

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 843 104**

51 Int. Cl.:

A61L 27/22 (2006.01)

A61L 27/26 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.10.2017 PCT/EP2017/001263**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.05.2018 WO18077475**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.10.2017 E 17797522 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.10.2020 EP 3532115**

54 Título: **Armazón híbrido adecuado para regenerar tejidos animales y proceso para la fabricación del armazón**

30 Prioridad:

28.10.2016 EP 16425100

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

15.07.2021

73 Titular/es:

**DIALYBRID S.R.L. (100.0%)
84, Corso Magenta
20123 Milano, IT**

72 Inventor/es:

**GRECO, FRANCESCO GIOVANNI;
RIBOLDI, STEFANIA ADELE;
DENTINHO VAN UDEN, SEBASTI O NICOLAU;
CATTO, VALENTINA ILARIA MARIA y
MERONI, DAVIDE**

74 Agente/Representante:

DURAN-CORRETJER, S.L.P

ES 2 843 104 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

Armazón híbrido adecuado para regenerar tejidos animales y proceso para la fabricación del armazón

5 Sector de la invención

El solicitante informa de que el proyecto que da lugar a esta solicitud ha recibido financiación del programa de investigación e innovación Horizon 2020 de la Unión Europea en el marco del acuerdo de subvención Marie Skłodowska-Curie n.º 642458.

10 Las investigaciones realizadas bajo dicho programa dieron lugar a una invención en el sector de los armazones adecuados para la regeneración de tejidos animales, y de un proceso de fabricación del armazón, perteneciendo este último al sector de los armazones utilizados para reparar zonas anatómicas dañadas en el aparato cardiovascular (por ejemplo, el miocardio, las válvulas cardíacas y los vasos sanguíneos), y al sector de los denominados accesos vasculares (o injertos arteriovenosos), es decir, aquellas prótesis vasculares que se utilizan para entrar en el torrente sanguíneo mediante acceso por vía percutánea.

Estado de la técnica anterior

20 Se conoce que los armazones son adecuados para conducir a la regeneración, la estimulación y el soporte de tejidos nativos comprometidos. Dichos armazones se fabrican, en general, a partir de materiales naturales (tales como colágeno, elastina, fibrina, gelatina, fibroína, quitosano, ácido hialurónico, etc.) o materiales sintéticos (tales como PCL - policaprolactona, PGA - ácido poliglicólico, PLA - ácido poliláctico, PTFE - politetrafluoroetileno, PET - tereftalato de polietileno, poliuretanos, etc.) con el fin de conferir propiedades mecánicas adecuadas a las de los tejidos a reemplazar, en el momento y en el lugar de la implantación. Con el progreso en el proceso de reparación y la consiguiente generación de nuevos tejidos biológicos, dichos armazones suelen ser reformados y degradados, total o parcialmente, para ser incorporados en, o reemplazados por tejido recién formado.

30 Por consiguiente, uno de los principales problemas en el diseño de un armazón es, simplemente, reunir las propiedades de biocompatibilidad y las propiedades mecánicas del material con sus capacidades de degradación, para que el armazón pueda acompañar, no entorpecer, los procesos de reparación. En este contexto, los materiales naturales parecen sobresalir, en general, por sus propiedades de biocompatibilidad, degradabilidad y capacidad para reproducir las estructuras nativas, favoreciendo la integración con las células hospedadoras, mientras que los materiales sintéticos ofrecen un mejor control de las propiedades mecánicas del armazón, lo que es crucial para la aplicación en tejidos sometidos a continuas tensiones mecánicas, tales como las habituales del sistema cardiovascular. Por lo tanto, se han realizado varios intentos para combinar materiales naturales y materiales sintéticos, en muchas formas y en diferentes organizaciones estructurales, con el fin de fabricar armazones que pudieran permitirse las ventajas de ambas clases de materiales.

40 Por ejemplo, se generaron armazones de fibroína y poliuretano, tanto en forma de membranas continuas como de membranas fibrosas, mezclando los dos materiales en disolución o en suspensión, o mediante la aplicación de un recubrimiento de fibroína sobre una estructura a base de poliuretano. Más específicamente, en el sector de las prótesis vasculares, se han empleado diversas tecnologías, tales como electrohilado, inmersión, espumado con gas, etc., para fabricar estructuras tubulares híbridas en las que se encuentran macromoléculas naturales (tales como fibroína, colágeno, elastina, etc.) combinadas con polímeros sintéticos (tales como poliuretanos, alcohol polivinílico, policaprolactona, etc.).

50 En el contexto de los accesos vasculares para hemodiálisis, por el contrario, los injertos se utilizan comúnmente para conectar un vaso arterial con un vaso venoso, con el fin de garantizar la capacidad de realizar el tratamiento de diálisis, y, en general se componen solo de materiales sintéticos y no degradables, tales como PTFE (politetrafluoroetileno), tereftalato de polietileno, poliuretano. La razón de esta peculiaridad radica en el hecho de que para las fístulas arteriovenosas es fundamental la necesidad de garantizar suficientes propiedades mecánicas para soportar la tensión habitual de esta aplicación concreta, es decir, además de la cíclica habitual del torrente sanguíneo, la debida a la punción repetida mediante la utilización de agujas de diálisis.

55 Entre los diversos documentos del estado de la técnica que describen armazones de materiales naturales y sintéticos, se encuentra la Patente n.º CN 101214393 B, que da a conocer una prótesis vascular multicapa fabricada mediante electrohilado, que comprende una capa interior de material natural y una capa exterior de material sintético.

60 La Patente n.º CN 101708344 B da a conocer una prótesis vascular multicapa fabricada mediante electrohilado, que comprende una capa interior de material natural y una capa exterior de poliuretano.

65 La Patente n.º CN 101874751 B cubre un armazón multicapa fabricado por "eliminación de partículas". Las capas se obtienen a partir de materiales poliméricos (degradables y no degradables), inorgánicos, de origen biológico (conocidos en el sector, incluyendo fibroína entre los degradables y poliuretano entre los no degradables) o mezclas

de los mismos, y las diferentes capas pueden tener una composición diferente unas de otras.

Otros documentos encontrados en la técnica anterior son:

- 5 La solicitud de Patente n.º CN 103585674 A da a conocer un procedimiento para preparar un armazón de fibra de fibroína porosa en el que se añade un material de polímero sintético (por ejemplo, PU) a la fibroína.
El documento de YONGZHEN TAO et al.: "Rheological and Mechanical Behaviour of Fibroin Reinforced Waterborne Polyurethane", POLYMERS, vol. 8, n.º 3, 21 de marzo de 2016 (21-03-2016), página 94, XP55360549, DOI: 10.3390/polym8030094 da a conocer la utilización de poliuretano reforzado con fibroína para la ingeniería de tejidos.
- 10 El documento de P. Petrini et al.: "Fibroin-polyurethane scaffolds for tissue engineering", Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 1 de diciembre de 2001 (01-12-2001), páginas 849-853, XP55360564, Boston DOI: 10.1023/A:1012847301850 Recuperado de Internet: URL: <https://rd.springer.com/content/pdf/10.1023/A:1012847301850.pdf> [recuperado el 30 de marzo de 2017] da a conocer armazones de poliuretano con un recubrimiento de fibroína de seda y su utilización para la ingeniería de tejidos.
- 15 La Patente n.º CN 102499800 A da a conocer un soporte vascular reparador de vasos de pequeño diámetro con una red interior de fibroína de PCL y una capa intermedia enfundada con un tubo de fibroína.
La solicitud de patente n.º CN 102817105 A da a conocer un procedimiento para preparar una fibra compuesta de polímero sintético y polímero natural con una estructura de núcleo y cubierta mediante hilado electrostático coaxial.
El procedimiento utiliza el polímero sintético (por ejemplo, poliuretano) como cubierta, y el polímero natural (por
- 20 ejemplo, fibroína) como núcleo.

Inconvenientes del estado de la técnica

- 25 Las mayores dificultades en la fabricación de armazones híbridos, compuestos de materiales sintéticos y naturales, son principalmente de tipo práctico y experimental, ya que muchas veces los tratamientos necesarios para procesar los materiales sintéticos (por ejemplo, la solubilización en agresivos disolventes) son perjudiciales para el propósito de una conformación estable de macromoléculas naturales, que son desnaturalizadas o degradadas durante el proceso, perdiendo en parte sus propiedades. En otros casos, los tratamientos necesarios para estabilizar los materiales naturales (tales como, en el caso de la fibroína, la cristalización) se determinan en las reacciones de las
- 30 diferentes fases, natural y sintética, de diferentes entidades (por ejemplo, en el caso mencionado anteriormente de la cristalización, contracción volumétrica) que impiden una óptima coalescencia entre los materiales. Por el término coalescencia se entiende la fusión entre materiales (o capas de materiales), debido al contacto íntimo, a la unión, al tejido, a la intersección, al entremezclado o a otros modos de conexión física. Muchos intentos de cubrir materiales sintéticos con materiales naturales, destinados a aumentar la integración del armazón con el organismo hospedador, luego fallaron debido a la escasa coalescencia en la interfaz entre los dos materiales, lo que determina el desprendimiento del recubrimiento.
- 35

En consecuencia, los mayores problemas a mejorar en los armazones conocidos se refieren a:

- 40 a) la integración del armazón con los tejidos biológicos circundantes,
b) el mantenimiento de las propiedades elásticas intrínsecas del polímero sintético, que son esenciales para aplicaciones cardiovasculares, y para aplicaciones en el sector de los accesos vasculares para hemodiálisis,
c) la estabilidad en la combinación de polímero natural y sintético, necesaria para evitar que los tratamientos de procesamiento posterior y/o las condiciones de funcionamiento determinen la delaminación y/o la separación de
- 45 los dos materiales.

En cuanto a los documentos citados anteriormente, se encontraron las siguientes deficiencias con respecto a los temas citados anteriormente.

- 50 La solicitud de Patente n.º CN 103585674 A no resolvería el problema de mejorar las propiedades de integración del armazón con los tejidos biológicos circundantes, ya que el polímero sintético estaría presente en la interfaz del armazón con los tejidos biológicos circundantes, perjudicando la integración del armazón.

- 55 El documento de YONGZHEN TAO et al. da a conocer una técnica en la que la adición de fibroína afecta significativamente a las propiedades elásticas del poliuretano, lo que induce el fortalecimiento y el endurecimiento. Además, la solución propuesta no resolvería el problema de mejorar las propiedades de integración del armazón con los tejidos biológicos circundantes, ya que el polímero sintético estaría presente de todos modos en la interfaz del armazón con los tejidos biológicos circundantes.

- 60 El documento de P. Petrini et al. da a conocer una técnica en la que la fibroína solo está presente en la interfaz armazón-tejido, pero falla al analizar los efectos del recubrimiento de fibroína sobre las propiedades mecánicas de las espumas de poliuretano y, admite, con seguridad, que existe un desajuste de las propiedades mecánicas del sustrato de poliuretano (elastoméricas) y del recubrimiento de la proteína.

- 65 La patente n.º CN 102499800 A da a conocer una técnica que aparentemente consigue combinar fibroína y PCL, pero no se hace mención de las propiedades elásticas del polímero sintético, y una "conexión de sutura" parece ser

necesaria para permitir que un tubo externo de fibroína mejore las propiedades de integración con los tejidos exteriores (no con los interiores).

5 La solicitud de Patente n.º CN 102817105 A da a conocer una técnica que, de hecho, combina material natural y sintético, pero falla en proporcionar las propiedades de integración deseadas con los tejidos biológicos circundantes (el material sintético, y no el material natural está presente en la interfaz con los tejidos circundantes), y en la conservación de las propiedades elásticas intrínsecas del poliuretano (no se mencionan las propiedades mecánicas en la fibra hilada coaxialmente).

10 En el caso específico de los accesos vasculares para hemodiálisis, existen una serie de inconvenientes asociados a la utilización clínica de prótesis fabricadas con materiales sintéticos:

- escasa semejanza de las características morfológicas y mecánicas de la prótesis con las de los vasos sanguíneos nativos;
- 15 – derivado del punto anterior: formación de hiperplasia neointimal en la anastomosis y posterior estenosis u oclusión de la prótesis e incidencia de fenómenos trombóticos;
- mala integración de la prótesis con los tejidos biológicos circundantes y escasa o nula capacidad de remodelación,
- derivado del punto anterior: inflamación crónica en la zona de la prótesis.

20 Además de los inconvenientes mencionados anteriormente, los accesos vasculares sintéticos conocidos utilizados en el sector de la hemodiálisis adolecen, asimismo, de:

- no garantizar un sellado rápido del sitio de punción, una vez que se retira la aguja, lo que provoca un retraso de
- 25 la hemostasia;
- fenómenos infecciosos.

Objetivos de la invención

30 Un primer objetivo de la invención es un almacén de materiales naturales y sintéticos adecuado para regenerar tejidos cardiovasculares o para su utilización como un acceso vascular para hemodiálisis desprovisto de los inconvenientes de la técnica anterior y, por lo tanto, adecuado para:

- a) proporcionar integración con los tejidos biológicos circundantes;
- 35 b) conservar las propiedades elásticas intrínsecas que son esenciales para las aplicaciones cardiovasculares y para las aplicaciones en el sector de los accesos vasculares para hemodiálisis, y
- c) combinar de manera estable materiales naturales y sintéticos para evitar que los tratamientos posteriores al procesamiento y/o las condiciones de funcionamiento provoquen la delaminación y/o la separación de los dos
- 40 materiales.

Este objetivo se consigue mediante una combinación de un material natural, fibroína, con un material sintético, un poliuretano, y confiriendo al almacén una organización estructural multicapa específica.

45 Otro objetivo de la invención es dar a conocer almacenes conformados de tal manera que sean adecuados para reemplazar válvulas cardíacas auriculoventriculares o semilunares y tractos vasculares bifurcados afectados por patologías.

Un segundo objetivo de la invención es un proceso, particularmente adecuado a escala industrial, para fabricar los almacenes definidos en el primer objetivo.

50 Estado de la técnica anterior

Se comienza por decir que, a continuación, en la presente descripción, por fibroína se entiende fibroína de seda y la sangre se considera un tejido del cuerpo animal, y se considera que la "porosidad" se define como el porcentaje de

55 espacio vacío en un sólido.

El primer objetivo de la invención es un almacén híbrido, según las reivindicaciones 1 a 8. Puede ser fabricado por depósito sucesivo, sobre un soporte de forma adecuada, de materiales tales que generan:

- 60 - capas periféricas, diseñadas para interactuar con los tejidos en el sitio del implante, y adecuadas para mejorar la integración del almacén con las células del organismo hospedador;
- una o varias capas intermedias, en las que los materiales se combinan para conferir propiedades mecánicas al almacén adecuadas para soportar las tensiones habituales del lugar del implante,

65 siendo los materiales:

- fibroína, para las capas periféricas,
- poliuretano combinado con fibroína, para cada capa intermedia,

5 de modo que el armazón comprenda fibroína en las capas periféricas, que confieren al armazón la propiedad de integración con los tejidos biológicos circundantes, y poliuretano combinado con fibroína en una o varias capas intermedias, que determinan la coalescencia estable entre capas adyacentes a la vez que se mantienen las propiedades elásticas intrínsecas conferidas al armazón por el poliuretano en dichas capas intermedias.

10 De hecho, la experiencia directa del solicitante confirmó que, en ausencia de fibroína en una o varias capas intermedias, es problemático garantizar la coalescencia entre los diferentes materiales y las diferentes capas dentro del armazón. De hecho, tal como se muestra en el gráfico de la figura 5, la curva característica de "Carga/Extensión" de una muestra realizada mediante electrohilado de una capa de fibroína, electrohilado de una capa subsiguiente de poliuretano y, a continuación, electrohilado de una segunda capa de fibroína (gráfica "núcleo de PU") mostró una morfología típica de dientes de sierra, debido, precisamente, a la delaminación entre capas. Los solicitantes
15 pudieron superar este problema, que habría perjudicado la integridad y el comportamiento mecánico del armazón final, solo agregando fibroína a las capas interiores del armazón (véanse para comparación la gráfica "núcleo de mezcla SF-PU" en el mismo gráfico, que muestra un comportamiento más ordenado y nítido, típico de un continuo).

20 La organización estructural, es decir, la forma impartida al armazón definido anteriormente, es de cuatro tipos:

- un armazón tubular, adaptado para ser utilizado como prótesis vascular o como acceso vascular;
- un armazón laminar, adaptado para la regeneración de tejidos cardiovasculares y, en concreto, del miocardio;
- un armazón moldeable, de forma compleja y adecuado para reemplazar válvulas cardíacas auriculoventriculares o semilunares o sus partes, tales como el anillo, los senos valvulares, las hojuelas;
- 25 - un armazón en forma de conducto bifurcado de una sola pieza adecuado para la sustitución de tractos vasculares bifurcados que padecen afecciones tales como estenosis y aneurismas, por ejemplo, en posición ilíaca, carotídea o coronaria.

30 De hecho, los solicitantes realizaron varios estudios con el fin de garantizar la posibilidad de ajustar las propiedades mecánicas del armazón a los diferentes distritos anatómicos citados anteriormente. Se obtuvieron evidencias a través de experimentos de que, al variar las respectivas proporciones de fibroína y poliuretano en una o varias capas intermedias, se puede modular la elasticidad del armazón, manteniendo la coalescencia entre los materiales y las capas. Tal como se muestra en las gráficas representadas en la figura 6 a continuación, relativa a mallas electrohiladas con capas intermedias de composiciones variadas (75 % de fibroína y 25 % de poliuretano, o 50 % de fibroína y 50 % poliuretano, o 25 % fibroína y 75 % poliuretano), aumentar el porcentaje de poliuretano permite
35 conseguir mayores deformaciones a la rotura, mientras que aumentar el porcentaje de fibroína rigidiza la malla.

40 La capacidad de ajuste de las propiedades mecánicas descritas anteriormente, además de permitir el mantenimiento de las propiedades elásticas intrínsecas del poliuretano, esencial para aplicaciones cardiovasculares, también permite adaptar las propiedades del armazón al sitio específico de implantación (por ejemplo, una válvula cardíaca, en lugar de un músculo cardíaco, o un vaso sanguíneo), lo que es crucial para evitar el daño desajuste de elasticidad entre los tejidos nativos y el armazón, conocido por ser una de las principales causas de la falta de integración del propio armazón.

45 El segundo objetivo de la invención es un proceso, según las reivindicaciones 9 a 18. La capa intermedia o las capas intermedias son generadas a partir de una mezcla de fibroína y poliuretano (mezcla preparada de manera separada y, a continuación, tratada para formar el armazón), o de tal manera que contengan materiales de fibroína y poliuretano separados y uno al lado del otro.

50 El proceso utilizado para fabricar el armazón híbrido es el electrohilado, que, en general, permite obtener filamentos continuos de diámetro nanométrico o micrométrico y, en este caso, permite producir matrices de nanofibras o microfibras que se asemejan por su efectividad a la matriz extracelular (MEC) de tejidos nativos. Con técnicas conocidas en las que se utilizan colectores de material compuesto en etapas separadas, el electrohilado también permite obtener un armazón de forma compleja que comprende conductos bifurcados y válvulas
55 auriculoventriculares o semilunares.

El proceso de la invención, especialmente adecuado para la escala industrial, comprende, básicamente:

- 60 - el electrohilado, como mínimo, de una primera capa de fibroína solubilizada sobre un colector de forma adecuada para el armazón deseado;
- el posterior depósito sobre la primera capa de una o varias capas intermedias compuestas por materiales de fibroína y poliuretano combinados, por ejemplo, mediante el electrohilado de una mezcla de fibroína y poliuretano, mediante el electrohilado de distintas fibras de fibroína y poliuretano, mediante el electrohilado de soluciones de fibroína y poliuretano dispuestas coaxialmente entre sí, o mediante otras técnicas tales como fundición con disolventes, inmersión, lixiviación de partículas, hidrogelación, liofilización, fabricación aditiva, que
65 permite obtener una estructura compuesta de matriz e inclusiones, un hidrogel, una esponja o películas de

- porosidad controlada;
- el electrohilado, como mínimo, de una última capa de fibroína solubilizada, depositada en la capa o capas intermedias, siendo dicho proceso adecuado en un contexto industrialmente sostenible, para conseguir armazones en los que la fibra y el poliuretano están completamente integrados, no degradados y no desnaturalizados.

Las capas intermedias de fibroína y poliuretano son fabricadas con la mezcla de dichos dos materiales solubilizados en las siguientes condiciones:

- a) en un disolvente o combinación de disolventes adecuados para solubilizar ambos o cada uno de los dos materiales, tales como (pero no solo) agua, ácido fórmico, ácido trifluoroacético, cloroformo, diclorometano, hexafluoroisopropanol, dimetilformamida, ciclohexanona, dimetilacetamida, cloruro de metileno, tetrahidrofurano, dimetilsulfóxido, si es necesario utilizando aditivos (por ejemplo, sales, tales como bromuro de litio, cloruro de litio, yoduro de litio) para mejorar la solubilización de los materiales;
- b) a una concentración adecuada para la porosidad del armazón en fabricación (menor concentración para conseguir una mayor porosidad) y para el siguiente procedimiento de procesamiento (por ejemplo, utilizando preferentemente disolventes altamente volátiles, si la mezcla es procesada a continuación mediante electrohilado, con el fin de favorecer una mejor evaporación del solvente), en una proporción de peso adecuada y en condiciones ambientales adecuadas (por ejemplo, aumentando la temperatura por encima de la temperatura ambiente para favorecer la solubilización completa de los materiales, protegiéndolos de la desnaturalización y la degradación);
- c) con una secuencia de operaciones según las características de los materiales y de los disolventes que se están utilizando (secuencia que significa el orden en el que los distintos reactivos son puestos en contacto entre sí para evitar cualquier precipitación de materiales previamente solubilizados, o reacciones no deseadas).

Por ejemplo, se solubilizan fibroína y poliuretano en una proporción de 1:1 en ácido fórmico, y diclorometano en una proporción de 3:2 para obtener una disolución con 2 % de fibroína y 2 % de poliuretano, solubilizando la fibroína en ácido fórmico y el poliuretano en ácido fórmico y diclorometano y, a continuación, se combinan las dos soluciones.

Opcionalmente, el armazón es sometido a tratamientos fisicoquímicos conocidos, destinados a eliminar los residuos de disolvente y/o a inducir la cristalización de la fibroína. Las medidas que se pueden tomar son: exposición a disolventes orgánicos, o soluciones de disolventes orgánicos y agua, o agua pura, aplicación de esfuerzos mecánicos, tratamientos térmicos.

Se debe considerar que el proceso de fabricación del armazón fue afinado como resultado de estudios y experimentos, enfocados en encontrar las mejores condiciones para tratar la fibroína y el poliuretano en un contexto industrialmente sostenible, sin inducir la desnaturalización y/o la degradación de los materiales, y garantizar una coalescencia completa entre ellos en el armazón final.

Por ejemplo, en el caso citado anteriormente, de preparar una mezcla de fibroína y poliuretano, se probaron varios intentos para evitar la utilización de HFP (hexafluoroisopropanol) que, a pesar de ser ampliamente utilizado para disolver simultáneamente fibroína y polímeros sintéticos (véanse, por ejemplo, las Patentes citadas CN 103585674 A y CN 102499800 A), se caracteriza por una extrema volatilidad y alto coste, por lo que es escasamente compatible con los procedimientos industriales.

Después de varias pruebas (por ejemplo, con dimetilacetamida, dimetilformamida y cloroformo), se encontró que una combinación de disolventes tales como el ácido trifluoroacético y el diclorometano, o el ácido fórmico y el diclorometano (3:2) puede solubilizar tanto la fibroína como el poliuretano, evitando precipitaciones, desnaturalizaciones y degradaciones, siendo adecuada para electrohilado en un contexto industrialmente sostenible. Utilizando ácido fórmico y diclorometano (3:2), por ejemplo, se encontraron evidencias de que la mezcla puede ser procesada mediante electrohilado para fabricar mallas de buena calidad (mostradas en la figura 7), que se asemejan a la matriz extracelular nativa, en la que la fibroína y el poliuretano están completamente entremezclados y son completamente coalescentes, a fin de evitar la delaminación y/o la separación local entre los diferentes materiales.

De hecho, se obtuvieron evidencias a través de experimentos de que el proceso inventado también es lo suficientemente robusto como para permitir una amplia variación de la relación respectiva de fibroína y poliuretano en una o varias capas intermedias, para permitir el ajuste fino mencionado anteriormente de las propiedades mecánicas del armazón, sin pérdida de coalescencia entre materiales y capas. De manera interesante, los cambios en las respectivas proporciones de fibroína y poliuretano en dichas capas no parecieron afectar significativamente la tensión de rotura promedio de los armazones, lo que confirma que el proceso permite una buena coalescencia entre los dos materiales y la integridad de la microestructura.

Una coalescencia estable de este tipo entre capas se encontró también en los armazones después de ser sometidos a tratamientos de cristalización (por ejemplo, en una disolución de metanol y agua, o en una serie de disoluciones degradadas de etanol y agua), evaluándose que el proceso para la fabricación de los armazones permite que la fibroína y el poliuretano tengan una coalescencia completa, de modo que respondan a la vez a los tratamientos que

suelen determinar una separación o delaminación entre los dos materiales (debido a la contracción volumétrica de la fibroína y no del poliuretano tras la cristalización).

5 Opcionalmente, también, la superficie interior del armazón, o todo el armazón, son sometidos a tratamientos fisicoquímicos, utilizando compuestos y técnicas conocidas en el sector de la bioingeniería, con el fin de mejorar la hemocompatibilidad y las propiedades antimicrobianas del propio armazón, y su permeabilidad al plasma sanguíneo. Las medidas que pueden ser tomadas individualmente o en dos o más juntas son las siguientes:

- 10 a) la superficie interior del armazón está recubierta o funcionalizada con heparina, warfarina, estatina, compuestos derivados del aceite de pescado, grafito u otros compuestos a base de carbono, antitrombina, argatrobán, fibronectina, recubrimientos a base de sulfato, o sometidos a procesos físicos tales como tratamientos con plasma de gas y luz ultravioleta, con el fin de mejorar las propiedades de hemocompatibilidad;
- 15 b) el armazón está total o parcialmente impregnado o recubierto con albúmina u otros compuestos con el fin de controlar la permeabilidad del plasma sanguíneo;
- c) el armazón está recubierto o funcionalizado total o parcialmente con plata, con péptidos antimicrobianos o con moléculas antibióticas y antivirales, o es generado a partir de fibroína modificada genéticamente, para aumentar las propiedades antimicrobianas.

20 **Ventajas de la invención**

Una ventaja "constructiva o de proceso" de la invención reside principalmente en el hecho de que el tratamiento industrialmente sostenible de la fibroína y el poliuretano para fabricar cada capa intermedia permite una excelente coalescencia de los dos materiales en el interior de esas mismas capas y con las capas periféricas que no se separan unas de otras, tal como en el caso del recubrimiento, y no determina daño o desnaturalización de la fibroína y el poliuretano durante el procesamiento.

Además de esto, una ventaja "operativa" del armazón multicapa de la invención radica en el hecho de que el armazón se une a las ventajas de un material natural y biodegradable (por ejemplo, la biocompatibilidad, la degradabilidad in vivo, la posibilidad de ser remodelado) con las de un material sintético y no degradable (por ejemplo, la mayor estabilidad de las propiedades mecánicas y, específicamente para el poliuretano, la alta elasticidad). En el caso general de una aplicación cardiovascular, la presencia de poliuretano mejoraría la elasticidad de la matriz, resultando en un excelente comportamiento mecánico con respecto a la tensión típica en el sitio del implante, así como una mayor resistencia a la sutura.

35 Más específicamente, en caso de utilizar el armazón como acceso vascular, el armazón híbrido de fibroína y poliuretano ofrece las siguientes ventajas con respecto a los implantes que se utilizan actualmente en las clínicas:

- gracias a la fibroína: una mejor reproducción de las características morfológicas de los vasos sanguíneos nativos, que da como resultado facilitar el acceso de las células del cuerpo hospedador y, de este modo, mejorar la integración y remodelación de la prótesis, una disminución de la inflamación crónica debido a la implantación, una reducción de la formación de hiperplasia neointimal en la anastomosis y, en última instancia, un menor riesgo de estenosis y trombosis. En este sentido, ya se ha demostrado en la literatura científica que las prótesis vasculares electrohiladas de fibroína son totalmente degradadas y reemplazadas por tejido vascular natural en tan solo 7 días después de su implantación en un modelo animal (rata) [fuente de referencia I. Cattaneo, M. Figliuzzi, N. Azzollini, V. Catto, S. Fare, MC. Tanzi, A. Alessandrino, G. Freddi, A. Remuzzi, "In vivo regeneration of elastic lamina on fibroin biodegradable vascular scaffold." Int J Artif Organs, marzo de 2013; 36 (3): 166-74-];
- gracias al poliuretano: una mayor elasticidad de la pared de la prótesis, lo que permite un rápido sellado del punto de punción de la diálisis y, en consecuencia, una mejor hemostasia. En este sentido, se conoce que las prótesis vasculares electrohiladas de poliuretano tienen indudables ventajas cuando se utilizan como acceso vascular para diálisis, solo por dicho motivo,
- gracias a la fibroína: la prótesis podría gozar de moderadas propiedades antimicrobianas (siendo este aspecto actualmente objeto de investigación científica) y, por lo tanto, ser menos susceptible a la infección.

55 **Descripción detallada de la invención**

La invención se describirá a continuación en detalle con ejemplos de realización y con la ayuda del dibujo en el que:

- 60 - las figuras 1 a 4 son vistas, en perspectiva o en sección transversal.

La figura 1 muestra un armazón 1 híbrido, tubular, de fibroína y poliuretano adecuado para ser utilizado como prótesis vascular o como acceso vascular, de 7 mm de diámetro interno y 200 mm de longitud, con la siguiente organización estructural:

- 65 - la primera capa 2, de fibroína, tiene un grosor de 0,05 mm y una porosidad del 60 %;
- la capa intermedia 3, de fibroína y poliuretano, tiene un grosor de 0,2 mm y una porosidad del 40 %;

- la última capa 4, de fibroína, tiene un grosor de 0,04 mm y una porosidad del 50 %.

La figura 2 muestra un armazón 5 híbrido, de fibroína y poliuretano, en forma de laminilla moldeable, de 15 mm de longitud y 5 mm de ancho, adecuado para regenerar tejidos vasculares y, en concreto, el miocardio, con la siguiente organización estructural,

- la primera capa 2a, de fibroína, tiene un grosor de 0,3 mm y una porosidad del 50 %;
- la capa intermedia 3a, de fibroína y poliuretano, tiene un grosor de 0,2 mm y una porosidad del 70 %;
- la última capa 4a, de fibroína, tiene un grosor de 0,2 mm y una porosidad del 40 %.

La figura 3 muestra un armazón 6 híbrido, de fibroína y poliuretano, adecuado para reemplazar una válvula aórtica, que comprende:

- una parte tubular 7 proximal, adecuada para la conexión al miocardio ventricular, de diámetro y longitud congruentes con los fisiológicos en el sitio anatómico del implante;
- una parte intermedia 8, de forma trilobulada, que se asemeja a los senos naturales de Valsalva en la válvula natural, y que aloja las tres valvas de la válvula o cúspides de la válvula;
- una parte tubular 9 distal, adecuada para la conexión a la aorta, de diámetro y longitud congruentes con los fisiológicos en el sitio anatómico de implantación,
- teniendo en común las tres partes la siguiente organización estructural:
 - la primera capa 2b, de fibroína, que tiene un grosor de 0,05 mm y una porosidad del 60 %,
 - la capa intermedia 3b, de fibroína y poliuretano, que tiene un grosor de 0,3 mm y una porosidad del 40 %;
 - la última capa 4b, de fibroína, que tiene un grosor de 0,05 mm y una porosidad del 60 %.

La figura 4 muestra un armazón 10 híbrido, de fibroína y poliuretano que, adecuado para reemplazar el tracto vascular llamado bifurcación ilíaca, comprende:

- una parte común 11, tubular, adecuada para la conexión a la aorta abdominal, de diámetro y longitud congruentes con los fisiológicos del sitio anatómico de implantación;
- dos secciones 12, 13 tubulares que surgen de la sección común 11, adecuadas para la conexión a las arterias ilíacas comunes, de diámetro y longitud congruentes con los fisiológicos en el sitio anatómico de implantación,

teniendo en común las tres partes la siguiente organización estructural:

- la primera capa 2c, de fibroína, que tiene un grosor de 0,3 mm y una porosidad del 50 %,
- la capa intermedia 3b, de fibroína y poliuretano, que tiene un grosor de 0,5 mm y una porosidad del 40 %;
- la última capa 4b, de fibroína, que tiene un grosor de 0,4 mm y una porosidad del 60 %.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Armazón (1, 5, 6, 10) híbrido, adecuado para la regeneración de tejidos animales, **caracterizado por que** comprende:
- capas periféricas (2, 4, 2a, 4a, 2b, 4b, 2c, 4c), fabricadas de materiales adecuados para interactuar con los tejidos en el sitio del implante, e integrarse con las células del cuerpo hospedador;
 - una o varias capas intermedias (3, 3a, 3b, 3c) fabricadas de materiales combinados que, en conjunto, son adecuadas para conferir al armazón propiedades mecánicas adecuadas para soportar las tensiones habituales en el sitio de implantación y para generar una coalescencia estable entre las capas,
- 10 siendo los materiales:
- fibroína, para las capas periféricas,
 - poliuretano combinado con fibroína, para cada capa intermedia.
- 15 2. Armazón (1, 5, 6, 10) híbrido, según la reivindicación 1, **caracterizado por que** cada capa intermedia comprende fibroína y poliuretano en proporciones de peso complementarias comprendidas entre el 1 % y el 99 %.
- 20 3. Armazón (1, 5, 6, 10), según las reivindicaciones 1, 2, **caracterizado por que** las capas periféricas (2, 4, 2a, 4a, 2b, 4b, 2c, 4c), de fibroína, tienen una porosidad comprendida entre el 1 y el 99 % y cada capa intermedia (3, 3a, 3b, 3c), de fibroína y poliuretano, tiene una porosidad comprendida entre el 1 y el 99 %.
- 25 4. Armazón (1), según las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por** una forma tubular (1) adaptada a la implantación como prótesis vascular o para funcionar como acceso vascular.
5. Armazón (5), según las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por** un elemento en forma de laminilla (5) moldeable, adecuado para regenerar tejidos vasculares y el miocardio.
- 30 6. Armazón (6), según las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por** una forma (6, 7, 8, 9) adecuada para reemplazar una válvula semilunar o auriculoventricular, o partes de la misma.
7. Armazón (10), según las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por** la forma de un árbol vascular o de un tracto vascular bifurcado (10, 11, 12, 13).
- 35 8. Armazón (6, 10), según las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por** un conjunto de partes (7, 8, 9, 11, 12, 13) que forman una válvula cardíaca (6), una parte de la misma, o un tracto vascular bifurcado (10).
- 40 9. Proceso de fabricación de un armazón, según las reivindicaciones 1 a 8, **caracterizado por que** comprende las siguientes fases:
- electrohilado, como mínimo, de una primera capa de fibroína solubilizada sobre un colector de una forma adecuada para el armazón que se desea fabricar;
 - posterior depósito sobre la primera capa de una o varias capas intermedias superpuestas compuestas de fibroína y poliuretano mezclados y/o colocados uno al lado del otro;
 - electrohilado, como mínimo, de una capa de fibroína solubilizada en una o varias capas intermedias,
- 45 en el que dichas la una o varias capas intermedias de fibroína y poliuretano son fabricadas con la mezcla de los dos materiales solubilizados en las siguientes condiciones:
- 50 a) en un disolvente o combinación de disolventes adecuados para solubilizar ambos o cada uno de los dos materiales, donde se evitan las desnaturalizaciones y degradaciones, siendo dichos disolventes agua, ácido fórmico, ácido trifluoroacético, cloroformo, diclorometano, hexafluoroisopropanol, dimetilformamida, ciclohexanona, dimetilacetamida, cloruro de metileno, tetrahidrofurano, dimetilsulfóxido, posiblemente utilizando aditivos tales como sales de litio para mejorar la solubilización de los materiales;
- 55 b) a una concentración adecuada para obtener una porosidad del armazón deseado comprendida entre el 1 % y el 99 %.
- c) con una secuencia de operaciones adecuada para solubilizar tanto la fibroína como el poliuretano, evitando precipitaciones,
- 60 lo que hace que la fibroína y el poliuretano se fusionen en el armazón.
10. Proceso, según la reivindicación 9, **caracterizado por que** la una o varias capas intermedias están compuestas por fibroína y poliuretano en proporciones de peso complementarias comprendidas entre el 1 % y el 99 %.
- 65 11. Proceso, según las reivindicaciones 9 y 10, **caracterizado por que** una o varias capas intermedias de fibroína y

poliuretano son generadas mediante el electrohilado de una mezcla de fibroína y poliuretano.

- 5 12. Proceso, según las reivindicaciones 9 y 10, **caracterizado por que** una o varias capas intermedias de fibroína y poliuretano son generadas mediante el electrohilado de distintas fibras de fibroína y poliuretano.
13. Proceso, según las reivindicaciones 9 y 10, **caracterizado por que** una o varias capas intermedias de fibroína y poliuretano son generadas mediante el electrohilado de soluciones de fibroína y poliuretano dispuestos coaxialmente entre sí.
- 10 14. Proceso, según las reivindicaciones 9 y 10, **caracterizado por que** una o varias capas intermedias de fibroína y poliuretano son generadas mediante técnicas de fundición con disolvente, inmersión, lixiviación de partículas, hidrogelación, liofilización o fabricación aditiva, para fabricar una estructura compuesta de matriz e inclusiones, un hidrogel, una esponja o una película de porosidad controlada.
- 15 15. Proceso, según las reivindicaciones 9 a 14, **caracterizado por que** comprende el electrohilado de un armazón (7, 8, 9, 11, 12, 13) en etapas separadas sobre un colector de material compuesto.
- 20 16. Proceso, según la reivindicación 9, **caracterizado por que** dicha una o varias capas intermedias de fibroína y poliuretano son fabricadas con una mezcla de los dos materiales, donde la fibroína y el poliuretano son solubilizadas en ácido fórmico y diclorometano en una proporción de 3:2, estando comprendida en la disolución la concentración de fibroína entre el 0,01 % p/v y el 98,01 % p/v, y la concentración de poliuretano entre el 0,01 % p/v y el 98,01 % p/v, siendo obtenida dicha mezcla llevando a cabo las siguientes etapas distintas:
- 25 - solubilización de la fibroína en dos partes de ácido fórmico,
 - solubilización del poliuretano en una combinación de una parte de ácido fórmico y dos partes de diclorometano,
 - mezcla de la disolución de fibroína con la disolución de poliuretano.
- 30 17. Proceso, según las reivindicaciones 9 a 16, **caracterizado por que** el armazón es sometido a tratamientos fisicoquímicos destinados a eliminar los residuos de disolventes y/o a inducir la cristalización de la fibroína, que incluyen una o varias de las siguientes fases: exposición a disolventes orgánicos, o a disoluciones de disolventes orgánicos y agua, o a agua pura, aplicación de esfuerzos mecánicos, tratamientos térmicos.
- 35 18. Proceso, según las reivindicaciones 9 a 17, **caracterizado por que** el armazón es sometido total o parcialmente a tratamientos fisicoquímicos que incluyen una sola o varias juntas de las siguientes fases:
- 40 a) recubrimiento o funcionalización con heparina, warfarina, estatina, compuestos derivados del aceite de pescado, grafito u otros compuestos a base de carbono, y antitrombina, argatrobán, fibronectina, recubrimientos a base de sulfato, o tratamiento mediante un proceso físico tal como plasma de gas y luz ultravioleta, con el fin de mejorar las propiedades antiinflamatorias, antiplaquetarias, antitrombóticas y antiproliferación de las células del músculo liso,
 b) recubrimiento o impregnación con albúmina u otros compuestos de alto peso molecular, con el fin de controlar la permeabilidad del plasma sanguíneo,
 c) recubrimiento o funcionalización con plata, con péptidos antimicrobianos o moléculas antibióticas y antivirales,
 45 o fabricación a partir de fibroína modificada genéticamente, con el fin de aumentar las propiedades antimicrobianas.

FIG. 1

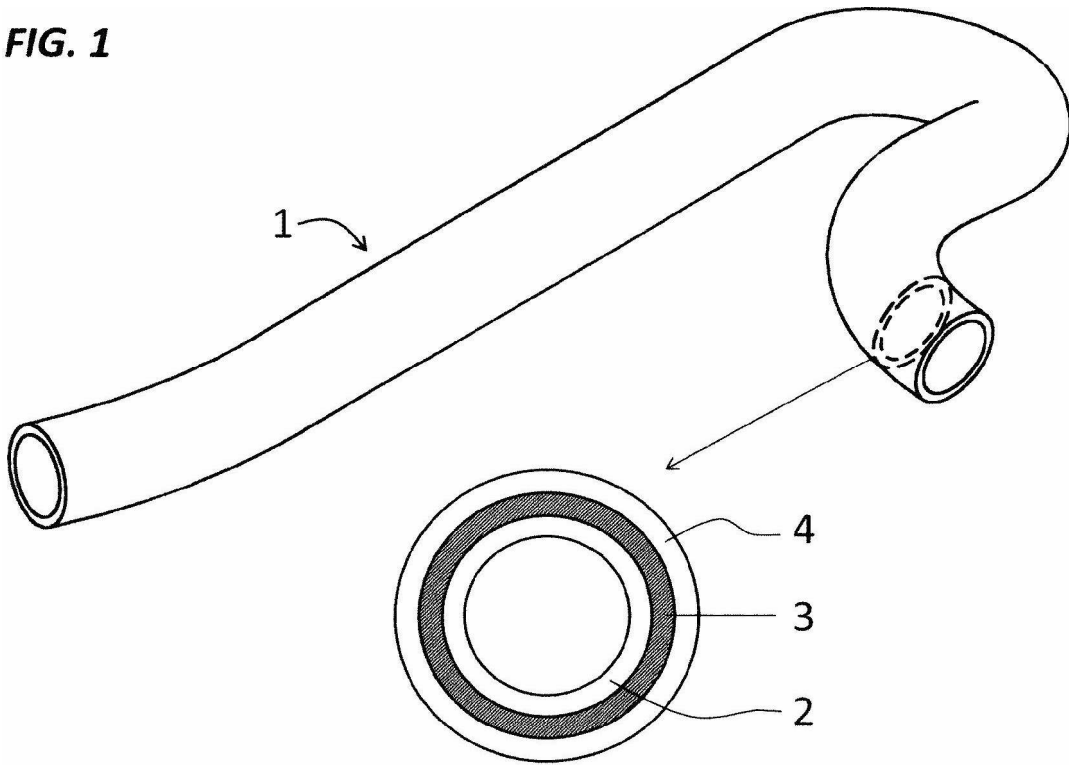


FIG. 2

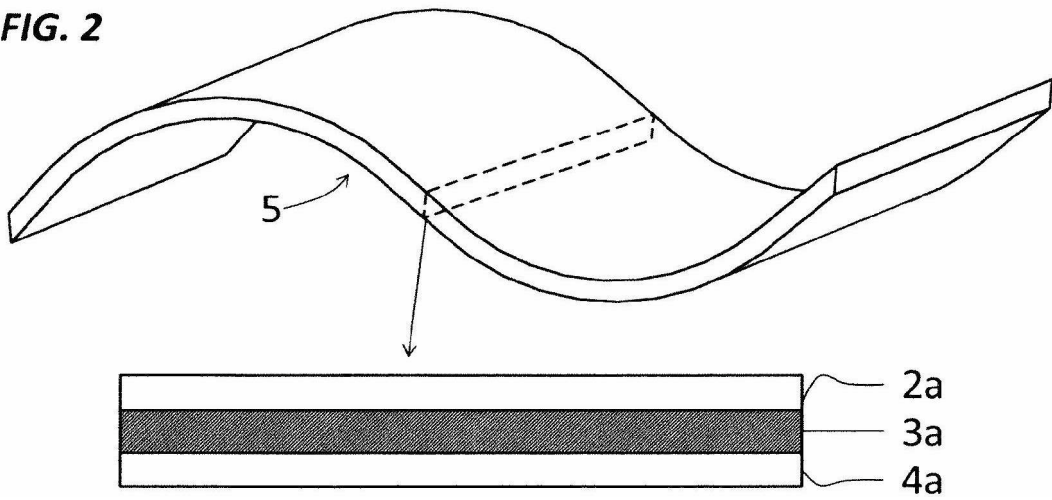


FIG. 3

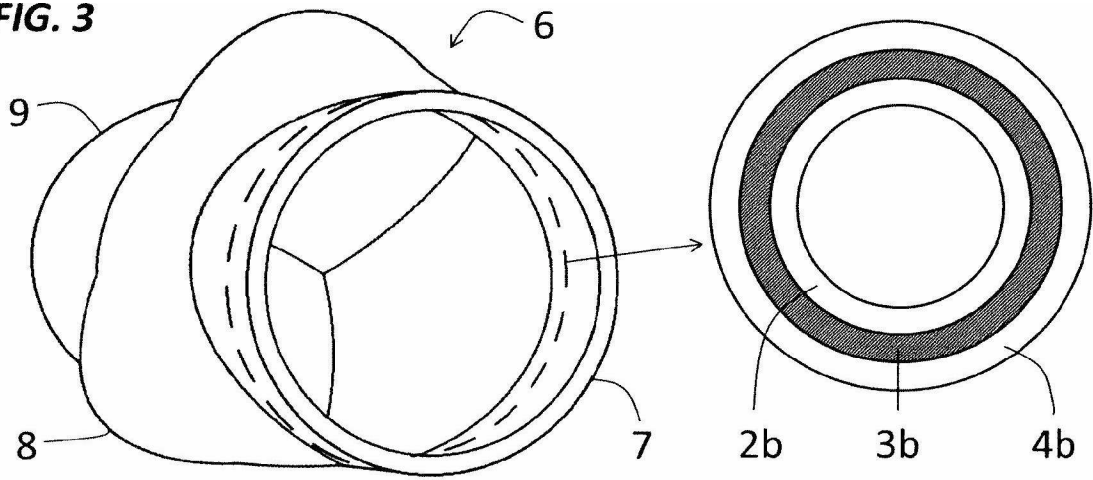
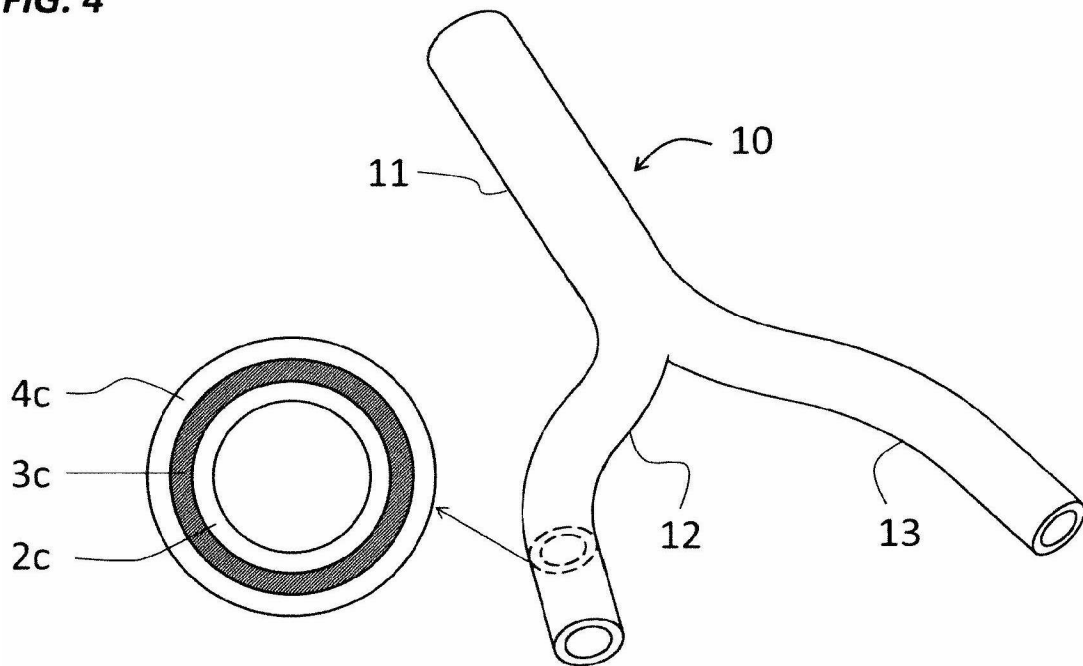


FIG. 4



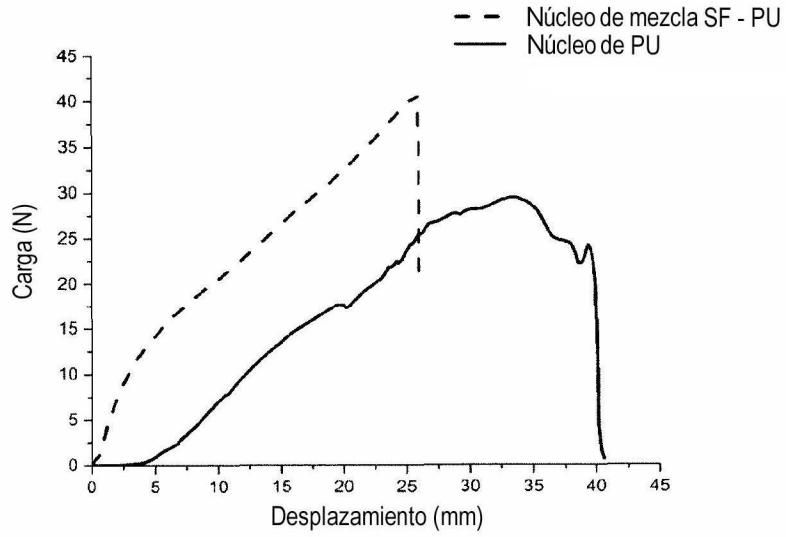


Fig. 5

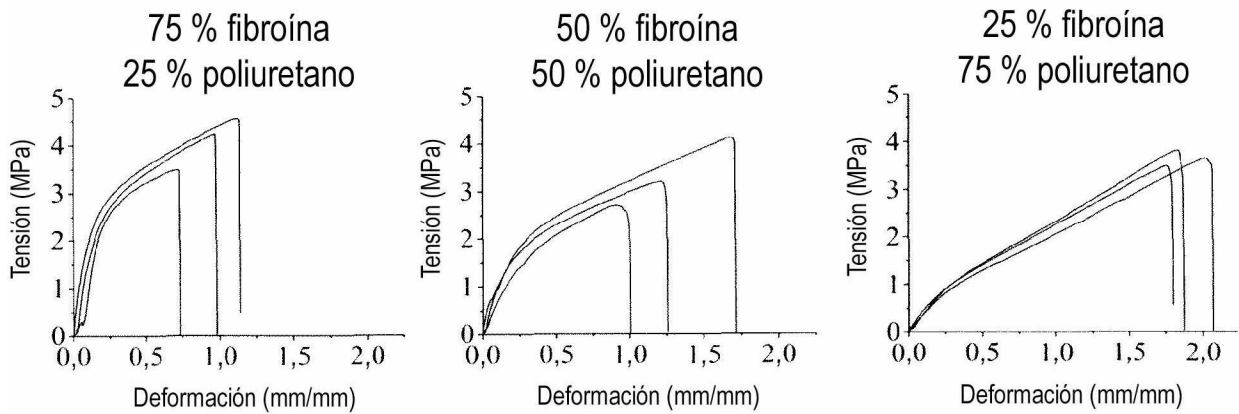


Fig. 6

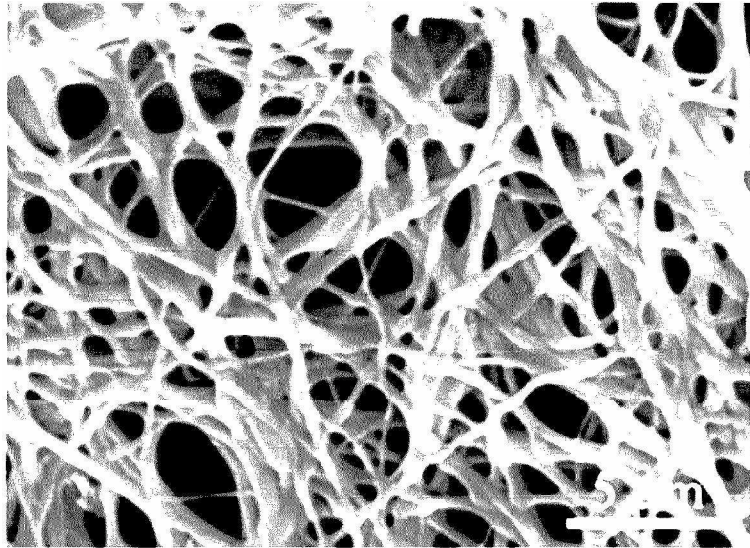


Fig. 7

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

Esta lista de referencias citada por el solicitante es únicamente para mayor comodidad del lector. No forman parte del documento de la Patente Europea. Incluso teniendo en cuenta que la compilación de las referencias se ha efectuado con gran cuidado, los errores u omisiones no pueden descartarse; la EPO se exime de toda responsabilidad al respecto.

Documentos de patentes citados en la descripción

- CN 101214393 B
- CN 101708344 B
- CN 101874751 B
- CN 103585674 A
- CN 102499800 A
- CN 102817105 A

Literatura no patente citada en la descripción

- **YONGZHEN TAO et al.** Rheological and Mechanical Behavior of Fibroin Reinforced Waterborne Polyurethane. *POLYMERS*, 21 March 2016, vol. 8 (3), 94
- **P PETRINI et al.** Fibroin-polyurethane scaffolds for tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 01 December 2001, 849-853, <https://rd.springer.com/content/pdf/10.1023/A:1012847301850.pdf>
- **CATTANEO I ; FIGLIUZZI M ; AZZOLLINI N ; V CATTO ; FARE S ; MC TANZI ; ALESSANDRINO A ; FREDDI G ; REMUZZI A.** In vivo regeneration of elastic lamina on fibroin biodegradable vascular scaffold. *Int J Artif Organs*, March 2013, vol. 36 (3), 166-74