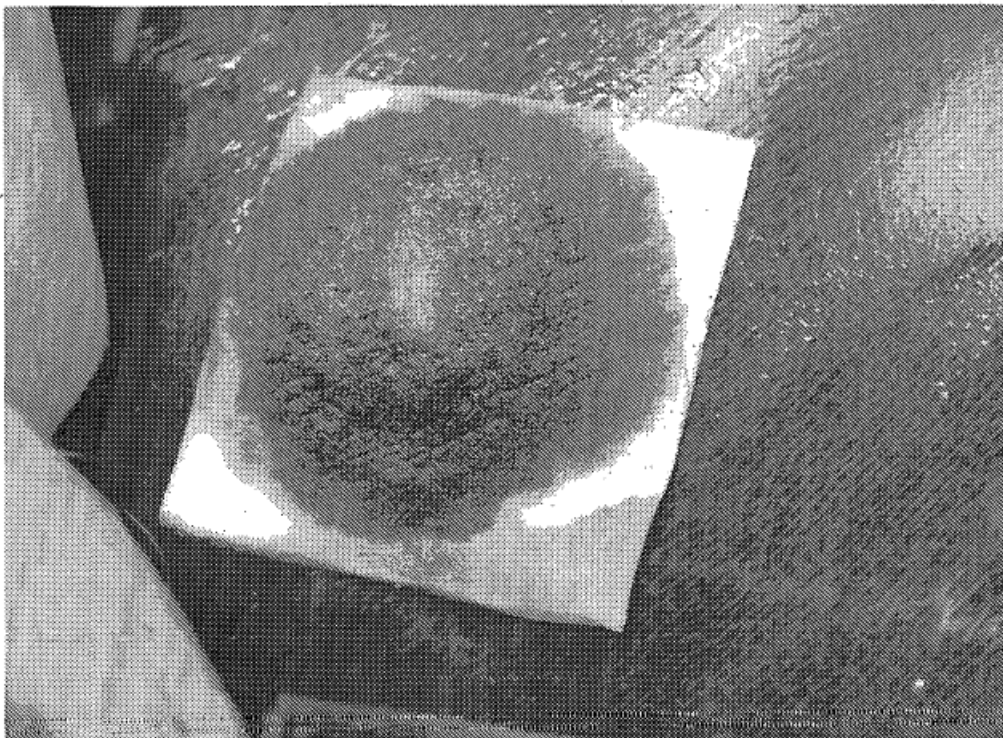


Figura 3

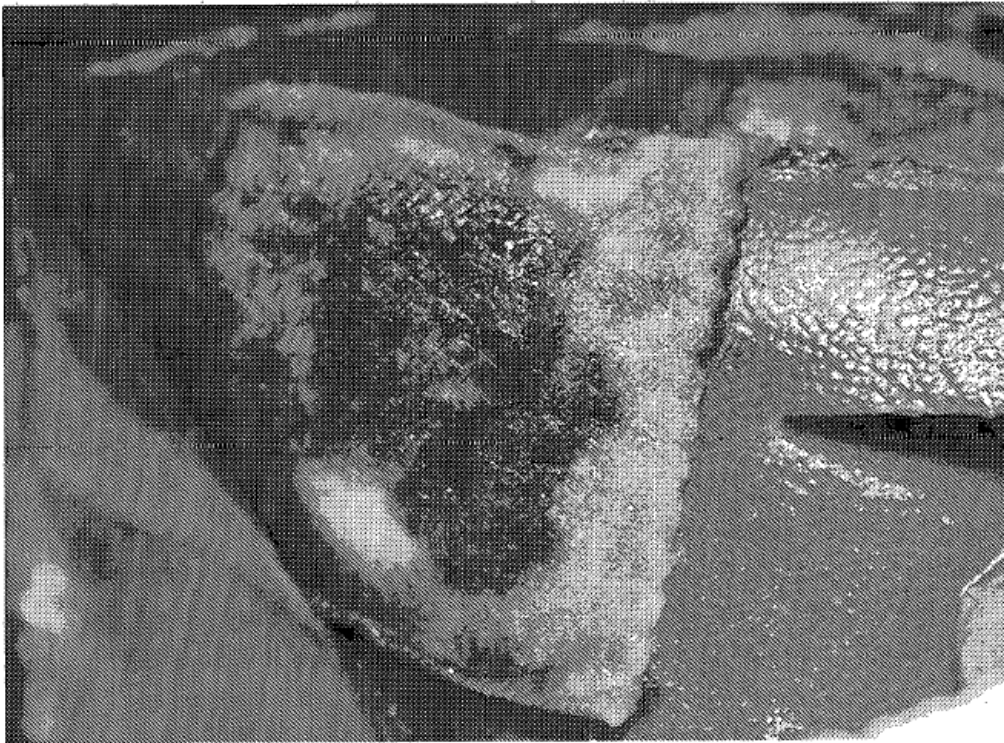


Figura 4

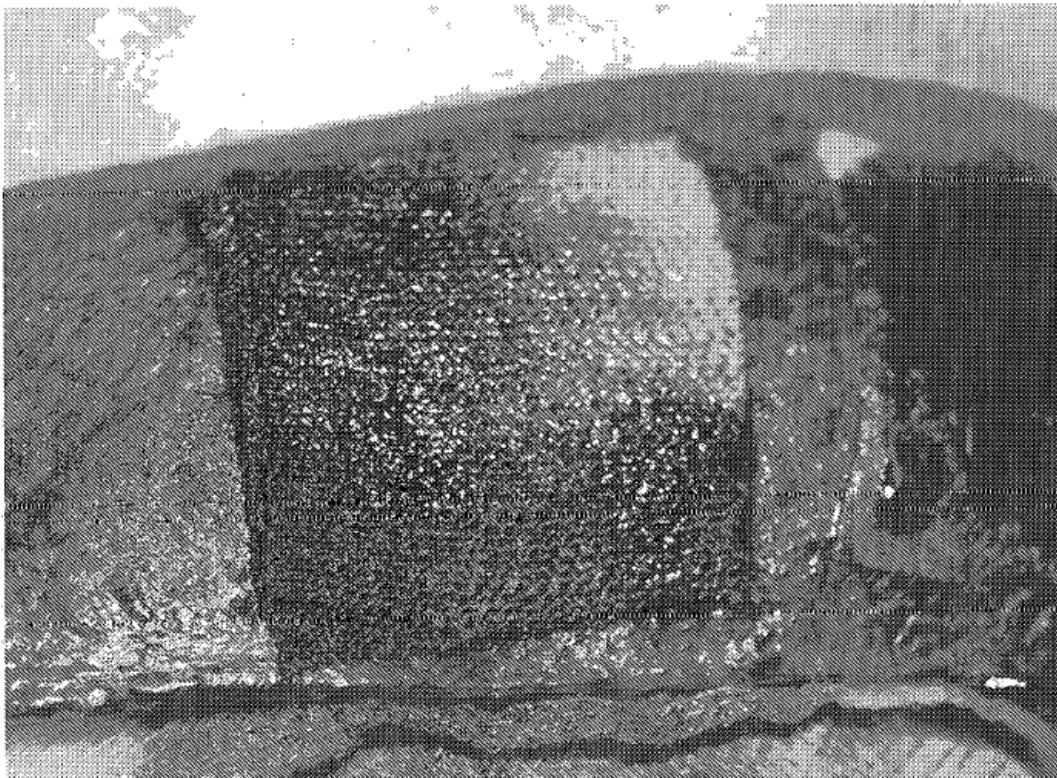


Figura 5

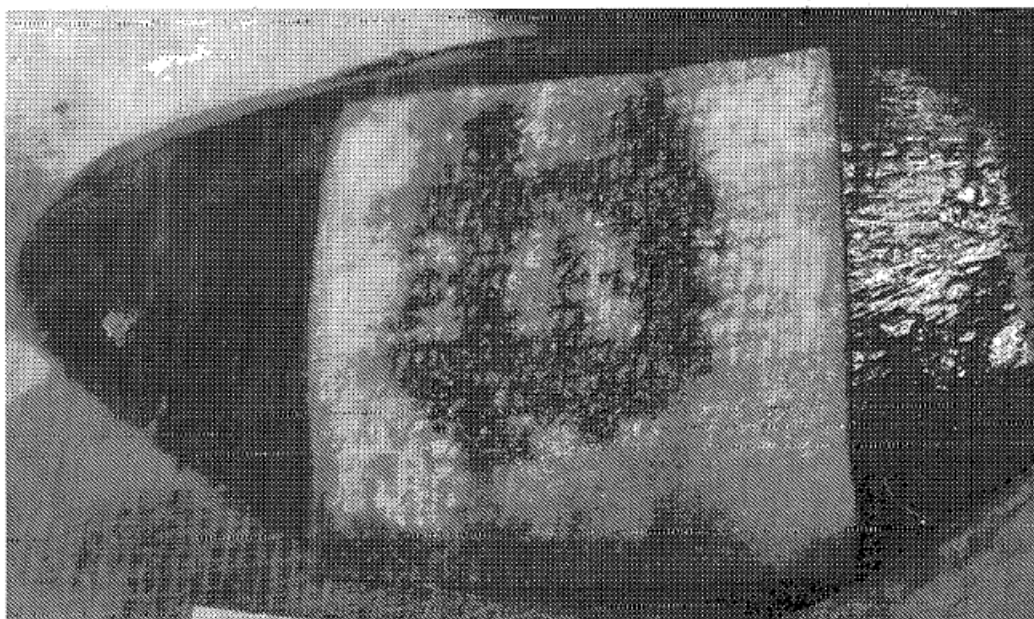
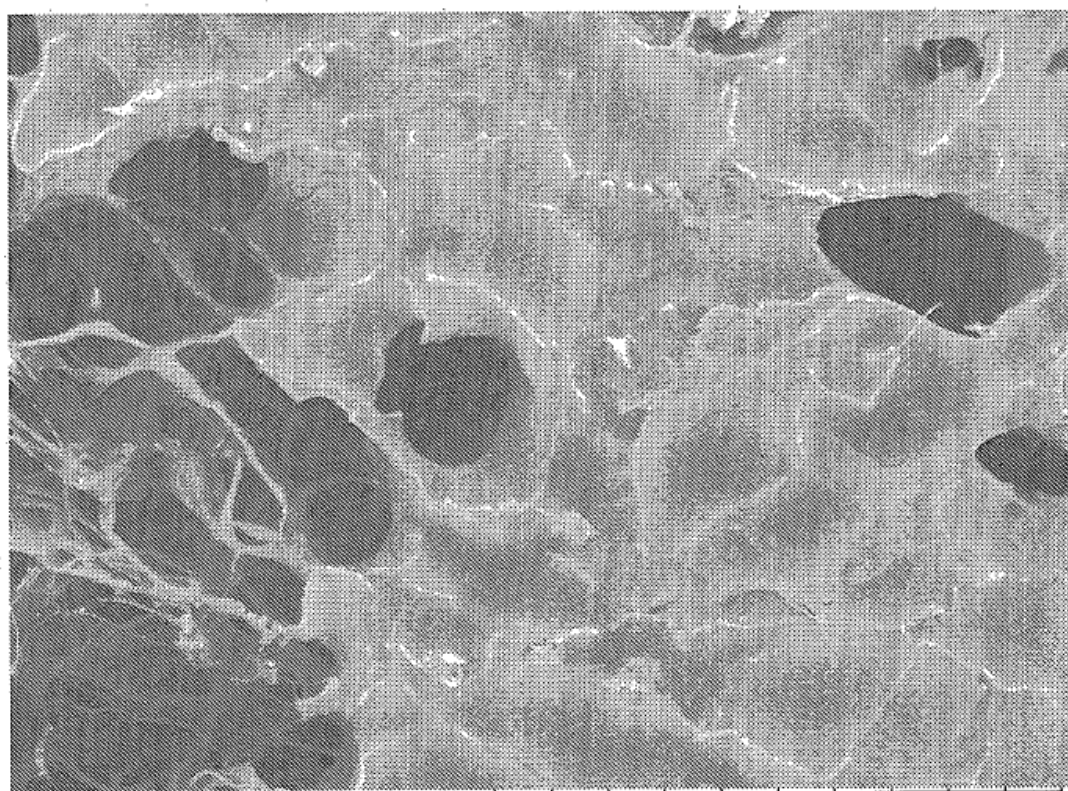


Figura 6



14mg_cm2

2011.03.29 13:54

x500 200 um

Figura 7

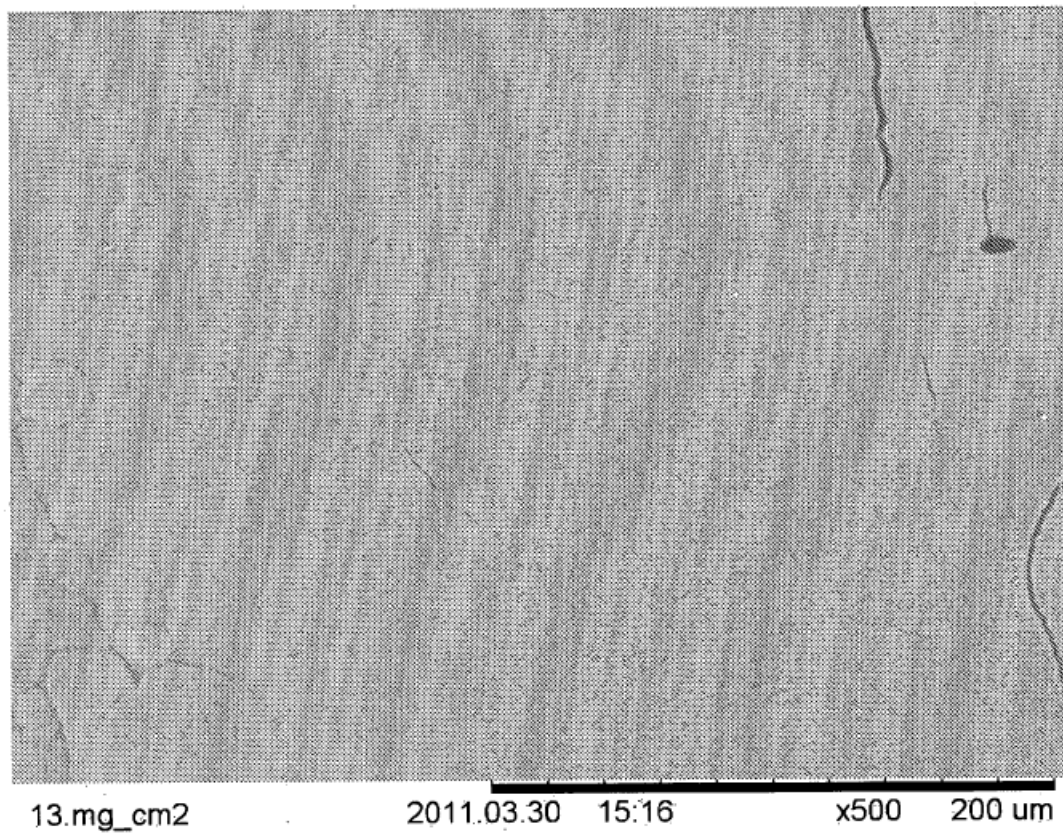


Figura 8

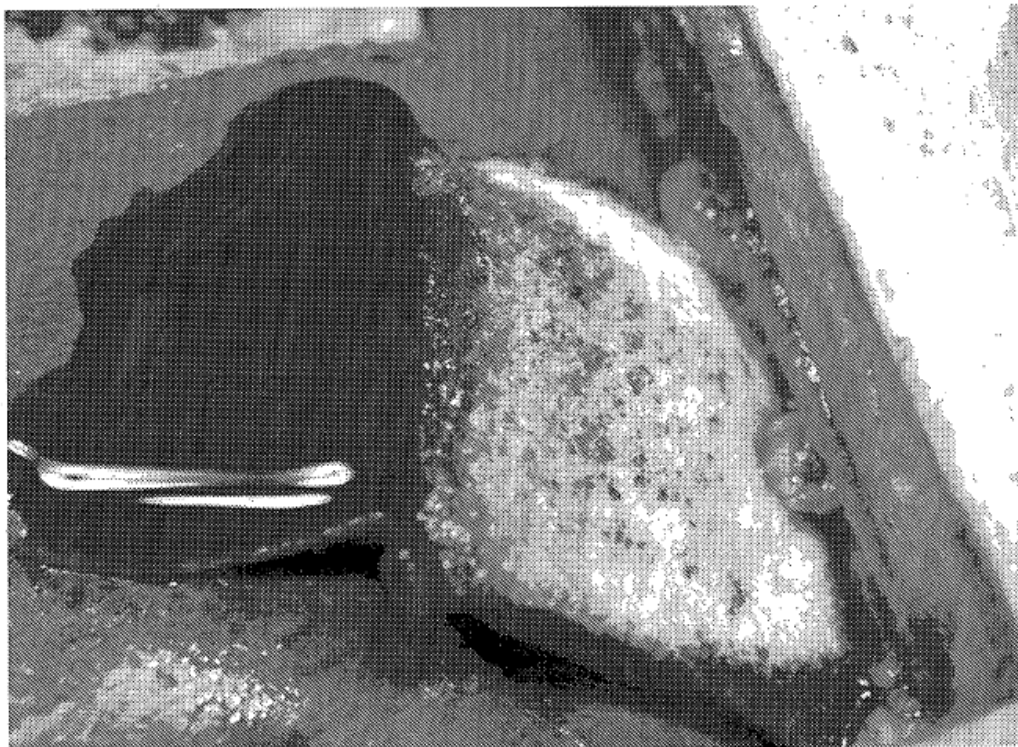


Figura 9

