

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 995 865**

51 Int. Cl.:

A61L 26/00 (2006.01)

A61L 24/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.01.2022** **PCT/EP2022/050024**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.07.2022** **WO22148725**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.01.2022** **E 22700016 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.09.2024** **EP 4274624**

54 Título: **Polvo de sellado biorreabsorbible**

30 Prioridad:

08.01.2021 EP 21150755

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.02.2025

73 Titular/es:

CILAG GMBH INTERNATIONAL (100.00%)
Gubelstrasse 34
6300 Zug, CH

72 Inventor/es:

BENDER, JOHANNES CASPAR MATHIAS
ELIZABETH y
VAN DIJCK, JULIUS MARCUS

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 995 865 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

Polvo de sellado biorreabsorbible

5 CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION

[0001] La presente invención se refiere a un polvo de sellado biorreabsorbible que comprende:

- (a) polímero electrófilo soluble en agua que lleva al menos 3 grupos electrófilos reactivos que son capaces de reaccionar con grupos amina bajo la formación de un enlace covalente;
- (b) reticulante nucleófilo soluble en agua que lleva al menos 2 grupos nucleófilos reactivos que, en presencia de agua, son capaces de reaccionar con los grupos electrófilos reactivos del polímero electrófilo bajo la formación de un enlace covalente entre el polímero electrófilo y el reticulante nucleófilo;
- (c) partículas que absorben el agua que contienen, en al menos un 50 % en peso de dichas partículas que absorben el agua, un polímero insoluble en agua que contiene grupos nucleófilos reactivos seleccionados de entre grupos amina, grupos tiol;
- (d) dispersante soluble en agua que es sólido a 20 °C, donde dicho dispersante soluble en agua se selecciona de entre monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos, alcoholes de azúcar y combinaciones de estos;

donde los componentes (a), (b), (c) y (d) pueden estar contenidos en las mismas partículas o en partículas diferentes.

[0002] Cuando el polvo de sellado de la presente invención se aplica sobre tejido húmedo, los componentes reactivos en el polvo reaccionan rápidamente bajo la formación de un hidrogel adhesivo al tejido que sella el tejido subyacente. El hidrogel adhesivo proporciona un sellado que es lo suficientemente fuerte como para proporcionar un sellado eficaz a las fugas de aire de los pulmones.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0003] La hemostasia es un proceso muy regulado que mantiene el flujo sanguíneo a través de la vasculatura simultáneamente mientras se produce una respuesta trombótica al daño tisular. Mantener la hemostasia requiere una interacción compleja de la pared del vaso, las plaquetas y los sistemas de coagulación y fibrinolítico. Hay dos fases principales de la hemostasia: primaria (es decir, la fase celular) y secundaria (es decir, la fase humoral).

[0004] La hemostasia primaria comienza inmediatamente después de la disrupción endotelial y se caracteriza por vasoconstricción, adhesión plaquetaria y formación de un tapón de agregado blando. Después de que se produzca la lesión, hay una contracción local temporal del músculo liso vascular y el flujo sanguíneo se ralentiza, lo que favorece la adhesión y activación plaquetarias. En el plazo de 20 segundos desde la lesión, el factor de von Willebrand circulante se une al subendotelio en el sitio de la lesión y se adhiere a las glucoproteínas de la superficie de las plaquetas. A medida que las plaquetas se adhieren a la superficie lesionada, estas se activan por contacto con receptores de exposición al colágeno que se unen al fibrinógeno circulante. Se forma un tapón blando de plaquetas agregadas y fibrinógeno. Esta fase de hemostasia es de corta duración, y el tapón blando puede cortarse fácilmente de la superficie dañada.

[0005] El tapón de plaquetas blando se estabiliza durante la hemostasia secundaria para formar un coágulo. La vasoconstricción y la reducción resultante en el flujo sanguíneo se mantienen mediante la secreción plaquetaria de serotonina, prostaglandina y tromboxano mientras se inicia la cascada de coagulación. La cascada de coagulación es una serie de reacciones dependientes en las que están implicadas varias proteínas plasmáticas, iones de calcio y plaquetas sanguíneas que conducen a la conversión del fibrinógeno en fibrina. Los factores de coagulación son producidos por el hígado y circulan en forma inactiva hasta que se inicia la cascada de coagulación. A continuación, cada etapa de la cascada se inicia y se completa a través de una serie de reacciones de activación de factores de coagulación secuenciales y dependientes. En las etapas finales, la trombina convierte el fibrinógeno, una proteína plasmática soluble, en fibrina, una proteína insoluble, mientras que, simultáneamente, convierte el factor XIII en factor XIIa. Esta conversión de factores estabiliza la fibrina y da como resultado la reticulación de los monómeros de fibrina, con lo que se produce un coágulo estable. Durante la cirugía, es importante mantener un delicado equilibrio entre hemorragia y coagulación, de manera que la sangre continúe fluyendo a los tejidos en el sitio quirúrgico sin que haya una pérdida excesiva de sangre, para optimizar el éxito quirúrgico y el resultado del paciente. La hemorragia continua de capilares menores difusos o vénulas pequeñas durante la cirugía puede oscurecer el campo quirúrgico, prolongar el tiempo de la operación, aumentar el riesgo de complicaciones fisiológicas y exponer al paciente a riesgos asociados con la transfusión de sangre.

[0006] Los cirujanos tienen una serie de opciones para controlar la hemorragia, incluyendo técnicas y dispositivos mecánicos y térmicos, así como farmacoterapias y agentes tópicos.

[0007] Uno de los agentes hemostáticos tópicos más tempranos fue el algodón, en forma de esponjas de gasa. Aunque tales materiales concentran la sangre y los productos de coagulación mediante adsorción física, no son absorbidos por el cuerpo y, al retirarlos, el coágulo puede desalojarse, provocando una hemorragia adicional. Desde entonces se han desarrollado agentes hemostáticos tópicos absorbibles que proporcionan una terapia auxiliar útil cuando los métodos convencionales de hemostasia son ineficaces o poco prácticos. Los agentes hemostáticos tópicos pueden aplicarse directamente al sitio de la hemorragia y pueden evitar una hemorragia continua y constante. La hemostasia usando agentes tópicos también puede evitar los efectos adversos de los medicamentos hemostáticos sistémicos, tales como coágulos de sangre "no deseados". Además, en procedimientos quirúrgicos en los que la cantidad de pérdida de sangre es impredecible, los hemostáticos tópicos pueden usarse con moderación cuando la pérdida de sangre es mínima y más libremente en caso de hemorragia grave.

[0008] En la actualidad se dispone de varios agentes hemostáticos tópicos para su uso en cirugía. Pueden dividirse en dos categorías: los que proporcionan su mecanismo de acción sobre la cascada de coagulación de una manera biológicamente activa y los que actúan de manera pasiva a través de la activación por contacto y la estimulación de la agregación plaquetaria. Los agentes hemostáticos tópicos pasivos incluyen colágenos, celulosa y gelatinas, mientras que los agentes activos incluyen trombina y productos en los que la trombina se combina con un agente pasivo para proporcionar un producto global activo.

[0009] En el documento US 2003/0064109 se describe un polvo hemostático seco que se prepara mediante un método que comprende: proporcionar una solución acuosa que comprende gelatina combinada con al menos un adyuvante de rehidratación; secar la solución para producir sólidos; moler los sólidos para producir un polvo; reticular el polvo; retirar al menos el 50 % (p/p) del adyuvante de rehidratación; y secar la gelatina reticulada para producir un polvo. El coadyuvante de rehidratación puede comprender al menos un material seleccionado del grupo que consiste en polietilenglicol (PEG), polivinilpirrolidona (PVP) y dextrano.

[0010] En el documento US 2012/0021058 se describe un proceso para fabricar una composición hemostática, donde dicho proceso comprende: a) proporcionar una preparación granular seca de un polímero biocompatible; y b) recubrir los gránulos de dicha preparación granular seca con una preparación de un agente inductor de la coagulación, tal como una solución de trombina. El polímero biocompatible puede seleccionarse de entre gelatina, colágeno soluble, albúmina, hemoglobina, fibrinógeno, fibrina, caseína, fibronectina, elastina, queratina, laminina y derivados o combinaciones de estos.

[0011] En el documento US 2013/0316974 se describe un material hemostático que comprende un polvo de ORC compactado que comprende partículas que tienen una relación de aspecto promedio de aproximadamente 1 a aproximadamente 18. El material hemostático puede comprender además un aditivo seleccionado de entre polisacáridos, sal de calcio, agente antiinfeccioso, agente promotor de la hemostasia, gelatina, colágeno,

[0012] En el documento US 2016/0271228 se describe un compuesto hemostático que comprende:

- un polímero hemostático biocompatible en forma particulada seleccionado del grupo que consiste en una proteína, un polisacárido, un polímero biológico, un polímero no biológico, y derivados y combinaciones de estos, donde el polímero hemostático biocompatible en forma particulada está presente como partículas granulares que tienen un rango de diámetro mediano de 50-700 μm ;
- un reticulante hidrófilo que comprende grupos reactivos electrófilos, donde los grupos reactivos electrófilos conservan su reactividad hasta que la composición se expone a la sangre del paciente, donde los grupos reactivos electrófilos están configurados para reticularse con proteínas sanguíneas del paciente para formar un gel con propiedades de sellado y hemostáticas; y
- un aglutinante que no reacciona con los grupos reactivos electrófilos del un reticulante hidrófilo;

donde la composición hemostática está en forma de pasta.

[0013] En el documento WO 2012/057628 se describe un kit para producir un polímero reticulado biocompatible, donde dicho kit comprende una polioxazolina activada electrófilamente (EL-POx), donde dicha EL-POx comprende m grupos electrófilos; y dicho agente de reticulación nucleófilo comprende n grupos nucleófilos, donde los m grupos electrófilos son capaces de reaccionar con los n grupos nucleófilos para formar enlaces covalentes; donde $m > 2$, $n > 2$ y $m + n > 5$; donde al menos uno de los m grupos electrófilos es un grupo electrófilo lateral.

[0014] En el documento WO 2016/056901 se describe un producto hemostático adhesivo seleccionado de entre una malla recubierta, una espuma recubierta o un polvo recubierto, donde dicho producto hemostático comprende:

- un sustrato sólido poroso que tiene una porosidad de al menos el 5 % en volumen y que comprende una superficie externa que comprende un polímero nucleófilo que contiene grupos nucleófilos reactivos;

- un revestimiento adhesivo que cubre al menos una parte del sustrato sólido, donde dicho revestimiento comprende una polioxazolina activada electrófilamente (EL-POX), donde dicha EL-POX contiene de media al menos 1 grupo electrófilo reactivo.

5 [0015] En el documento US 2016/0375202 se describe un dispositivo para la expresión de un polvo hemostático, que comprende:

- a) un depósito hueco alargado, donde el depósito tiene una bomba de aire manual unida al depósito y un puerto de expresión en un extremo distal de dicho depósito,
- 10 b) un filtro poroso dispuesto de manera deslizante dentro del depósito entre dicha bomba de aire y dicho puerto de expresión;
- c) un muelle dispuesto dentro del depósito entre la bomba de aire y el filtro;

15 donde el polvo está dispuesto dentro del depósito entre el filtro y el puerto de expresión, y la bomba está en comunicación de fluidos con el puerto de expresión a través del filtro poroso y a través del polvo.

RESUMEN DE LA INVENCION

20 [0016] Los inventores han desarrollado un polvo de sellado biorreabsorbible que puede usarse convenientemente para controlar la hemorragia durante la cirugía y/o para proporcionar un sellado protector.

[0017] El polvo de sellado de la presente invención comprende

- 25 (a) al menos un 5 % en peso de polímero electrófilo soluble en agua que lleva al menos 3 grupos electrófilos reactivos que son capaces de reaccionar con grupos amina bajo la formación de un enlace covalente;
- (b) un 1-50 % en peso de reticulante nucleófilo soluble en agua que lleva al menos 2 grupos nucleófilos reactivos que, en presencia de agua, son capaces de reaccionar con los grupos electrófilos reactivos del
- 30 polímero electrófilo bajo la formación de un enlace covalente entre el polímero electrófilo y el reticulante nucleófilo;
- (c) un 1-60 % en peso de partículas que absorben el agua que contienen, en al menos un 50 % en peso de dichas partículas que absorben el agua, un polímero insoluble en agua que contiene grupos nucleófilos reactivos seleccionados de grupos amina, grupos tiol y combinaciones de estos;
- 35 (d) un 10-75 % en peso de dispersante soluble en agua que es sólido a 20 °C, donde dicho dispersante soluble en agua se selecciona de entre monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos, alcoholes de azúcar y combinaciones de estos;

donde la combinación de los componentes (a), (b), (c) y (d) constituye al menos el 60 % en peso del polvo de sellado;

40 donde el polvo de sellado tiene una densidad compactada en el intervalo de 0,3 - 0,9 g/ml; donde al menos el 90 % en peso del polvo tiene un diámetro inferior a 600 µm y no más del 10 % en peso del polvo tiene un diámetro inferior a 10 µm; y donde los componentes (a), (b), (c) y (d) pueden estar contenidos en las mismas partículas o en partículas diferentes.

45 [0018] Cuando se aplica sobre un tejido húmedo, el polvo de sellado de la presente invención forma rápidamente un sellado en forma de hidrogel que se adhiere al tejido. El polvo de sellado puede usarse adecuadamente para proporcionar un sellado eficaz a, por ejemplo, fugas de aire de los pulmones. Además, el polvo de sellado tiene una capacidad hemostática excelente debido a que es capaz de absorber grandes cantidades de sangre bajo la

50 [0019] El polvo de sellado de la presente invención puede distribuirse fácilmente sobre un tejido. Si es necesario, se puede aplicar polvo de sellado adicional para formar una capa de sellado adicional que se adhiera a la capa subyacente de hidrogel.

55 [0020] Aunque los inventores no desean estar limitados por la teoría, se cree que, cuando se aplica una capa del polvo hemostático sobre tejido húmedo, el polímero electrófilo soluble en agua y el polímero nucleófilo soluble en agua se disuelven rápidamente. El polímero electrófilo disuelto reacciona con grupos nucleófilos reactivos del polímero nucleófilo soluble en agua disuelto bajo la formación de un hidrogel en el que se arrastran las partículas que absorben el agua. Estas partículas que absorben el agua proporcionan una capacidad de absorción de la

60 [0021] El dispersante soluble en agua del polvo de sellado de la presente invención asegura que los otros componentes del polvo de sellado se dispersen de manera rápida y uniforme cuando el polvo de sellado entre en

contacto con la humedad. Además, la inclusión del dispersante soluble en agua permite la preparación de un polvo de sellado que está compuesto por partículas que tienen una densidad suficientemente alta para permitir la aplicación precisa del polvo sobre el tejido por medio de un flujo de aire, por ejemplo, un flujo de aire generado por un fuelle.

5

[0022] Sorprendentemente, después de aplicar el polvo de sellado sobre el tejido húmedo, se puede aplicar presión de manera adecuada con una almohadilla de gasa húmeda impregnada en solución salina, ya que la almohadilla de gasa no se adhiere al polvo de sellado gelificado/gelificante.

10 [0023] Otro aspecto de la invención se refiere a un proceso para la preparación del polvo de sellado biorreabsorbible según la invención, que comprende los pasos de:

- 15 (a) proporcionar partículas A que comprenden el polímero electrófilo y el dispersante soluble en agua;
 (b) proporcionar partículas B que comprenden el reticulante nucleófilo, las partículas que absorben el agua y el dispersante soluble en agua;
 (c) combinar las partículas A y las partículas B.

[0024] Otro aspecto de la invención se refiere a un dispositivo para la aplicación de polvo que comprende:

- 20 • un depósito que contiene el polvo de sellado biorreabsorbible de la presente invención;
 • una estructura tubular hueca alargada que tiene un extremo proximal y un extremo distal, donde el extremo distal tiene una salida de polvo, y el extremo proximal está conectado al depósito,
 • una bomba de aire manual, preferiblemente una pera sopladora o fuelle, configurada para producir un
 25 flujo de aire que transporta el polvo desde el depósito a través de la estructura tubular hueca alargada y a través de la salida de polvo.

[0025] Otro aspecto de la invención se refiere a una lámina hemostática flexible y biocompatible que comprende:

- 30 • una estructura portadora fibrosa cohesiva que comprende un espacio intersticial interconectado tridimensional; y
 • el polvo de sellado biorreabsorbible de la presente invención;

donde el polvo de sellado se distribuye dentro del espacio intersticial y/o se fija sobre la estructura portadora fibrosa.

35

[0026] La invención también se refiere a un kit de componentes para la preparación de una suspensión de sellado biorreabsorbible, donde dicho kit comprende:

- 40 • un primer recipiente o compartimento que comprende un líquido biocompatible; y
 • un segundo recipiente o compartimento que comprende el polvo de sellado biorreabsorbible de la presente invención.

[0027] Otro aspecto más de la invención se refiere a una suspensión de sellado biorreabsorbible que comprende:

- 45 • una fase líquida continua no acuosa biocompatible; y
 • una fase dispersa que comprende el polvo de sellado biorreabsorbible de la presente invención.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

50 [0028] Por consiguiente, un primer aspecto de la invención se refiere a un polvo de sellado biorreabsorbible que comprende:

- 55 (a) al menos un 5 % en peso de polímero electrófilo soluble en agua que lleva al menos 3 grupos electrófilos reactivos que son capaces de reaccionar con grupos amina bajo la formación de un enlace covalente;
 (b) un 1-50 % en peso de reticulante nucleófilo soluble en agua que lleva al menos 2 grupos nucleófilos reactivos que, en presencia de agua, son capaces de reaccionar con los grupos electrófilos reactivos del polímero electrófilo bajo la formación de un enlace covalente entre el polímero electrófilo y el reticulante nucleófilo;
 60 (c) un 1-60 % en peso de partículas que absorben el agua que contienen, en al menos un 50 % en peso de dichas partículas que absorben el agua, un polímero insoluble en agua que contiene grupos nucleófilos reactivos seleccionados de grupos amina, grupos tiol y combinaciones de estos;
 (d) un 10-75 % en peso de dispersante soluble en agua que es sólido a 20 °C, donde dicho dispersante soluble en agua se selecciona de entre monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos, alcoholes de azúcar
 65 y combinaciones de estos;

donde la combinación de los componentes (a), (b), (c) y (d) constituye al menos el 60 % en peso del polvo de sellado;

donde el polvo de sellado tiene una densidad compactada en el intervalo de 0,3 - 0,9 g/ml;

donde al menos el 90 % en peso del polvo tiene un diámetro inferior a 600 µm y no más del 10 % en peso del polvo tiene un diámetro inferior a 10 µm; y

donde los componentes (a), (b), (c) y (d) pueden estar contenidos en las mismas partículas o en partículas diferentes.

[0029] El término "polvo de sellado biorreabsorbible", como se usa en el presente documento, significa que todos los componentes del polvo de sellado son reabsorbidos por el cuerpo. Algunos de los componentes del polvo de sellado, en particular componentes poliméricos, se degradan gradualmente en el cuerpo antes de ser reabsorbidos.

[0030] La expresión "polímero electrófilo soluble en agua", como se usa en el presente documento, se refiere a un polímero electrófilo que tiene una solubilidad en agua desmineralizada a 20 °C, a pH 7, de al menos 50 g/l. Para determinar la solubilidad en agua del polímero nucleófilo a diferentes pH, el pH del agua desmineralizada se ajusta usando ácido clorhídrico.

[0031] El término "polioxazolina", como se usa en el presente documento, se refiere a una poli(N-acetalquilenimina) o una poli(aroidalquilenimina) y también se denomina POx. Un ejemplo de POx es la poli(2-etil-2-oxazolina). El término "polioxazolina" también abarca copolímeros de POx.

[0032] El término "reticulante nucleófilo soluble en agua", como se usa en el presente documento, se refiere a un reticulante nucleófilo que tiene una solubilidad en agua en agua desmineralizada a 20 °C, a pH 7, de al menos 50 g/l. Para determinar la solubilidad en agua del reticulante nucleófilo a diferentes pH, se ajusta el pH del agua desmineralizada usando ácido clorhídrico.

[0033] El término "proteína", como se usa en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, también abarca proteínas reticuladas e hidrolizadas. Asimismo, a menos que se indique lo contrario, siempre que se haga referencia a una especie de proteína particular, tal como gelatina o colágeno, también se incluyen versiones hidrolizadas y reticuladas de esa especie de proteína.

[0034] El término "colágeno", como se usa en el presente documento, se refiere a la proteína estructural principal en el espacio extracelular de diversos tejidos conectivos en los cuerpos de los animales. El colágeno forma una triple hélice característica de tres cadenas polipeptídicas. Dependiendo del grado de mineralización, los tejidos de colágeno pueden ser rígidos (hueso) o distensibles (tendón) o tener un gradiente de rígido a distensible (cartilago). A menos que se indique lo contrario, el término "colágeno" también abarca colágenos modificados distintos de la gelatina (por ejemplo, colágeno reticulado).

[0035] El término "gelatina", como se usa en el presente documento, se refiere a una mezcla de péptidos y proteínas producidos por la hidrólisis parcial de colágeno extraído de la piel, huesos y tejidos conectivos de animales tales como ganado domesticado, pollos, cerdos y peces. Durante la hidrólisis, los enlaces moleculares naturales entre las cadenas de colágeno individuales se descomponen en una forma que se reorganiza más fácilmente. El término "gelatina", como se usa en el presente documento, también abarca gelatinas modificadas, tales como gelatinas reticuladas y gelatinas reticuladas reducidas.

[0036] El término "gelatinas reticuladas reducidas", como se usa en el presente documento, se refiere a una gelatina reticulada que se ha hidrolizado parcialmente. La hidrólisis parcial de los enlaces peptídicos de la gelatina reticulada puede lograrse mediante, por ejemplo, tratamiento alcalino. La hidrólisis de la gelatina reticulada da como resultado una densidad aumentada de grupos carboxilo libres y amina libres.

[0037] El término "gelfoam", como se usa en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, se refiere a un material de gelatina reticulado que tiene una estructura similar a una esponja.

[0038] El término "polímero insoluble en agua que contiene grupos nucleófilos reactivos" se refiere a un polímero que contiene grupos nucleófilos reactivos que tiene una solubilidad en agua desmineralizada a 20 °C, a pH 7, de menos de 5 g/l. Para determinar la solubilidad en agua del polímero soluble en agua a diferentes pH, el pH del agua desmineralizada se ajusta usando ácido clorhídrico.

El término "lámina hemostática", como se usa en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, se refiere a una lámina que tiene la capacidad de detener la hemorragia del tejido dañado. La lámina hemostática de la presente invención puede conseguir la hemostasia al convertir la sangre en un gel y/o formar un sello que cierra el sitio de la herida.

[0039] El término "resistente al agua", como se usa en el presente documento, en relación con la estructura portadora fibrosa, significa que esta estructura no es soluble en agua y no se desintegra en agua para formar una dispersión coloidal, en condiciones de pH neutro (pH 7) y a una temperatura de 37 °C.

[0040] El término "espacio intersticial", como se usa en la presente memoria, se refiere al espacio vacío ("hueco") dentro de la estructura portadora fibrosa. El espacio intersticial dentro de la estructura portadora fibrosa permite la introducción de polvo hemostático en la estructura. También la sangre y otros fluidos corporales pueden entrar en el espacio intersticial, permitiendo de este modo que el polvo hemostático ejerza su efecto hemostático y/o proporcione adhesividad tisular a la lámina hemostática.

[0041] El término "densidad compactada", como se usa en el presente documento, se refiere a la densidad que se obtiene llenando cuidadosamente un cilindro graduado (250 ml, diámetro interno de 37 mm) con 250 ml de polvo seguido de la compactación mecánica del cilindro hasta que no se observa ninguna disminución de volumen adicional. La densidad compactada se calcula como masa dividida por el volumen final del polvo.

[0042] El término "partícula", como se usa en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, abarca tanto partículas que consisten en una única partícula uniforme como aglomerados de subpartículas. Los aglomerados pueden prepararse por medio de técnicas de granulación conocidas en la técnica, tales como granulación húmeda.

[0043] El término "líquido", como se usa en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, significa líquido a una temperatura de 20 °C y a una presión de 1 atmósfera.

[0044] La distribución del diámetro del polvo de sellado y de los constituyentes particulados del polvo de sellado puede determinarse de manera adecuada por medio de difracción láser usando un Malvern Mastersizer 2000 en combinación con la Unidad de Dispersión de Muestras de Acero Inoxidable. La unidad de dispersión de muestras se llena con aproximadamente 120 ml de ciclohexano/éter dietílico (1:1 v/v), que se estabiliza durante 5 a 10 minutos a una velocidad de agitación de 1800 r.p.m., seguido de una medición de fondo (medición de blanco). El tubo de muestra se agita y se gira horizontalmente 20 veces. A continuación, se dispersan aproximadamente 50 mg en la unidad de dispersión de muestras que contiene el ciclohexano. Después de introducir la muestra en la unidad de dispersión, la muestra se agita durante un minuto y medio a 1800 r.p.m. para asegurar que todas las partículas se dispersan adecuadamente, antes de llevar a cabo la medición. No se realiza ningún tratamiento ultrasónico sobre las partículas dispersadas. El tamaño medio de partícula se expresa como $D[4,3]$, el diámetro medio ponderado en volumen ($\sum n_i D_i^4 / \sum n_i D_i^3$).

[0045] Además de los componentes (a), (b), (c) y (d), el polvo de sellado de la presente invención puede contener adecuadamente uno o más componentes distintos, tales como tensioactivos, agentes reguladores del pH y/o polisacáridos. Preferiblemente, la combinación de los componentes (a), (b), (c) y (d) constituye al menos el 80 % en peso, de la manera más preferible al menos el 90 % en peso del polvo de sellado.

[0046] El polvo de sellado tiene preferiblemente una densidad compactada en el intervalo de 0,25-0,8 g/ml, más preferiblemente de 0,3-0,6 g/ml.

[0047] Según otra forma de realización preferida, al menos el 90 % en peso del polvo de sellado tiene un diámetro inferior a 500 μm y no más del 10 % en peso del polvo de sellado tiene un diámetro inferior a 20 μm . Más preferiblemente, al menos el 90 % en peso del polvo de sellado tiene un diámetro inferior a 400 μm y no más del 10 % en peso del polvo de sellado tiene un diámetro inferior a 40 μm .

[0048] Preferiblemente, al menos el 50 % en peso del polvo de sellado tiene un diámetro en el intervalo de 65-300 μm , más preferiblemente en el intervalo de 80-280, de la manera más preferible, en el intervalo de 100-200 μm .

[0049] El polvo de sellado tiene preferiblemente un diámetro medio ponderado en volumen ($D[4,3]$) en el intervalo de 65-300 μm , más preferiblemente de 80-250 μm y, de la manera más preferible, de 125-180 μm .

[0050] El polímero electrófilo soluble en agua que está contenido en el polvo de sellado de la presente invención se selecciona preferiblemente de entre polioxazolina electrófila, polietilenglicol electrófilo y combinaciones de estos.

[0051] Preferiblemente, el polvo de sellado contiene un 10-50 % en peso, más preferiblemente un 20-30 % en peso, del polímero electrófilo soluble en agua.

[0052] El polímero electrófilo soluble en agua tiene preferiblemente una solubilidad en agua desmineralizada a 20 °C, a un pH en el intervalo de 3 a 7, de al menos 100 g/l, más preferiblemente de al menos 200 g/l.

[0053] El polímero electrófilo soluble en agua tiene preferiblemente una solubilidad en acetona a 20 °C de menos de 10 mg/l, más preferiblemente de menos de 5 mg/l y, de la manera más preferible, de menos de 1 mg/l.

[0054] El polímero electrófilo soluble en agua tiene preferiblemente un peso molecular de al menos 2 kDa. Más preferiblemente, el polímero electrófilo tiene un peso molecular de 5 a 200 kDa, de la manera más preferible, de 10 a 100 kDa.

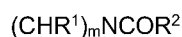
[0055] El polímero electrófilo soluble en agua y el reticulante nucleófilo soluble en agua se combinan preferiblemente en el polvo de sellado de la presente invención con reacciones de reticulación mínimas entre ellos, y con una degradación mínima del polímero electrófilo. Por consiguiente, en una forma de realización muy preferida de la invención, el polímero electrófilo soluble en agua en el polvo de sellado tiene un índice de polidispersidad (PDI) de menos de 2,0, más preferiblemente de menos de 1,8 y, de la manera más preferible, de menos de 1,5.

[0056] El polímero electrófilo soluble en agua contiene preferiblemente al menos 4 grupos electrófilos reactivos, más preferiblemente al menos 8 grupos electrófilos reactivos, incluso más preferiblemente al menos 16 grupos electrófilos reactivos y, de la manera más preferible, al menos 32 grupos electrófilos reactivos.

[0057] El polímero electrófilo soluble en agua lleva típicamente una media de al menos 10, más preferiblemente al menos 20 grupos electrófilos reactivos.

[0058] Según una forma de realización particularmente preferida, el polímero electrófilo es polioxazolina electrófila.

[0059] La polioxazolina electrófila se deriva preferiblemente de una polioxazolina cuyas unidades repetitivas están representadas por la siguiente fórmula (I):



donde R^2 y cada uno de R^1 se seleccionan independientemente de H, alquilo C_{1-22} opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, aralquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido; y m es 2 o 3.

[0060] Preferiblemente, R^1 y R^2 en la fórmula (I) se seleccionan entre H y alquilo C_{1-8} , incluso más preferiblemente de H y alquilo C_{1-4} . R^1 , de la manera más preferible, es H. El número entero m en la fórmula (I) preferiblemente es igual a 2.

[0061] Según una forma de realización preferida, la polioxazolina es un polímero, incluso más preferiblemente un homopolímero de 2-alquil-2-oxazolina, donde dicha 2-alquil-2-oxazolina se selecciona de entre 2-metil-2-oxazolina, 2-etil-2-oxazolina, 2-propil-2-oxazolina, 2-butil-2-oxazolina y combinaciones de estas. Preferiblemente, la polioxazolina es un homopolímero de 2-propil-2-oxazolina o 2-etil-oxazolina. De la manera más preferible, la polioxazolina es un homopolímero de 2-etiloxazolina.

[0062] Según una forma de realización particularmente preferida, la polioxazolina electrófila comprende al menos 20 unidades oxazolina, más preferiblemente al menos 30 unidades oxazolina y, de la manera más preferible, al menos 80 unidades oxazolina.

[0063] La polioxazolina electrófila comprende preferiblemente de media al menos 0,05 grupos electrófilos reactivos por residuo de oxazolina. Incluso más preferiblemente, la polioxazolina electrófila comprende de media al menos 0,1 grupos electrófilos reactivos por residuo de oxazolina. De la manera más preferible, la polioxazolina electrófila comprende de media 0,12-0,5 grupos electrófilos reactivos por residuo de oxazolina.

[0064] La polioxazolina puede llevar grupos electrófilos reactivos en sus cadenas laterales (grupos electrófilos reactivos laterales), en sus extremos terminales, o ambos. La polioxazolina electrófila que se emplea según la presente invención contiene ventajosamente uno o más grupos electrófilos reactivos laterales.

[0065] Típicamente, la polioxazolina electrófila contiene 0,03-0,5 grupos electrófilos reactivos laterales por monómero, más preferiblemente 0,04-0,35 grupos electrófilos reactivos laterales por monómero, incluso más preferiblemente 0,05-0,25 grupos electrófilos reactivos laterales por monómero.

[0066] Según una forma de realización preferida, los grupos electrófilos reactivos de la polioxazolina electrófila se seleccionan de entre ésteres del ácido carboxílico, ésteres de sulfonato, ésteres de fosfonato, ésteres de pentafluorofenilo, ésteres de p-nitrofenilo, ésteres de p-nitrotiofenilo, grupos haluro de ácido, anhídridos, cetonas, aldehídos, isocianato, tioisocianato, isociano, epóxidos, grupos hidroxilo activados, olefinas, éteres glicídicos, carboxilo, ésteres de succinimidilo, ésteres de sulfosuccinimidilo, maleimido (maleimidilo), etenosulfonilo, imido ésteres, acetoacetato, haloacetal, disulfuro de ortopiridilo, derivados de dihidroxifenilo, vinilo, acrilato, acrilamida, yodoacetamida y combinaciones de estos. Más preferiblemente, los grupos electrófilos reactivos se seleccionan de entre ésteres del ácido carboxílico, ésteres de sulfonato, ésteres de fosfonato, ésteres de pentafluorofenilo, ésteres de p-nitrofenilo, ésteres de p-nitrotiofenilo, grupos haluro de ácido, anhídridos, cetonas, aldehídos,

isocianato, tioisocianato, isociano, epóxidos, grupos hidroxilo activados, glicídicos, carboxilo, ésteres de succinimidilo, ésteres de sulfosuccinimidilo, imido ésteres, derivados de dihidroxifenilo y combinaciones de estos. Incluso más preferiblemente, los grupos electrófilos reactivos se seleccionan de entre halo acetales, disulfuro de ortopiridilo, maleimidas, vinil sulfona, derivados de dihidroxifenilo, vinilo, acrilato, acrilamida, yodoacetamida, ésteres de succinimidilo y combinaciones de estos. De la manera más preferible, los grupos electrófilos reactivos se seleccionan de entre maleimidas, vinilo, acrilato, acrilamida, ésteres de succinimidilo, ésteres de sulfosuccinimidilo y combinaciones de estos.

[0067] Los ejemplos de ésteres de succinimidilo que pueden emplearse incluyen succinimidil glutarato, succinimidil propionato, succinimidil carbonato, disuccinimidil suberato, bis(sulfosuccinimidil) suberato, ditiobis(succinimidilpropionato), bis(2-succinimidooxicarbonilo) etil sulfona, 3,3'-ditiobis(sulfosuccinimidilpropionato), succinimidil carbamato, sulfosuccinimidil(4-yodoacetil)aminobenzoato, bis(sulfosuccinimidil) suberato, sulfosuccinimidil-4-(N-maleimidometil)-ciclohexano-1-carboxilato, ditiobis-sulfosuccinimidil propionato, disulfosuccinimidil tartrato; bis[2-(sulfosuccinimidiloxycarboniloxietilsulfona)], etilenglicol bis(sulfosuccinimidilsuccinato), ditiobis-(succinimidil propionato).

[0068] Los ejemplos de derivados de dihidroxifenilo que pueden emplearse incluyen dihidroxifenilalanina, 3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA), dopamina, ácido 3,4-dihidroxihipocinámico (DOHA), norepinefrina, epinefrina y catecol.

[0069] El reticulante nucleófilo soluble en agua que se emplea en el polvo de sellado de la presente invención se selecciona preferiblemente de entre polioxazolina nucleófila, polietilenglicol nucleófilo, polietilenimina, proteína y combinaciones de estas y combinaciones de estos. Más preferiblemente, el reticulante nucleófilo se selecciona de entre polioxazolina nucleófila, polietilenglicol nucleófilo y combinaciones de estos. De la manera más preferible, el reticulante nucleófilo es polioxazolina nucleófila.

[0070] El reticulante nucleófilo soluble en agua contiene preferiblemente al menos 3 grupos nucleófilos reactivos, más preferiblemente al menos 4 grupos nucleófilos reactivos, incluso más preferiblemente al menos 8 grupos nucleófilos reactivos y, de la manera más preferible, al menos 10 grupos nucleófilos reactivos. De la manera más preferible, estos grupos nucleófilos reactivos son grupos amina, de la manera más preferible, grupos amina primaria.

[0071] Según una forma de realización de la invención, el reticulante nucleófilo soluble en agua es polietilenglicol (PEG) nucleófilo. Preferiblemente, el PEG nucleófilo contiene al menos 3, más preferiblemente al menos 5 y, de la manera más preferible, 8 grupos nucleófilos reactivos.

[0072] Según una forma de realización particularmente preferida, el reticulante nucleófilo es polioxazolina nucleófila. Preferiblemente, la polioxazolina nucleófila contiene al menos 3, más preferiblemente al menos 5 y, de la manera más preferible, de 8 a 20 grupos nucleófilos reactivos.

[0073] Preferiblemente, la polioxazolina nucleófila comprende una media de al menos 0,1 grupos nucleófilos reactivos por residuo oxazolina. De la manera más preferible, la polioxazolina nucleófila comprende una media de 0,12-0,5 grupos nucleófilos reactivos por residuo de oxazolina.

[0074] Preferiblemente, el polvo de sellado contiene un 1,5-35 % en peso, más preferiblemente un 2-20 % en peso, de la manera más preferible, un 3-10 % en peso del reticulante nucleófilo soluble en agua.

[0075] El reticulante nucleófilo soluble en agua tiene preferiblemente una solubilidad en agua desmineralizada a 20 °C, a pH 7, de al menos 100 g/l, más preferiblemente de al menos 200 g/l.

[0076] El reticulante nucleófilo soluble en agua tiene preferiblemente una solubilidad en acetona a 20 °C de menos de 10 mg/l, más preferiblemente de menos de 5 mg/l y, de la manera más preferible, de menos de 1 mg/l.

[0077] Según una forma de realización particularmente preferida, el reticulante nucleófilo soluble en agua se disuelve con relativa lentitud en agua. Se cree que, cuando el polímero electrófilo soluble en agua reacciona con el reticulante nucleófilo soluble en agua a una velocidad relativamente lenta, el polímero electrófilo también puede reaccionar con proteínas de la sangre y el tejido en el sitio de la hemorragia. Al emplear un reticulante nucleófilo soluble en agua que se disuelve con relativa lentitud, el polímero electrófilo disuelto tiene la oportunidad de reaccionar con proteínas presentes en la sangre y en el tejido, así como con el reticulante nucleófilo soluble en agua (lentamente), creando de este modo un gel de sellado homogéneo fuerte.

[0078] Los reticulantes nucleófilos solubles en agua que tienen un peso molecular alto tienden a disolverse de forma relativamente lenta en agua. Por consiguiente, en una forma de realización muy preferida, el reticulante nucleófilo soluble en agua tiene un peso molecular de al menos 3 kDa, más preferiblemente de al menos 10 kDa y, de la manera más preferible, de 20 a 3000 kDa.

[0079] La presente invención puede emplear de manera adecuada un reticulante nucleófilo soluble en agua que es soluble a pH ácido si el polímero electrófilo soluble en agua libera sustancias ácidas cuando reacciona con grupos nucleófilos. Este es el caso, por ejemplo, cuando el polímero electrófilo contiene grupos N-hidroxisuccinimida.

[0080] Según una forma de realización preferida, el reticulante nucleófilo soluble en agua contiene dos o más grupos amina y los grupos electrófilos reactivos del polímero electrófilo soluble en agua se seleccionan de entre ésteres del ácido carboxílico, ésteres de sulfonato, ésteres de fosfonato, ésteres de pentafluorofenilo, ésteres de p-nitrofenilo, ésteres de p-nitrotiofenilo, grupos haluro de ácido, anhídridos, cetonas, aldehídos, isocianato, tioisocianato, isociano, epóxidos, grupos hidroxilo activados, glicídicos, carboxilo, ésteres de succinimidilo, ésteres de sulfosuccinimidilo, imido ésteres, derivados de dihidroxifenilo y combinaciones de estos.

[0081] Según otra forma de realización preferida, el reticulante nucleófilo soluble en agua contiene dos o más grupos tiol y los grupos electrófilos reactivos del polímero electrófilo soluble en agua se seleccionan de entre halo acetales, disulfuro de ortopiridilo, maleimidas, vinil sulfona, derivados de dihidroxifenilo, vinilo, acrilato, acrilamida, yodoacetamida, ésteres de succinimidilo, ésteres de sulfosuccinimidilo y combinaciones de estos. Más preferiblemente, los grupos electrófilos reactivos se seleccionan de entre ésteres de succinimidilo, ésteres de sulfosuccinimidilo, halo acetales, maleimidas o derivados de dihidroxifenilo y combinaciones de estos. De la manera más preferible, los grupos electrófilos reactivos se seleccionan de entre maleimidas o derivados de dihidroxifenilo y combinaciones de estos.

[0082] La combinación del polímero electrófilo soluble en agua y el reticulante nucleófilo soluble en agua constituye preferiblemente al menos el 20 % en peso, más preferiblemente el 20-60 % en peso y, de la manera más preferible, el 25-35 % en peso del polvo de sellado.

[0083] La relación entre el número total de grupos electrófilos reactivos proporcionados por el polímero electrófilo soluble en agua y el número total de grupos nucleófilos reactivos proporcionados por el reticulante nucleófilo soluble en agua está preferiblemente en el intervalo de 1:0,05 a 1:0,4, más preferiblemente en el intervalo de 1:0,1 a 1:0,3 y, de la manera más preferible, en el intervalo de 1:0,15 a 1:0,25

[0084] El polvo de sellado biorreabsorbible de la presente invención contiene preferiblemente un 10-60 % en peso, más preferiblemente un 12-40 % en peso, de la manera más preferible un 15-30 % en peso de las partículas que absorben el agua que contienen polímero insoluble en agua que contiene grupos nucleófilos reactivos.

[0085] Según una forma de realización particularmente preferida, las partículas que absorben el agua son resistentes al agua, lo que significa que estas partículas no son solubles en agua y no se desintegran en agua para formar una dispersión coloidal, en condiciones de pH neutro (pH 7) y a una temperatura de 37 °C. Las partículas de gelfoam pueden usarse adecuadamente como partículas que absorben el agua según la presente invención.

[0086] Las partículas que absorben el agua contienen preferiblemente en al menos un 50 % en peso, más preferiblemente en al menos un 70 % en peso de dichas partículas que absorben el agua, un polímero insoluble en agua que contiene grupos nucleófilos reactivos seleccionados de entre grupo amina, grupos tiol y combinaciones de estos.

[0087] Según una forma de realización particularmente preferida, las partículas que absorben el agua contienen en al menos un 10 % en peso, más preferiblemente en al menos un 15 % en peso de dichas partículas que absorben el agua, un polímero insoluble en agua que contiene grupos amino reactivos.

[0088] El polímero insoluble en agua que contiene grupos nucleófilos reactivos tiene preferiblemente una solubilidad en agua en agua desmineralizada a 20 °C, a pH 7, de menos de 3 g/l, más preferiblemente de menos de 2 g/l.

[0089] El polímero insoluble en agua que contiene grupos nucleófilos reactivos tiene preferiblemente una solubilidad en acetona a 20 °C de menos de 10 mg/l, más preferiblemente de menos de 5 mg/l y, de la manera más preferible, de menos de 1 mg/l.

[0090] El polímero insoluble en agua que contiene grupos nucleófilos reactivos que está contenido en las partículas que absorben el agua se selecciona preferiblemente de entre proteínas, quitosano y combinaciones de estos. De la manera más preferible, el polímero insoluble en agua que contiene grupos nucleófilos reactivos es proteína.

[0091] El quitosano es un derivado de carbohidrato complejo, biodegradable y no tóxico de la quitina (poli-N-acetil-D-glucosamina), una sustancia de origen natural. El quitosano es la forma desacetilada de la quitina. El quitosano aplicado según la presente invención tiene preferiblemente un grado de desacetilación de más del

50 %. El quitosano empleado según la presente invención tiene preferiblemente un peso molecular de al menos 5 kDa, más preferiblemente de 10-10 000 kDa.

[0092] Los ejemplos de proteínas que pueden emplearse incluyen gelatina, gelatina reticulada, colágeno y combinaciones de estos. Más preferiblemente, el polímero insoluble en agua que contiene grupos nucleófilos reactivos es gelatina reticulada.

[0093] La gelatina reticulada tiene preferiblemente un peso molecular en el intervalo de 30-3000 kDa, más preferiblemente en el intervalo de 400 a 2.000 kDa, de la manera más preferible, en el intervalo de 500 a 1500 kDa.

[0094] El contenido medio de amina primaria de la gelatina reticulada está preferiblemente en el intervalo de 5×10^{-4} a 2×10^{-2} pmol, más preferiblemente $1,0 \times 10^{-3}$ a $1,0 \times 10^{-2}$ pmol de amina primaria por μg de gelatina reticulada reducida.

[0095] Las partículas que absorben el agua que se emplean en el polvo de sellado de la presente invención tienen preferiblemente un diámetro medio ponderado en volumen (D [4,3]) de al menos 10 μm , más preferiblemente en el intervalo de 20-250 μm , de la manera más preferible en el intervalo de 25-180 μm .

[0096] La capacidad de absorción de agua de las partículas que absorben el agua es de al menos 0,2 gramos de agua por gramo de partículas que absorben el agua, más preferiblemente de 0,5-3 gramos de agua por gramo de partículas que absorben el agua y, de la manera más preferible, de 0,8-2 gramos de agua por gramo de partículas que absorben el agua. La capacidad de absorción de agua puede determinarse gravimétricamente de manera adecuada.

[0097] El dispersante soluble en agua que está contenido en el polvo de sellado de la presente invención se selecciona preferiblemente de entre sacarosa, trehalosa, lactosa, maltitol, manitol, sorbitol, xilitol, ciclodextrina, maltodextrina, dextrano y combinaciones de estos, más preferiblemente el dispersante soluble en agua se selecciona de entre sacarosa, trehalosa, manitol y combinaciones de estos.

[0098] El dispersante soluble en agua tiene preferiblemente una temperatura de transición vítrea por encima de 30 °C, más preferiblemente una temperatura de transición vítrea de 50-200 °C, de la manera más preferible, una temperatura de transición vítrea de 75-95 °C.

[0099] Preferiblemente, el polvo de sellado contiene un 25-70 % en peso, más preferiblemente un 30-65 % en peso y, de la manera más preferible, un 40-60 % en peso del dispersante soluble en agua.

[0100] En una forma de realización preferida, el polvo de sellado contiene al menos un 30 % en peso, más preferiblemente al menos un 35 % en peso y, de la manera más preferible, al menos un 40 % en peso de partículas que contienen ambos componentes (a) y (d).

[0101] Según otra forma de realización preferida, el polvo de sellado contiene al menos un 20 % en peso, más preferiblemente al menos un 30 % en peso y, de la manera más preferible, al menos un 40 % en peso de partículas que comprenden ambos componentes (b) y (d).

[0102] Según una forma de realización particularmente preferida, el polvo de sellado contiene al menos un 20 % en peso, más preferiblemente al menos un 30 % en peso y, de la manera más preferible, al menos un 40 % en peso de partículas que comprenden ambos componentes (b), (c) y (d).

[0103] El polvo de sellado de la presente invención puede estar compuesto por partículas que tienen la misma composición o puede ser una mezcla de diferentes partículas. Entre los ejemplos de mezclas de diferentes partículas se incluyen:

- (a) Una mezcla de (i) partículas que contienen solamente los componentes (a) y (d) y (ii) partículas que contienen solamente los componentes (b), (c) y (d)
- (b) Una mezcla de i) partículas que contienen solamente los componentes (a) y (d), (ii) partículas que contienen solamente los componentes (b) y (d) y (iii) partículas que contienen solamente los componentes (c) y (d).

[0104] En este caso, el término "solamente" se usa para indicar que, además de los componentes mencionados, las partículas no contienen ninguno de los otros componentes (a) a (d) del polvo de sellado.

[0105] En caso de que el polvo de sellado esté compuesto por una mezcla de diferentes partículas, el polvo comprende preferiblemente un 30-70 % en peso de partículas que contienen solo los componentes (a) y (d) y un 30-70 % en peso de partículas que contienen solo los componentes (b), (c) y (d). Más preferiblemente, el polvo

de sellado comprende un 40-60 % en peso de partículas que solo contienen los componentes (a) y (d) y un 40-60 % en peso de partículas que solo contienen los componentes (b), (c) y (d).

5 [0106] Preferiblemente, las partículas que solo contienen los componentes (a) y (d) y las partículas que solo contienen los componentes (b), (c) y (d) juntos constituyen al menos el 60 % en peso, más preferiblemente al menos el 80 % en peso y, de la manera más preferible, al menos el 90 % en peso del polvo de sellado.

10 [0107] En una forma de realización particularmente preferida, el presente polvo de sellado contiene al menos un 60 % en peso, más preferiblemente al menos un 80 % en peso y, de la manera más preferible, al menos un 90 % en peso de partículas que contienen cada uno de los componentes (a), (b), (c) y (d). Tales partículas pueden prepararse, por ejemplo, por medio de granulación de una mezcla de diferentes partículas como se ha descrito anteriormente.

15 [0108] Según otra forma de realización particularmente preferida, el polvo de sellado contiene al menos un 50 % en peso, más preferiblemente al menos un 70 % en peso y, de la manera más preferible, al menos un 80 % en peso de partículas que contienen cada uno de los componentes (a), (b), (c) y (d) en forma de aglomerados de subpartículas A que solo contienen los componentes (a) y (d) y subpartículas B que solo contienen los componentes (b), (c) y (d). Preferiblemente, los aglomerados de subpartículas A y B contienen un 20-80 % en peso de subpartículas A y un 20-80 % en peso de subpartículas B. Más preferiblemente, los aglomerados de subpartículas A y B contienen un 40-60 % en peso de subpartículas A y un 40-60 % en peso de subpartículas B.

[0109] Preferiblemente, las partículas del polvo de sellado contienen un 0,05-5 % en peso, más preferiblemente un 0,1-2 % en peso de un tensioactivo que tiene un punto de fusión de 30 °C o superior.

25 [0110] En una forma de realización preferida, el tensioactivo se selecciona de entre tensioactivo de copolímero de bloque, estearato de polioxietileno, dodecilsulfato de sodio y combinaciones de estos, más preferiblemente un poloxámero, de la manera más preferible poloxámero 188 o poloxámero 407.

30 [0111] Según otra forma de realización preferida, el tensioactivo está contenido en partículas que contienen adicionalmente los componentes (b) y (d), más preferiblemente en partículas que contienen adicionalmente los componentes (b), (c) y (d), de la manera más preferible, en partículas que contienen adicionalmente los componentes (a), (b), (c) y (d).

35 [0112] Otro aspecto de la invención se refiere a un método para tratar una herida o reducir la hemorragia en el sitio de una hemorragia, que comprende administrar por vía tópica a la herida o sitio de la hemorragia un polvo de sellado según la presente invención.

40 [0113] Preferiblemente, en el presente método de tratamiento, el polvo se administra por vía tópica en una cantidad de 5-250 mg/cm², más preferiblemente en una cantidad de 20-200 mg/cm², de la manera más preferible, en una cantidad de 50-125 mg/cm².

45 [0114] El presente método es particularmente adecuado para el tratamiento tópico de a) heridas seleccionadas de entre abrasiones leves, cortes, raspados, arañazos, quemaduras, quemaduras solares, úlceras, hemorragia venosa interna, hemorragia venosa externa, y b) intervenciones quirúrgicas seleccionadas de entre cirugía gastrointestinal, cirugía en órganos parenquimatosos; intervenciones quirúrgicas otorrinolaringológicas, cirugía cardiovascular, cirugía estética, cirugía espinal, cirugía neurológica; fístulas linfáticas, biliares y cerebroespinales, fugas de aire durante la cirugía torácica y pulmonar, cirugía torácica, cirugía ortopédica; procedimientos quirúrgicos ginecológicos; cirugía vascular y cirugía de emergencia, resección hepática, y lesión o cirugía de tejidos blandos.

50 [0115] Otro aspecto de la invención se refiere a un proceso para la preparación del polvo de sellado biorreabsorbible según la invención, que comprende los pasos de:

55 (a) proporcionar partículas A que comprenden el polímero electrófilo soluble en agua y el dispersante soluble en agua;
(b) proporcionar partículas B que comprenden el reticulante nucleófilo soluble en agua, las partículas que absorben el agua y el dispersante soluble en agua;
(c) combinar las partículas A y las partículas B.

60 [0116] En el presente método de preparación, se evitan eficazmente las reacciones de reticulación prematuras entre, por un lado, el polímero electrófilo soluble en agua y, por otro lado, el reticulante nucleófilo soluble en agua y el polímero insoluble en agua que contiene grupos nucleófilos reactivos.

65 [0117] Las partículas A contienen preferiblemente un 20-90 % en peso del polímero electrófilo soluble en agua y un 10-80 % en peso del dispersante soluble en agua. Más preferiblemente, las partículas A contienen un 30-70 % en peso del polímero electrófilo soluble en agua y un 30-70 % en peso del dispersante soluble en agua. De

la manera más preferible, contienen un 40-60 % en peso del polímero electrófilo soluble en agua y un 40-60 % en peso del dispersante soluble en agua.

5 [0118] Juntos, el polímero electrófilo soluble en agua y el dispersante soluble en agua constituyen preferiblemente al menos el 60 % en peso, más preferiblemente al menos el 80 % en peso y, de la manera más preferible, al menos el 90 % en peso de las partículas A.

10 [0119] Las partículas A se preparan preferiblemente mediante aglomeración de partículas del polímero electrófilo soluble en agua y partículas del dispersante soluble en agua. La aglomeración se consigue preferiblemente por medio de granulación húmeda.

15 [0120] Las partículas B contienen preferiblemente un 5-20 % en peso del reticulante nucleófilo soluble en agua, un 25-60 % en peso de las partículas que absorben el agua y un 30-70 % en peso del dispersante soluble en agua. Más preferiblemente, las partículas B contienen un 6-18 % en peso del reticulante nucleófilo soluble en agua, un 30-50 % en peso de las partículas que absorben el agua y un 35-65 % en peso del dispersante soluble en agua. De la manera más preferible, las partículas B contienen un 8-15 % en peso del reticulante nucleófilo soluble en agua, un 35-45 % en peso de las partículas que absorben el agua y un 40-60 % en peso del dispersante soluble en agua.

20 [0121] Juntos, el reticulante nucleófilo soluble en agua, las partículas que absorben el agua y el dispersante soluble en agua constituyen preferiblemente al menos el 60 % en peso, más preferiblemente al menos el 80 % en peso y, de la manera más preferible, al menos el 90 % en peso de las partículas B.

25 [0122] Las partículas B se preparan preferiblemente mediante aglomeración de partículas del polímero nucleófilo soluble en agua, partículas de las partículas absorbentes insolubles en agua y partículas del dispersante soluble en agua. La aglomeración se consigue preferiblemente por medio de granulación húmeda.

30 [0123] La combinación de las partículas A y B se hace preferiblemente mediante mezcla simple o mediante granulación (para formar aglomerados).

35 [0124] En caso de que las partículas A y B se combinen mediante mezcla simple, las partículas A tienen preferiblemente un diámetro medio ponderado en volumen ($D_{[4,3]}$) en el intervalo de 25-300 μm , más preferiblemente en el intervalo de 80-250 μm , de la manera más preferible en el intervalo de 125-180 μm . En caso de mezcla simple, el diámetro medio ponderado en volumen ($D_{[4,3]}$) de las partículas B está preferiblemente en el intervalo de 25-300 μm , más preferiblemente en el intervalo de 80-250 μm , de la manera más preferible, en el intervalo de 125-180 μm .

40 [0125] Preferiblemente, las partículas A y las partículas B se combinan en aglomerados. Según una forma de realización especialmente preferida, las partículas A y las partículas B se combinan en los aglomerados mediante granulación húmeda. Más preferiblemente, las partículas A y las partículas B se combinan en aglomerados usando un líquido de granulación no acuoso que contiene al menos un 60 % en peso de un disolvente orgánico seleccionado de entre acetona, alcohol isopropílico, etanol, metanol, éter dietílico, heptano, hexano, pentano, ciclohexano, diclorometano y mezclas de estos. Más preferiblemente, el líquido de granulación no acuoso contiene al menos un 60 % en peso, de la manera más preferible al menos un 85 % en peso de un disolvente orgánico seleccionado de entre acetona, alcohol isopropílico, etanol y mezclas de estos. Incluso más preferiblemente, el líquido de granulación no acuoso contiene al menos un 60 % en peso, de la manera más preferible al menos un 85 % en peso de acetona.

50 [0126] En caso de que las partículas A y B se combinen por granulación, las partículas A tienen preferiblemente un diámetro medio ponderado en volumen ($D_{[4,3]}$) en el intervalo de 10-200 μm , más preferiblemente en el intervalo de 20-150 μm , de la manera más preferible en el intervalo de 25-120 μm . En caso de granulación, el diámetro medio ponderado en volumen ($D_{[4,3]}$) de las partículas B está preferiblemente en el intervalo de 10-200 μm , más preferiblemente en el intervalo de 20-150 μm , de la manera más preferible en el intervalo de 25-120 μm .

55 [0127] El líquido de granulación no acuoso contiene preferiblemente no más del 1 % en peso de agua, más preferiblemente no más del 0,1 % en peso de agua.

60 [0128] La cantidad de líquido de granulación no acuoso empleada en el presente método para combinar las partículas A y B está preferiblemente en el intervalo del 0,5-5 % en peso de la cantidad combinada de las partículas A y las partículas B. Más preferiblemente, la cantidad de líquido de granulación no acuoso empleada está en el intervalo del 1-4 %, de la manera más preferible del 1,5-3 % en peso de la cantidad combinada de las partículas A y las partículas B.

65 [0129] Otro aspecto más de la invención se refiere a un dispositivo para la aplicación de polvo que comprende:

- un depósito que contiene un polvo de sellado biorreabsorbible según la presente invención;
- una estructura tubular hueca alargada que tiene un extremo proximal y un extremo distal, donde el extremo distal tiene una salida de polvo, y el extremo proximal está conectado al depósito,
- una bomba de aire manual unida al depósito y configurada para producir un flujo de aire que transporta polvo desde el depósito a través de la estructura tubular hueca alargada a través de la salida de polvo.

[0130] Según una forma de realización preferida, el dispositivo comprende un filtro poroso dispuesto dentro del depósito entre la bomba de aire y la salida de polvo; y donde el polvo está dispuesto dentro del depósito entre el filtro y la salida de polvo, y donde la bomba está en comunicación de fluido con la salida de polvo a través del filtro poroso y a través del polvo. Preferiblemente, el filtro es impermeable al polvo que está contenido en el depósito.

[0131] Preferiblemente, la bomba de aire manual comprende un fuelle.

[0132] El polvo de sellado de la presente invención se puede aplicar ventajosamente en láminas hemostáticas para mejorar las propiedades adhesivas y hemostáticas de estas. Por consiguiente, otro aspecto de la invención se refiere a una lámina hemostática flexible biocompatible que comprende:

- una estructura portadora fibrosa cohesiva que comprende un espacio intersticial interconectado tridimensional; y
- el polvo de sellado biorreabsorbible según la presente invención;

donde el polvo de sellado se distribuye dentro del espacio intersticial y/o se fija sobre la estructura portadora fibrosa.

[0133] El polvo de sellado puede fijarse adecuadamente sobre la estructura portadora fibrosa mediante un adhesivo que comprende un agente de unión, preferiblemente un agente de unión sólido fundible. Los ejemplos de tales agentes de unión incluyen polvos con base de poliéster, polipropileno, acrílico o polietileno.

[0134] Según una forma de realización preferida, el polvo de sellado se distribuye dentro del espacio intersticial de la estructura de soporte fibrosa.

[0135] La estructura portadora fibrosa cohesiva de la lámina hemostática preferiblemente es resistente al agua.

[0136] Según una forma de realización particularmente preferida, la lámina hemostática de la presente invención es biorreabsorbible. La reabsorción de la estructura portadora y del polvo de sellado requiere típicamente una descomposición química (por ejemplo, hidrólisis) de los polímeros contenidos en ellos. La reabsorción completa de la lámina hemostática por el cuerpo humano se logra típicamente en 1 a 10 semanas, preferiblemente en 2 a 8 semanas.

[0137] La lámina hemostática de la presente invención tiene típicamente un grosor medio no comprimido de 0,5-25 mm. Más preferiblemente, el grosor medio no comprimido está en el intervalo de 1-10 mm, de la manera más preferible, en el intervalo de 1,5-5 mm.

[0138] Las dimensiones de la lámina hemostática son preferiblemente tales que la parte superior e inferior de la lámina tienen cada una un área superficial de al menos 2 cm², más preferiblemente de al menos 10 cm² y, de la manera más preferible, 25-50 cm². Típicamente, la lámina es de forma rectangular y tiene una longitud de 25-200 mm, y una anchura de 25-200 mm.

[0139] La lámina hemostática tiene preferiblemente una densidad no comprimida de menos de 200 mg/cm³, más preferiblemente inferior a 150 mg/cm³ y, de la manera más preferible, de 10-100 mg/cm³.

[0140] Preferiblemente, la lámina hemostática de la presente invención es esencialmente anhidra. Típicamente, la lámina hemostática tiene un contenido de agua de no más del 5 % en peso, más preferiblemente de no más del 2 % en peso y, de la manera más preferible, de no más del 1 % en peso.

[0141] La capacidad de absorción de agua de la lámina hemostática preferiblemente es de al menos 50 %, más preferiblemente está en el intervalo de 100 % a 800 %, de la manera más preferible, en el intervalo de 200 % a 500 %.

[0142] La lámina hemostática de la presente invención preferiblemente es estéril.

[0143] El uso de una estructura portadora fibrosa en la lámina hemostática de la presente invención ofrece la ventaja de que el polvo de sellado puede distribuirse homogéneamente a través de esta estructura portadora sin dificultad. Tal distribución homogénea es mucho más difícil de conseguir, por ejemplo, en estructuras portadoras de tipo alveolar.

[0144] Las fibras de la estructura portadora fibrosa tienen preferiblemente un diámetro medio de 1-500 μm , más preferiblemente de 2-300 μm y, de la manera más preferible, de 5-200 μm . El diámetro medio de las fibras se puede determinar adecuadamente usando un microscopio.

[0145] Típicamente, al menos el 50 % en peso, más preferiblemente al menos el 80 % en peso de las fibras de la estructura portadora fibrosa tienen un diámetro de 1-300 μm y una longitud de al menos 1 mm.

[0146] Preferiblemente, al menos el 50 % en peso, más preferiblemente al menos el 80 % en peso de las fibras de la estructura portadora fibrosa tienen una relación de aspecto (relación de longitud a diámetro) de al menos 1000.

[0147] La estructura portadora fibrosa que se emplea según la presente invención preferiblemente es una estructura de fieltro, una estructura de tejido plano o una estructura de punto. De la manera más preferible, la estructura portadora fibrosa es una estructura de fieltro. En este caso, el término "estructura de fieltro" se refiere a una estructura que se produce mediante la compactación y el prensado de fibras entre sí para formar un material cohesivo.

[0148] La estructura portadora fibrosa comprende preferiblemente al menos un 50 % en peso, más preferiblemente al menos un 80 % en peso y, de la manera más preferible, al menos un 90 % en peso de fibras que contienen un polímero fibroso seleccionado de entre gelatina, colágeno, celulosa, celulosa modificada, carboximetildextrano, PLGA (ácido poliláctico-co-glicólico), hialuronato de sodio/carboximetilcelulosa, alcohol polivinílico, quitosano y combinaciones de estos.

[0149] Según una forma de realización particularmente preferida, la estructura portadora fibrosa comprende al menos un 50 % en peso, más preferiblemente al menos un 80 % en peso y, de la manera más preferible, al menos un 90 % en peso de fibras que contienen gelatina y/o celulosa modificada. La gelatina empleada es preferiblemente gelatina reticulada. La celulosa modificada empleada es preferiblemente celulosa oxidada y, de la manera más preferible, celulosa regenerada oxidada.

[0150] En otra forma de realización preferida, la estructura portadora fibrosa comprende al menos un 50 % en peso, más preferiblemente al menos un 80 % en peso y, de la manera más preferible, al menos un 90 % en peso de fibras que contienen al menos un 80 % en peso del polímero o polímeros de fibras mencionados anteriormente.

[0151] Las estructuras portadoras fibrosas preferidas tienen una estructura de poros abiertos con una permeabilidad al aire de al menos $0,1 \text{ l/min} \times \text{cm}^2$, más preferiblemente de al menos $0,5 \text{ l/min} \times \text{cm}^2$. La permeabilidad al aire se determina según la norma EN ISO 9237:1995 (Textiles - Determination of the permeability of fabrics to air).

[0152] Las fibras de la estructura portadora fibrosa pueden fabricarse por medio de métodos conocidos en la técnica, tales como electrohilado, electrohilado por soplado e hilado por pulverizador rotatorio de alta velocidad. La producción de una estructura portadora fibrosa por medio de hilado por pulverizador rotatorio de alta velocidad se describe en la patente US 2015/0010612. También es posible usar láminas fibrosas hemostáticas disponibles en el mercado como la estructura portadora fibrosa.

[0153] El polvo de sellado está presente preferiblemente en la lámina hemostática de la presente invención en una cantidad del 5-90 %, más preferiblemente 10-80 %, incluso más preferiblemente 20-75 % y, de la manera más preferible, 50-70 %, en peso de la estructura portadora fibrosa.

[0154] Otro aspecto de la invención se refiere a un kit de componentes para la preparación de una suspensión de sellado biorreabsorbible, donde dicho kit comprende:

- un primer recipiente o compartimento que comprende un líquido biocompatible; y
- un segundo recipiente o compartimento que comprende el polvo de sellado biorreabsorbible de la presente invención.

[0155] Se puede preparar una suspensión biorreabsorbible usando el kit mencionado anteriormente mezclando el líquido biocompatible con el polvo de sellado. La suspensión así obtenida puede aplicarse ventajosamente, por ejemplo, para llenar y sellar cavidades pleurales o hemorragias.

[0156] El líquido biocompatible contiene preferiblemente uno o más líquidos biocompatibles seleccionados de entre polietilenglicol, propilenglicol, citrato de trietilo, poliglicerol, DMSO, glicerol, diacetina, triacetina, N-metilpirrolidona (NMP), agua y mezclas de estos. El polietilenglicol usado en la suspensión tiene preferiblemente un peso molecular de no más de 550 g/mol, más preferiblemente de no más de 450 g/mol.

[0157] El líquido biocompatible del presente kit puede contener adecuadamente agua. La presencia de agua en el líquido biocompatible permite la aparición de reacciones de reticulación entre el componente del polvo de sellado antes de aplicar la suspensión de sellado sobre el tejido. Estas reacciones iniciales de reticulación harán que la suspensión sea más viscosa y pegajosa, lo que facilita la aplicación de la suspensión sobre el tejido. El contenido de agua del líquido biocompatible está preferiblemente en el intervalo del 1-50 % en peso, más preferiblemente no excede el 2-30 % en peso y, de la manera más preferible, no excede el 3-10 % en peso.

[0158] El líquido biocompatible puede contener de manera adecuada agente reguladores del pH y/o agentes modificadores de la viscosidad, tales como ácido hialurónico, alginato, carboximetilcelulosa y combinaciones de estos.

[0159] Otro aspecto más de la presente invención se refiere a una suspensión de sellado biorreabsorbible que comprende:

- una fase líquida continua no acuosa biocompatible; y
- una fase dispersa que comprende el polvo de sellado biorreabsorbible según la presente invención.

[0160] La fase no acuosa de la suspensión de sellado contiene preferiblemente uno o más líquidos biocompatibles seleccionados de entre polietilenglicol, propilenglicol, citrato de trietilo, poliglicerol, DMSO, glicerol, diacetina, triacetina, N-metilpirrolidona (NMP) y mezclas de estos. El polietilenglicol usado en la suspensión tiene preferiblemente un peso molecular de no más de 550 g/mol, más preferiblemente de no más de 450 g/mol.

[0161] El contenido de agua de la fase no acuosa preferiblemente no supera el 3 % en peso, más preferiblemente no supera el 1 % en peso y, de la manera más preferible, no supera el 0,3 % en peso.

[0162] Además del polvo de sellado, la fase no acuosa puede incluir adecuadamente otros componentes, tales como agentes reguladores del pH y agentes modificadores de la viscosidad (por ejemplo, ácido hialurónico, alginatos y/o carboximetilcelulosa).

[0163] La suspensión de sellado contiene preferiblemente un 5-75 % en peso, más preferiblemente un 10-40 % en peso y, de la manera más preferible, un 15-30 % en peso del polvo de sellado.

[0164] Puesto que, con el tiempo, las partículas del polvo de sellado en la suspensión pueden comenzar a hundirse o flotar, puede ser necesario agitar o remover la suspensión antes de su uso.

[0165] La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos no limitativos.

EJEMPLOS

[0166] En general: siempre que no se mencione explícitamente la humedad residual (es decir, el agua residual en el polvo seco, granulado y/o estructuras portadoras fibrosas cohesivas) después del secado, los niveles están por debajo del 2,0 % p/p.

Preparación de NHS-POx

[0167] Se sintetizó terpolímero de poli[2-(etil/hidroxi-etil-amida-etil/NHS-éster-etil-éster-etil-amida-etil)-2-oxazolina] activado por la cadena lateral de NHS que contenía un 20 % de grupos NHS-éster (= EL-POx, 20 % de NHS) como sigue:

se sintetizó copolímero de poli[2-(etil/metoxi-carbonil-etil)-2-oxazolina] (GP = +/-100) por medio de CROP usando un 60 % de 2-etil-2-oxazolina (EtOx) y un 40 % de 2-metoxycarbonil-etil-2-oxazolina (MestOx). Se obtuvo un copolímero estadístico que contiene un 40 % de grupos 2-metoxycarbonil-etilo (RMN de ¹H).

[0168] En segundo lugar, el polímero que contenía un 40 % de grupos 2-metoxycarbonil-etilo se hizo reaccionar con etanolamina produciendo un copolímero con un 40 % de grupos 2-hidroxi-etil-amida-etilo (RMN de ¹H). Después de eso, la mitad de los grupos 2-hidroxi-etil-amida-etilo se hizo reaccionar con anhídrido succínico produciendo un terpolímero con un 60 % de grupos 2-etilo, un 20 % de grupos 2-hidroxi-etil-amida-etilo y un 20 % de grupos 2-carboxi-etil-éster-etil-amida-etilo según RMN de ¹H. Finalmente, los grupos 2-carboxi-etil-éster-etil-amida-etilo se activaron mediante N-hidroxisuccinimida (NHS) y diisopropilcarbodiimida (DIC), produciendo EL-POx, 20 % de NHS correspondiente a un grado de funcionalización de NHS (NHS-DF) del 100 %. La NHS-POx contenía un 20 % de grupos éster de NHS según RMN de ¹H.

[0169] Se disolvió NHS-POx a entre 2-8 °C en agua (60 g en 300 ml), se enfrió a menos 80 °C durante media hora y se liofilizó. El polvo liofilizado obtenido de este modo se secó en un Rotavap a 40 °C hasta que el contenido de agua estuvo por debajo del 0,8 % p/p según se determinó mediante valoración de Karl Fischer.

Este polvo seco (blanco) se trituró usando un molino de bolas (Retch MM400) hasta que el tamaño de partícula medio fue de no más de 40 μm (D [4,3]) y se selló al vacío en bolsas de aluminio.

Tinción de polvo de NHS-POx

[0170] Se disolvieron 31,25 mg del colorante Blue No. 1 (CAS 3844-45-9) en 500 ml de agua ultrapura fría usando un instrumento de dispersión de alto rendimiento (Ultra-Turrax, IKA). Después de la mezcla (5 minutos), se disolvieron 62,5 g de NHS-POx en la solución de FD&C usando una dispersión de alto rendimiento (Ultra-Turrax, IKA). Directamente después de la mezcla (5 minutos), la solución se congeló de manera instantánea y posteriormente se liofilizó. El polvo liofilizado obtenido de este modo se secó en un Rotavap a 40 °C hasta que el contenido de agua residual estuvo por debajo del 0,8 % p/p, determinado mediante valoración de Karl Fischer. A continuación, el polvo seco (azul) se trituró usando un molino de bolas (Retch MM400) hasta obtener un polvo de NHS-POx teñido de azul que tenía un tamaño de partícula medio de no más de 40 μm (D [4,3]) y se selló al vacío en bolsas de aluminio. La NHS-POx co-liofilizada se analizó usando espectroscopía de RMN de ^1H . Se disolvieron 15 mg de polvo co-liofilizado en dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO-}d_6$). La muestra se transfirió a un tubo de RMN y se registró el espectro de RMN de ^1H . A partir del espectro adquirido, se calcula la cantidad de NHS unido a NHS-POx: de media, el NHS-DF está entre el 90 % y el 100 %.

Preparación de NU-POx

[0171] Se sintetizó polioxazolina que contenía grupos etilo y amina en la cadena lateral de alquilo mediante CROP de EtOx y MestOx y la posterior amidación de las cadenas laterales de éster metílico con etilendiamina para producir un copolímero de poli(2-etil/aminoetilamidoetil-2-oxazolina) (NU-POx).

[0172] NU-POx contenía NH_2 al 10 %, según RMN de ^1H . Se disolvió NU-POx a entre 2-8 °C en agua (60 g en 300 ml), se enfrió a menos 80 °C durante media hora y se liofilizó. El polvo liofilizado obtenido de este modo se secó en un Rotavap a 40 °C hasta que el contenido de agua estuvo por debajo del 0,8 % p/p según se determinó mediante valoración de Karl Fischer. Este polvo seco se molió en un molino de corte (Retsch GM200) hasta que el tamaño medio de partícula fue de no más de 100 μm (D [4,3]) y se selló al vacío en bolsas de aluminio.

Preparación de mezclas de NHS-POx / azúcar por co-liofilización (proceso A1)

[0173] Los polvos de NHS-POx/azúcar co-liofilizados se prepararon como sigue:

Se disolvieron 15 g de azúcar en 200 ml de agua ultrapura fría usando un instrumento de dispersión de alto rendimiento (Ultra-Turrax, IKA). Posteriormente, después de la mezcla (3 minutos) se disolvieron 15 g de NHS-POx teñida de azul en la mezcla de azúcar usando un instrumento de dispersión de alto rendimiento (Ultra-Turrax, IKA). Directamente después de la mezcla (3 minutos), la solución se congeló en nitrógeno líquido y se liofilizó.

[0174] El polvo liofilizado se secó en un Rotavap a 40 °C hasta que el contenido de agua residual estuvo por debajo del 0,8 % p/p, según se determinó mediante valoración de Karl Fischer. Este polvo seco se trituró en un molino de corte hasta que el tamaño de partícula fue no superior a 63 μm y se selló al vacío en bolsas de aluminio. El co-liofilizado de NHS-POx/azúcar (1:1 p/p) se analizó usando espectroscopía de RMN de ^1H : Se disolvieron 15 mg de polvo co-liofilizado en dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO-}d_6$). La muestra se transfirió a un tubo de RMN y se registró el espectro de RMN de ^1H . A partir del espectro adquirido, el NHS-DF se calculó y fue, de media, de entre el 85 % y el 100 %.

Preparación de granulado de NHS-POx / azúcar (proceso A2)

[0175] El granulado de NHS-POx/azúcar se preparó como sigue:

Se añadieron a un mortero 23 g de NHS-POx/azúcar co-liofilizado según el proceso A1. Posteriormente, se añadieron lentamente 10 ml de acetona:agua (95:5 v/v) en porciones de 1 ml, durante la mezcla. El granulado se secó a presión reducida durante 1 hora en un Rotavap a 40 °C y se molió durante 10 segundos en un molino de corte. El granulado molido se secó de nuevo a presión reducida hasta que el contenido de acetona fue inferior al 0,2 % y el contenido de agua inferior al 0,8 %, según se determinó por medio de RMN de ^1H y valoración de Karl Fischer.

[0176] El granulado seco se molió de nuevo hasta que el tamaño de partícula estuvo en el intervalo deseado (véase más adelante) y se selló al vacío en bolsas de aluminio.

[0177] El granulado de NHS-POx/azúcar (1:1 p/p) se analizó usando espectroscopía de RMN de ^1H : se disolvieron 25 mg de granulado en dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO-}d_6$) que contenía ácido maleico (3 mg/ml) como patrón interno (1,0 ml), se transfirió a un tubo de RMN y se registró un espectro de RMN de ^1H . A partir del espectro adquirido, el NHS-DF se calculó y fue, de media, de entre el 85 % y el 100 %.

Preparación de granulado de NU-POx / gelfoam / azúcar (proceso B1)

[0178] 0,2 g de NU-POx, 0,8 g de gelfoam (a menos que se indique lo contrario: polvo GELITA-SPON, de Gelita Medical AG, Alemania) y 0,8 g de azúcar se pesaron y colocaron en un mortero. Los excipientes se granularon con agua ultrapura al 50 % p/p. El granulado húmedo se secó en un horno a 70 °C hasta que el contenido de agua fue inferior al 0,5 %, según se determinó mediante valoración de Karl Fischer. El granulado seco se molió hasta que tuvo el intervalo de tamaño de partícula deseado (véase más adelante). La reactividad del granulado puede controlarse ajustando el pH a 9,5 con NaOH o a 9,2 usando un tampón de borato, antes del secado.

Preparación de granulado de NU-POx / gelfoam / azúcar / tensioactivo (proceso B2)

[0179] El granulado de NU-POx/gelfoam/azúcar se preparó como se describe en el proceso B1 con la adición de tensioactivo disuelto en agua ultrapura usada para la granulación, lo que lleva a un 0,10-0,50 % p/p de tensioactivo en el granulado final que contiene NHS-POx/azúcar y NU-POx/gelfoam/azúcar.

Preparación de mezcla de polvos de azúcar de NHS-POx / NU-POx / gelfoam / azúcar / tensioactivos (proceso C1)

[0180] Se preparó una mezcla de polvos como sigue:

Se añadieron polvo de azúcar de NHS-POx (proceso A2, tamaño de partícula según se desee) y granulado de NU-POx/gelfoam/azúcar/tensioactivo (proceso B1 o B2, tamaño de partícula según se desee) en una relación en peso de 1:1 en un vial y se mezclaron por agitación y se sellaron al vacío en bolsas de aluminio.

Preparación de mezcla de polvos de azúcar NHS-POx / NU-POx / gelfoam / azúcar / tensioactivos (proceso C2)

[0181] Se preparó una mezcla de polvos como sigue:

Se añadieron polvo de azúcar de NHS-POx (proceso A1, tamaño de partícula <63 µm) y granulado de NU-POx/gelfoam/azúcar/tensioactivo (proceso B1 o B2, tamaño de partícula según se desee) a un mortero en una relación en peso de 1:1 y se mezclaron en seco y se sellaron al vacío en bolsas de aluminio.

Preparación de granulado de azúcar de NHS-POx / NU-POx / gelfoam / azúcar / tensioactivo (proceso C3).

[0182] El granulado se preparó como sigue: se introdujeron granulado de azúcar NHS-POx (proceso A2, tamaño de partícula <63 µm) y granulado de NU-POx/gelfoam/azúcar/tensioactivo (proceso B2, tamaño de partícula <63 µm) en un mortero en una relación en peso de 1:1. Posteriormente, en total se añadió 1 ml/g de acetona en porciones de 1 ml durante la molienda y la mezcla.

[0183] El granulado así obtenido se secó a presión reducida hasta que el contenido de acetona fue inferior al 0,2 %, según se determinó por medio de RMN de ¹H. El granulado seco se trituroó en un mortero hasta que el tamaño de partícula estuvo entre 125 - 180 µm y se selló al vacío en bolsas de aluminio.

[0184] El granulado de NHS-POx/azúcar (1:1) se analizó usando espectroscopía de RMN de ¹H. Se disolvieron 25 mg de granulado en dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d₆) que contenía ácido maleico (3 mg/ml) como patrón interno (1,0 ml), se transfirieron a un tubo de RMN y se registró un espectro de RMN de ¹H. A partir del espectro adquirido, el NHS-DF se calculó y fue, de media, de entre el 85 % y el 100 %.

Molienda y tamizado

[0185] La molienda se realizó con un mortero o un molino de corte (Retsch GM 200). Se tamizó para obtener fracciones con tamaños de partícula y distribuciones de tamaño de partícula deseados. Para ello se utilizó una tamizadora Retsch AS 200 con tamices de los siguientes tamaños: 45 µm, 63 µm, 90 µm, 125 µm, 180 µm, 250 µm y 500 µm. Para obtener el tamaño de partícula deseado, los polvos se molieron y tamizaron; al obtener muestras de las fracciones de tamizado deseadas, se obtuvieron intervalos de tamaño de partícula de polvo adecuados.

Aplicación de polvos sobre hemorragias por heridas hechas con sacabocados, hemorragias por abrasión y lesiones pulmonares

[0186] Hemorragias por heridas hechas con sacabocados (por vial): una cantidad de polvo contenido en un vial cerrado con un diámetro de 15 mm. El polvo se aplicó vertiéndolo desde el vial directamente sobre la hemorragia por herida hecha con sacabocados.

[0187] Una vez que se logró una cobertura adecuada de la hemorragia, se aplicó presión con una gasa humedecida con NaCl al 0,9 % durante 1 minuto y se retiró cuidadosamente la gasa húmeda.

[0188] Abrasiones (por fuelle): se aplicó una cantidad de polvo por medio de un aplicador de fuelle con un tubo aplicador de 80 mm de longitud. El polvo se aplicó soplando el polvo formando nubes directamente sobre la lesión (abrasión) y se evaluó la eficacia hemostática después de 1 minuto. Cuando no se logró una cobertura hemostática (total) del área de abrasión, se aplicó una presión adicional con gasa humedecida con NaCl al 0,9 % durante 1 minuto y se retiró cuidadosamente la gasa húmeda.

[0189] Lesión pulmonar: se aplicó polvo manualmente a la superficie pulmonar en un cuadrado de 5x5 cm que rodeaba el defecto estandarizado. Una vez que se logró una cobertura homogénea, se aplicó presión con una gasa humedecida con NaCl al 0,9 % durante 2 minutos, mientras que la posición de la mano se ajustó después de 1 minuto para evitar irregularidades en el hidrogel final y se retiró cuidadosamente la gasa húmeda.

Experimentos sobre la hemostasia y el sellado

[0190] Se usaron modelos porcinos de hemorragia *ex vivo* e *in vivo* estandarizados para evaluar la eficacia hemostática. En todos los modelos se usó heparina para aumentar el tiempo de coagulación de la sangre a aproximadamente 2 a 3 veces el tiempo de coagulación activada (ACT).

[0191] Modelo *ex vivo*: Modelo de cerdo *ex vivo* con hígado recién obtenido, perfundido con sangre fresca heparinizada del matadero para imitar al máximo posible las situaciones reales *in vivo*. Los hígados se montan en una máquina de perfusión mediante la cual la oxigenación, el pH de la sangre, la temperatura y la presión sanguínea se mantienen dentro de los límites reales *in vivo*. Se recogen del matadero dos hígados y 10 litros de sangre heparinizada (5000 unidades/l). Los hígados se transportan en hielo; la sangre, a temperatura ambiente. En el plazo de dos horas tras la recogida, se inspeccionan los hígados para detectar lesiones, que se cierran con guantes y pegamento de cianoacrilato.

- Parámetros de perfusión: flujo 600 ml/min; presión 10-12 mmHg; temperatura 37 °C (+/- 1 °C); carbógeno 0,25 litros por minuto;
- con un sacabocados de biopsia se crea una herida de hemorragia circular (8 mm de diámetro) en la superficie del hígado, con un recubrimiento de caucho de modo que la profundidad de la hemorragia perforada sea siempre de 3 mm o, alternativamente, se crean lesiones por abrasión (3x3 cm) (profundidad aproximada de 1 mm) empleando papel de lija.
- después de que el hígado se perfunda adecuadamente (se comprueban el color y la temperatura), las muestras se analizan según el siguiente procedimiento: encendido de la cámara; número de sitio en la cámara; sacabocados de biopsia de 8 mm; corte de la biopsia; retirada de sangre de la hemorragia con gasa (2x); recogida de sangre durante 30 segundos en una gasa previamente pesada; puntuación de la hemorragia;
- se aplica polvo hemostático en el sitio de la hemorragia (herida hecha con sacabocados o abrasiones) y, en caso de hemorragia por herida hecha con sacabocados, se usa una gasa humedecida (con solución salina) para distribuir el polvo y se aplica presión durante un minuto;
- observación y puntuación del sellado y de la hemostasia.

[00192] Modelo *in vivo*: Se inflige una rotura de bazo penetrante combinada estandarizada a cerdos anestesiados (cerdo doméstico, macho, intervalo de peso corporal: 40 kg-100 kg, adulto). Se realiza una laparotomía en la línea media para acceder al bazo y a otros órganos. Utilizando un bisturí, n=3 se realizan lesiones estandarizadas subcapsulares (10 mm × 10 mm). Los polvos hemostáticos se aplican con presión suave mediante una gasa previamente humedecida (con solución salina) y se mantienen durante 1 minuto, después de lo cual se puntúan el sellado y la hemostasia.

Experimentos de sellado

[0193] Se usó un modelo estandarizado *ex vivo* ventilado de pulmón porcino para evaluar las capacidades de sellado en ausencia de sangre, más específicamente, la eficacia aerostática.

[0194] Modelo *ex vivo*: se obtuvieron del matadero especímenes cardiopulmonares porcinos recién extraídos y se transportaron hasta el laboratorio en hielo. Después de retirar todo el exceso de tejido, de ligar la arteria pulmonar principal y suturar los restos de la aurícula izquierda, los lóbulos caudales se intubaron y ventilaron selectivamente después del reclutamiento alveolar usando maniobras de inflado manual y reclutamiento manual.

[0195] En la configuración experimental, los pulmones flotaban en NaCl al 0,9 % (37 °C) y se grabaron desde abajo para la evaluación visual de fugas. Se llevó a cabo un protocolo de medición bajo presiones de ventilación meseta crecientes (Pplat) durante cada medición. Los ajustes del ventilador mecánico fueron ventilación con control de presión, frecuencia respiratoria 12/min, relación inspiratoria a espiratoria 1:2, presión positiva al final de la espiración (PEEP) de 5 cm H₂O, presión por encima de PEEP 5 cm H₂O. Cada 90 segundos, la presión por encima de PEEP se aumentó con 5 cm de H₂O hasta una pplat de 40 cm H₂O.

- En primer lugar, se hizo una medición de referencia con este protocolo de medición, para realizar una medición de conformidad.
- A continuación, con el pulmón inflado a una PEEP de 10 cm H₂O, se creó un defecto pleural superficial estandarizado de 25x25 mm en la cara dorsal del lóbulo caudal, cortando los bordes pleurales usando un accesorio de rueda de lijado en una Dremel a un ángulo de 45° y luego despegando con cuidado la pleura central usando pinzas y tijeras. Se realizó entonces una medición de fuga de referencia con el mismo protocolo.
- A continuación, se aplicó polvo de sellado manualmente a la superficie pulmonar en un cuadrado de 5x5 cm que rodeaba el defecto estandarizado con el pulmón inflado a una PEEP de 0-5 cm H₂O (si se fugaba aire a través del polvo seco, se reducía la velocidad de la PEEP hasta que se resolviera). Una vez que se logró una cobertura homogénea, se aplicó presión con una gasa humedecida con NaCl al 0,9 % durante 2 minutos, ajustando la posición de la mano después de 1 minuto para evitar irregularidades en el hidrogel final. Después de retirar cuidadosamente la gasa, se deja reposar el hidrogel durante otros 5 minutos en la configuración de medición (NaCl al 0,9 %, 37 °C)
- Se midió la fuga cuantitativa (Pplat) y se evaluó visualmente el modo de fallo basándose en Macchiarini et al. (J. ImmunolMacchiarini P, Wain J, Almy S, Darteeville P. Experimental and clinical evaluation of a new synthetic, absorbible sealant to reduce air fugues in thoracic operations. 1999; 117(4):751-8).

[0196] Sistema de puntuación del sellado para polvos en hemorragias (basado en la evaluación de la adhesión y cohesión 1 minuto después de la aplicación):

- +++ Sellado muy fuerte (el sellado se rompe solamente cuando se retira más del 80 % en peso del polvo mediante raspado)
- ++ Sellado fuerte (el sellado se rompe cuando parte del polvo se retira por raspado)
- + Buen sellado (el sellado se rompe cuando el polvo se manipula mecánicamente)
- +/- sellado moderado (el sellado se rompe cuando se manipula el tejido circundante)
- no se consigue ningún sellado

[0197] Sistema de puntuación de la hemostasia para polvos en hemorragias 1 minuto después de la aplicación:

- +++ hemostasia muy fuerte (el polvo solo se llena de sangre en la interfaz polvo-lesión; se detiene la hemorragia)
- ++ Hemostasia fuerte (el polvo se llena parcialmente de sangre. Una capa de polvo, libre de sangre, está presente en la parte superior; se detiene la hemorragia)
- + Buena hemostasia (el polvo se llena completamente de sangre; se detiene la hemorragia)
- +/- hemostasia moderada (el polvo se llena completamente de sangre y parte de la sangre se sale)
- No se logra hemostasia (no se detiene la hemorragia)

[0198] Las puntuaciones de humectación para los polvos en las hemorragias se determinan después de que se haya aplicado una gasa impregnada con solución salina (NaCl al 0,9 %) durante 1 minuto antes de su retirada (la humectación se puntúa 4 minutos después de la retirada de la gasa determinando la profundidad de penetración en la capa de polvo):

- La solución salina apenas se ha absorbido por la capa de polvo y solo la superficie de la capa de polvo está húmeda, y las gotitas de solución salina ruedan fácilmente por la superficie del polvo hasta salirse de esta
- +/- La solución salina ha penetrado parcialmente en la capa de polvo
- + La solución salina ha penetrado completamente en la capa de polvo

Ejemplo Comparativo A

[0199] Se mezcló en seco por co-trituración (con mortero) EL-POx con gelfoam solo (EL-POx: gelfoam = 1:0,8 p/p) o con gelfoam y NU-POx (EL-POx: gelfoam: Nu-POx = 1:0,8:0,2 p/p). La densidad compactada de ambos polvos era inferior a 0,2 g/ml.

[0200] Las propiedades de sellado y hemostáticas de estos dos polvos y de dos polvos hemostáticos disponibles en el mercado se analizaron en el sistema de hígado de cerdo (heparinizado) *ex vivo*. Los polvos se aplicaron en una cantidad de 1 gramo.

[0201] Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1

Polvo	Sellado	Hemostasia	Humectación
NHS-POx + gelfoam ¹	-	+/-	+/-
NHS-POx + gelfoam ¹ + NU-POx	-	+/-	+/-

Almidón ²	-	-	++
Gelfoam ¹	-	-	+/-
¹ Polvo GELITA-SPON®, Gelita Medical AG, Alemania			
² Arista AH, Bard, EE			

Ejemplo 2

[0202] Se preparó una mezcla de polvos (mezcla de polvos 1) por medio del proceso C2 usando un polvo obtenido por el proceso A1 (EL-POX: azúcar = 1:1 p/p) y un polvo obtenido por el proceso B1. En ambos polvos se usó trehalosa como componente de azúcar. Se preparó una mezcla de polvos con la misma composición (mezcla de polvos 2) por medio del proceso C1 usando un polvo obtenido por el proceso A2 (EL-POX: azúcar = 1:1 p/p, granulado usando acetona/agua (95:5) como líquido de granulación) y un polvo obtenido por el proceso B1.

[0203] Las propiedades de sellado y hemostáticas de estos dos polvos de sellado se analizaron en un sistema de hígado de cerdo (heparinizado) *ex vivo*. Los polvos se aplicaron en una cantidad de 0,5 gramos.

[0204] Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 2.

Tabla 2

Polvo	Tamaño de partícula (µm)	Sellado	Hemostasia	Humectación
Mezcla de polvos 1	<63	+/-	+/-	+
Mezcla de polvos 2	63-125	+	+	+

Ejemplo 3

[0205] Se prepararon tres mezclas de polvos diferentes por medio del proceso C1 usando un polvo obtenido por el proceso A2 (EL-POX: azúcar = 1:1 p/p) y tres polvos diferentes obtenidos por el proceso B1. En todos los polvos se usó trehalosa como el componente de azúcar.

[0206] Las tres mezclas de polvos diferían únicamente en que los polvos obtenidos mediante el proceso B1 contenían diferentes cantidades de NU-POx:

	Relación en peso de NU:POx:gelfoam:azúcar en polvo obtenido por el proceso B1
Mezcla de polvos 1	2:8:8
Mezcla de polvos 2	1:8:8
Mezcla de polvos 3	3:8:8

[0207] Las propiedades de sellado y hemostáticas de estos dos polvos de sellado se analizaron en un sistema de hígado de cerdo (heparinizado) *ex vivo*. Los polvos se aplicaron en una cantidad de 0,5 gramos.

[0208] Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3

Polvo	Tamaño de partícula (µm)	Sellado	Hemostasia	Humectación
Mezcla de polvos 1	63-125	+	+	+
Mezcla de polvos 2	63-125	-	+/-	+
Mezcla de polvos 3	63-125	+	+	+

Ejemplo 4

[0209] Se prepararon dos polvos diferentes mezclando 1 parte en peso de polvo de NHS-POx (sin azúcar) con 2 partes en peso de un polvo obtenido mediante el proceso B1 y que contenía trehalosa o 1 parte en peso de un polvo obtenido mediante el proceso B1 que no contenía ningún azúcar.

[0210] Las composiciones de los polvos obtenidos por el proceso B1 fueron las siguientes:

	Relación en peso de NU:POx : gelfoam : azúcar en polvo obtenido por el proceso B1
Mezcla de polvos 1	2:8:8
Mezcla de polvos 2	2:8:0

[0211] Las propiedades de sellado y hemostáticas de estos dos polvos de sellado se analizaron en un sistema de hígado de cerdo (heparinizado) *ex vivo*. Los polvos se aplicaron en una cantidad de 0,5 gramos usando un aplicador de fuelle (Surgicel®).

5 [0212] Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 4.

Tabla 4

Polvo	Tamaño de partícula (µm)	Sellado	Hemostasia	Humectación
Mezcla de polvos 1	125-180	+/-	+/-	+/-
Mezcla de polvos 2	Aprox. 500	-	+/-	-

10 [0213] La mezcla de polvos 1 se pudo aplicar fácilmente por medio del aplicador de fuelle. Sin embargo, la mezcla de polvos 2 fue difícil de aplicar porque las partículas de polvo estaban demasiado sueltas. Para permitir la comparabilidad de las propiedades de sellado, hemostasia y humectación, en este experimento se aplicó la mezcla de polvos 2 con un tubo.

Ejemplo 5

15

[0214] Se prepararon cinco mezclas de polvos diferentes por medio del proceso C1 usando un polvo obtenido por el proceso A2 (EL-POX: azúcar = 1:1 p/p) y cinco polvos diferentes obtenidos por el proceso B1. En todos los polvos se usó trehalosa como el componente de azúcar.

20 [0215] Las cinco mezclas de polvos diferentes diferían únicamente en que los polvos obtenidos mediante el proceso B1 contenían diferentes cantidades de trehalosa:

	Relación en peso de NU:POx : gelfoam : azúcar en polvo obtenido por el proceso B1
Mezcla de polvos 1	2:8:8
Mezcla de polvos 2	2:8:2
Mezcla de polvos 3	2:8:4
Mezcla de polvos 4	2:8:12
Mezcla de polvos 5	2:8:16

25 [0216] Las propiedades de sellado y hemostáticas de estos dos polvos de sellado se analizaron en un sistema de hígado de cerdo (heparinizado) *ex vivo*. Los polvos se aplicaron en una cantidad de 0,5 gramos usando un aplicador de fuelle.

[0217] Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 5.

30

Tabla 5

Polvo	Tamaño de partícula (µm)	Sellado	Hemostasia	Humectación
Mezcla de polvos 1	125-180	+	+	+
Mezcla de polvos 2	125-180	-	+/-	-
Mezcla de polvos 3	125-180	+/-	+	-/+
Mezcla de polvos 4	125-180	+/-	+	+
Mezcla de polvos 5	125-180	+/-	+/-	+

[0218] Las mezclas de polvos 1, 3, 4 y 5 pudieron aplicarse fácilmente con un aplicador de fuelle. La mezcla de polvos 2 fue menos fácil de aplicar porque las partículas estaban bastante sueltas.

Ejemplo 6

35

[0219] Se prepararon tres mezclas de polvos diferentes por medio del proceso C1 usando un polvo obtenido por el proceso A2 (EL-POX: azúcar = 1:1 p/p) y tres polvos diferentes obtenidos por el proceso B1. Los tres polvos diferentes obtenidos por el proceso B1 solo diferían en el tipo de azúcar que se usó. En todos los casos, NU-POx, gelfoam y azúcar estaban presentes en el polvo del proceso B en una relación en peso de 2:8:8.

40

	Tipo de azúcar utilizado
Mezcla de polvos 1	Trehalosa
Mezcla de polvos 2	Manitol
Mezcla de polvos 3	Dextrano 40

[0220] Las propiedades de sellado y hemostáticas de estos dos polvos de sellado se analizaron en un sistema de hígado de cerdo (heparinizado) *ex vivo*. Los polvos se aplicaron en una cantidad de 0,5 gramos.

[0221] Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 6.

Tabla 6

Polvo	Tamaño de partícula (µm)	Sellado	Hemostasia	Humectación
Mezcla de polvos 1	125-180	+	+	+
Mezcla de polvos 2	125-180	+	+	+
Mezcla de polvos 3	125-180	+/-	+	+

Ejemplo 7

[0222] Se prepararon cuatro mezclas de polvos diferentes por medio del proceso C1 usando un polvo obtenido por el proceso A2 (EL-POX: azúcar = 1:1 p/p), un polvo obtenido por el proceso B1 y tres polvos diferentes obtenidos por el proceso B2. Los tres polvos diferentes obtenidos mediante el proceso B2 diferían en la cantidad de tensioactivo (Pluronic F-127) que se usó. En todos los polvos se aplicó trehalosa como el componente de azúcar.

	% en peso de Pluronic F-127
Mezcla de polvos 1	0
Mezcla de polvos 2	0,1
Mezcla de polvos 3	1,0
Mezcla de polvos 4	3,0

[0223] Las propiedades de sellado y hemostáticas de estos dos polvos de sellado se analizaron en un sistema de hígado de cerdo (heparinizado) *ex vivo*. Los polvos se aplicaron en una cantidad de 0,5 gramos.

[0224] Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 7.

Tabla 7

Polvo	Tamaño de partícula (µm)	Sellado	Hemostasia	Humectación
Mezcla de polvos 1	63-125	+	+	+
Mezcla de polvos 2	63-125	++	++	++
Mezcla de polvos 3	63-125	++	++	++
Mezcla de polvos 4	63-125	++	++	++

Ejemplo 8

[0225] Se repitió el Ejemplo 7, excepto que esta vez se usó dodecilsulfato sódico (SDS) como tensioactivo.

	% en peso de SDS
Mezcla de polvos 1	0
Mezcla de polvos 2	0,1
Mezcla de polvos 3	1,0
Mezcla de polvos 4	3,0

[0226] Las propiedades de sellado y hemostáticas de estos dos polvos de sellado se analizaron en un sistema de hígado de cerdo (heparinizado) *ex vivo*. Los polvos se aplicaron en una cantidad de 0,5 gramos.

[0227] Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 8.

Tabla 8

Polvo	Tamaño de partícula (µm)	Sellado	Hemostasia	Humectación
Mezcla de polvos 1	63-125	+	+	+
Mezcla de polvos 2	63-125	++	++	++
Mezcla de polvos 3	63-125	++	++	++
Mezcla de polvos 4	63-125	++	++	++

Ejemplo 9

[0228] Se repitió el Ejemplo 7, excepto que esta vez se usó Poloxámero P-188 como tensioactivo.

	% en peso de Poloxámero P-188
Mezcla de polvos 1	0

Mezcla de polvos 2	0,1
Mezcla de polvos 3	1,0
Mezcla de polvos 4	3,0

[0229] Las propiedades de sellado y hemostáticas de estos dos polvos de sellado se analizaron en un sistema de hígado de cerdo (heparinizado) *ex vivo*. Los polvos se aplicaron en una cantidad de 0,5 gramos.

5 [0230] Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 9.

Tabla 9

Polvo	Tamaño de partícula (µm)	Sellado	Hemostasia	Humectación
Mezcla de polvos 1	63-125	+	+	+
Mezcla de polvos 2	63-125	++	++	++
Mezcla de polvos 3	63-125	++	++	++
Mezcla de polvos 4	63-125	++	++	++

Ejemplo 10

10

[0231] Se prepararon tres mezclas de polvos diferentes por medio del proceso C1 usando un polvo obtenido por el proceso A2 (EL-POX: azúcar = 1:1 p/p) y tres polvos diferentes obtenidos por el proceso B1. Los tres polvos obtenidos por el proceso B2 se diferenciaban en que contenían diferentes tipos de gelfoam.

	Gelfoam
Mezcla de polvos 1	Polvo GELITA-SPON ¹
Mezcla de polvos 2	Polvo Cutanplast ²
Mezcla de polvos 3	Polvo Surgispon ³
¹ Gelita Medical AG, Alemania	
² Mascia Brunelli S.p.a Italia	
³ Aegis Lifesciences PVT Ltd, India	

15

[0232] Las propiedades de sellado y hemostáticas de estos polvos de sellado se analizaron en un sistema de hígado de cerdo (heparinizado) *ex vivo*. Los polvos se aplicaron en una cantidad de 1,0 gramos.

[0233] Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 10.

20

Tabla 10

Polvo	Tamaño de partícula (µm)	Sellado	Hemostasia	Humectación
Mezcla de polvos 1	63-125	+	+	+
Mezcla de polvos 2	63-125	+	+	+
Mezcla de polvos 3	63-125	+	+	+

Ejemplo 11

25

[0234] Se prepararon diferentes mezclas de polvos por medio del proceso C1 usando un polvo obtenido por el proceso A2 (EL-POX: azúcar = 1:1 p/p) y un polvo obtenido por el proceso B1. En todos los polvos se aplicó trehalosa como el componente de azúcar. El tamaño de partícula de los polvos se varió como se muestra en la Tabla 11.

30

[0235] Las propiedades de sellado y hemostáticas de estos polvos de sellado se analizaron en un sistema de hígado de cerdo (heparinizado) *ex vivo*. Los polvos se aplicaron en una cantidad de 0,5 gramos.

[0236] Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 11.

35

Tabla 11

Polvo	Tamaño de partícula (µm)	Sellado	Hemostasia	Humectación
Mezcla de polvos 1	63 - 125	+	+	+
Mezcla de polvos 2	125 - 250	+	+	+
Mezcla de polvos 3	250 - 500	-	-	+
Mezcla de polvos 4	63 - 90	+	+	+
Mezcla de polvos 5	90 - 125	++	++	+
Mezcla de polvos 6	125 - 180	++	++	+
Mezcla de polvos 7	180 - 250	+	+-	+

Ejemplo 12

[0237] Se prepararon diferentes mezclas de polvos por medio del proceso de mezcla de polvos C1 o C2, o por el proceso de granulación C3, usando un polvo obtenido por el proceso A1 o A2 (EL-POX: azúcar = 1:1 p/p), y un polvo obtenido por el proceso B2.

	Partículas que contienen NHS-POx	Partículas que contienen NU-POx	Combinación de polvos
Mezcla de polvos 1	Proceso A1	Proceso B2	Proceso C2
Mezcla de polvos 2	Proceso A2	Proceso B2	Proceso C1
Mezcla de polvos 3	Proceso A2	Proceso B2	Proceso C3

[0238] En todos los polvos se aplicó trehalosa como el componente de azúcar.

[0239] Las propiedades de sellado y hemostáticas de estos dos polvos de sellado se analizaron en un sistema de hígado de cerdo (heparinizado) *ex vivo*. Los polvos se aplicaron en una cantidad de 0,5 gramos.

[0240] Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 12

Tabla 12

Polvo	Tamaño de partícula (µm)	Sellado	Hemostasia	Humectación
Mezcla de polvos 1	<63	+	+/-	+
Mezcla de polvos 2	125-180	++	++	+
Granulado 3	125-180	+++	+++	+

Ejemplo 13

[0241] Se realizaron ensayos en bazo porcino (heparinizado) *in vivo* usando mezclas en polvo (0,5 gramos) que se prepararon por medio del proceso C1 usando un polvo obtenido por el proceso A2 (EL-POX: azúcar = 1:1 p/p) y un polvo obtenido por el proceso B1. En todos los polvos se aplicó trehalosa como el componente de azúcar. Los polvos solo diferían en el tamaño de partícula. Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 13.

Tabla 13

Polvo	Tamaño de partícula (µm)	Sellado	Hemostasia	Humectación
Mezcla de polvos 1	90 - 125	+	+	+
Mezcla de polvos 2	125-180	++	+	+

Ejemplo 14

[0242] El rendimiento de las mezclas de polvos del Ejemplo 12 también se evaluó en el ensayo en bazo (heparinizado) *in vivo* usando 0,5 gramos de mezcla de polvos. Los resultados se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14

Polvo	Tamaño de partícula (µm)	Sellado	Hemostasia	Humectación
Mezcla de polvos 1	90 - 125	+	+	+
Mezcla de polvos 2	125-180	++	+	+

Ejemplo 15

[0243] Se realizaron ensayos en hígados porcinos (heparinizados) *ex vivo* que tenían lesiones por abrasión (3 x 3 cm). Los polvos de sellado usados (1 gramo) se prepararon mediante el proceso de mezclado en seco C1 (mezcla de polvos 1) o el proceso de granulación C3 (granulado 2). En ambos casos se usaron un polvo obtenido mediante el proceso A2 y un polvo obtenido mediante el proceso B2. Los polvos se administraron usando un aplicador de fuelle. En todos los polvos se aplicó trehalosa como el componente de azúcar.

[0244] Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 15.

Tabla 15

Polvo	Tamaño de partícula (µm)	Sellado	Hemostasia	Humectación
Mezcla de polvos 1	125-180	++	++	+
Granulado 2	125-180	+++	++	+

Ejemplo 16

[0245] Las propiedades de sellado de los polvos de sellado en ausencia de sangre se evaluaron en el modelo de pulmón ventilado *ex vivo* descrito anteriormente en el presente documento. Después de la aplicación del polvo de sellado, se registró la presión a la que comenzó la fuga.

[0246] Los polvos de sellado analizados se obtuvieron bien mezclando en seco (proceso C1) o bien granulando (proceso C3) un polvo que contenía NHS-POx y un polvo que contenía NU-POx. El polvo que contenía NHS-POx consistía en NHS-POx o era un granulado de NHS-POx y trehalosa que se había obtenido mediante el proceso A2. El polvo que contenía NU-POx era un granulado que contenía además gelfoam y trehalosa y que se obtuvo mediante el proceso B1 o B2.

[0247] Los resultados de los ensayos se resumen en la Tabla 16.

Tabla 16

Polvo	Tamaño de partícula (µm)	Relación en peso NHS-POx: trehalosa	% en peso de tensioactivo ¹	Gramos aplicados	Presión de fuga (Pplat)
Mezcla de polvos 1	63-125	1:0	0	3,0	3
Mezcla de polvos 2	63-125	1:0	0	3,0	8
Mezcla de polvos 3	63-125	1:1	0	3,0	20
Mezcla de polvos 4	63-125	1:1	0,1	3,0	25
Mezcla de polvos 5	63-125	1:1	0,5	3,0	25
Granulado 6	125-180	1:1	0,5	1,5	42

¹ Pluronic F-177

Ejemplo 17

[0248] Los granulados se prepararon por medio del proceso de granulación C3, usando un polvo obtenido por el proceso A2 (EL-POx: trehalosa = 1:1 p/p), y un polvo obtenido por el proceso B2 (partículas que contienen NU-POx), excepto que en cada caso el gelfoam en este último polvo se reemplazó por otro polímero insoluble en agua que contenía grupos nucleófilos reactivos como se muestra a continuación:

	polímero insoluble en agua que contiene grupos nucleófilos reactivos
Granulado 1	Quitano ¹
Granulado 2	Gelatina reticulada reducida ²
1 de Sigma Aldrich, PM 100 000-300 000, grado de desacetilación del 85 %	
2 Preparado mediante el proceso descrito en el documento WO 2021/009014 (página 29, líneas 3-14).	

[0249] Las propiedades de sellado y hemostáticas de estos dos granulados de sellado se analizaron en un sistema de hígado de cerdo (heparinizado) *ex vivo*. Los granulados se aplicaron en una cantidad de 0,5 gramos. Las pruebas se realizaron por duplicado. Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 17.

Tabla 17

	Sellado	Hemostasia	Humectación
Granulado 1	++	++	+
Granulado 2	++	++	+

Ejemplo Comparativo B

[0250] Se preparó un granulado mediante el proceso de granulación C3, utilizando un polvo obtenido mediante el proceso A2 (EL-POx: trehalosa = 1:1 p/p), y un polvo obtenido mediante el proceso B2 (partículas que contenían NU-POx), excepto que en este caso se reemplazó el Gelfoam por celulosa reabsorbible oxidada (GeltaCel[®], de Gelita Medical GmbH).

[0251] Las propiedades de sellado y hemostáticas del granulado se analizaron en un sistema de hígado de cerdo (heparinizado) *ex vivo*. El granulado se aplicó en una cantidad de 0,5 gramos. Las pruebas se realizaron por duplicado. Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 18

Tabla 18

	Sellado	Hemostasia	Humectación
Granulado	-	-	-

Ejemplo 18

[0252] Se preparó un granulado mediante el proceso de granulación C3, usando un polvo obtenido mediante el proceso A2 (EL-POX: azúcar = 1:1 p/p), y un polvo obtenido mediante el proceso B2 (partículas que contenían NU-POx), excepto que en este caso la trehalosa en el primer polvo se reemplazó por manitol.

- 5 [0253] Las propiedades de sellado y hemostáticas del granulado se analizaron en un sistema de hígado de cerdo (heparinizado) *ex vivo*. El granulado se aplicó en una cantidad de 0,5 gramos. Las pruebas se realizaron por duplicado. Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 19

Tabla 19

	Sellado	Hemostasia	Humectación
Granulado	++	++	+

10

Ejemplo 19

[0254] Se preparó un granulado mediante el proceso de granulación C3, utilizando un polvo obtenido mediante el proceso A2 (EL-POX: azúcar = 1:1 p/p), y un polvo obtenido mediante el proceso B2, excepto que en este último polvo en lugar de NU-POx se utilizó un polietilenglicol de 8 brazos que lleva 8 grupos amina (PEG-NH@ de 8 brazos de Creative PEGWorks).

15

[0255] Las propiedades de sellado y hemostáticas del granulado se analizaron en un sistema de hígado de cerdo (heparinizado) *ex vivo*. El granulado se aplicó en una cantidad de 0,5 gramos. Las pruebas se realizaron por duplicado. Los resultados de la prueba se resumen en la Tabla 20

20

Tabla 20

	Sellado	Hemostasia	Humectación
Granulado	+	+	+

REIVINDICACIONES

1. Polvo de sellado biorreabsorbible que comprende

- 5 (a) al menos un 5 % en peso de polímero electrófilo soluble en agua que lleva al menos 3 grupos electrófilos reactivos que son capaces de reaccionar con grupos amina bajo la formación de un enlace covalente;
- (b) un 1-50 % en peso de reticulante nucleófilo soluble en agua que lleva al menos 2 grupos nucleófilos reactivos que, en presencia de agua, son capaces de reaccionar con los grupos electrófilos reactivos del
- 10 polímero electrófilo bajo la formación de un enlace covalente entre el polímero electrófilo y el reticulante nucleófilo;
- (c) un 1-60 % en peso de partículas que absorben el agua que contienen al menos un 50 % en peso, calculado con respecto al peso de las partículas que absorben el agua, de polímero insoluble en agua que contiene grupos nucleófilos reactivos seleccionados de entre grupos amina, grupos tiol y combinaciones de
- 15 estos;
- (d) un 10-75 % en peso de dispersante soluble en agua que es sólido a 20 °C, donde dicho dispersante soluble en agua se selecciona de entre monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos, alcoholes de azúcar y combinaciones de estos;
- 20 donde la combinación de los componentes (a), (b), (c) y (d) constituye al menos el 60 % en peso del polvo de sellado;
- donde el polvo de sellado tiene una densidad compactada en el intervalo de 0,3 - 0,9 g/ml;
- donde al menos el 90 % en peso del polvo tiene un diámetro inferior a 600 µm y no más del 10 % en peso del polvo tiene un diámetro inferior a 10 µm; y
- 25 donde los componentes (a), (b), (c) y (d) pueden estar contenidos en las mismas partículas o en partículas diferentes.

2. Polvo según la reivindicación 1, donde el polímero electrófilo se selecciona de entre una polioxazolina electrófila, polietilenglicol electrófilo y combinaciones de estos.

- 30 3. Polvo según la reivindicación 1 o 2, donde el reticulante nucleófilo se selecciona de entre polioxazolina nucleófila, polietilenglicol nucleófilo, polietilenimina y combinaciones de estos.

4. Polvo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el polímero insoluble en agua que contiene grupos nucleófilos reactivos se selecciona de entre proteína, quitosano y combinaciones de estos.

- 35 5. Polvo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la relación entre el número total de grupos electrófilos reactivos proporcionados por el polímero electrófilo y el número total de grupos nucleófilos reactivos proporcionados por el reticulante nucleófilo está en el intervalo de 1:0,05 a 1:0,4.

- 40 6. Polvo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el polvo comprende un 20-80 % en peso de partículas que solo contienen los componentes (a) y (d) y un 20-80 % en peso de partículas que solo contienen los componentes (b), (c) y (d).

45 7. Polvo según la reivindicación 6, donde las partículas que contienen solo los componentes (a) y (d) y las partículas que contienen solo los componentes (b), (c) y (d) constituyen juntas al menos el 60 % en peso del polvo de sellado.

8. Polvo según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde el polvo contiene al menos un 60 % en peso de partículas que contienen cada uno de los componentes (a), (b), (c) y (d).

- 50 9. Polvo según la reivindicación 8, donde el polvo contiene al menos un 50 % en peso de las partículas que contienen cada uno de los componentes (a), (b), (c) y (d) en forma de aglomerados de subpartículas A que contienen solo los componentes (a) y (d) y subpartículas B que contienen solo los componentes (a), (c) y (d).

55 10. Método para preparar un polvo de sellado biorreabsorbible según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende los pasos de:

- (a) proporcionar partículas A que comprenden el polímero electrófilo y el dispersante soluble en agua;
- (b) proporcionar partículas B que comprenden el reticulante nucleófilo, las partículas que absorben el agua y el dispersante soluble en agua;
- 60 (c) combinar las partículas A y las partículas B.

11. Proceso según la reivindicación 10, donde las partículas A y las partículas B se combinan en aglomerados.

- 65 12. Dispositivo para la aplicación de un polvo de sellado, que comprende:

- un depósito que contiene un polvo de sellado biorreabsorbible según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9;
 - una estructura tubular hueca alargada que tiene un extremo proximal y un extremo distal, donde el extremo distal tiene una salida de polvo y el extremo proximal está conectado al depósito,
 - una bomba de aire manual dispuesta para producir un flujo de aire que transporta polvo desde el depósito a través de la estructura tubular hueca alargada a través de la salida de polvo.
- 5
13. Lámina hemostática flexible biocompatible que comprende:
- una estructura portadora fibrosa cohesiva que comprende un espacio intersticial interconectado tridimensional; y
 - el polvo de sellado biorreabsorbible según cualquiera de las reivindicaciones 1-9;
- 10
- donde el polvo de sellado está distribuido dentro del espacio intersticial y/o fijado sobre la estructura portadora fibrosa.
- 15
14. Kit de componentes para la preparación de una suspensión de sellado biorreabsorbible, que comprende:
- un primer recipiente o compartimento que comprende un líquido biocompatible; y
 - un segundo recipiente o compartimento que comprende el polvo de sellado biorreabsorbible según cualquiera de las reivindicaciones 1-9.
- 20
15. Suspensión de sellado biorreabsorbible que comprende:
- una fase líquida no acuosa continua biocompatible; y
 - una fase dispersa que comprende el polvo de sellado biorreabsorbible según cualquiera de las reivindicaciones 1-9.
- 25