

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 899 023**

(51) Int. Cl.:

C08J 3/24 (2006.01)
C08L 67/06 (2006.01)
A61L 24/04 (2006.01)
A61L 15/22 (2006.01)
A61L 15/58 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- (86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.05.2014** **PCT/US2014/039417**
(87) Fecha y número de publicación internacional: **27.11.2014** **WO14190302**
(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.05.2014** **E 14732750 (6)**
(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.10.2021** **EP 3004221**

(54) Título: **Adhesivos de tejidos hidrófobos**

(30) Prioridad:

24.05.2013 US 201361827240 P
08.01.2014 US 201461924864 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.03.2022

(73) Titular/es:

MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY
(33.3%)
77 Massachusetts Avenue
Cambridge, MA 02139, US;
THE CHILDREN'S MEDICAL CENTER
CORPORATION (33.3%) y
THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC.
(33.3%)

(72) Inventor/es:

KARP, JEFFREY M.;
DEL NIDO, PEDRO;
LANG, NORA;
LANGER, ROBERT S.;
PEREIRA, MARIA JOSE M.N. y
LEE, YUHAN

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 899 023 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

Adhesivos de tejidos hidrófobos

5 **DECLARACIÓN CON RESPECTO A LA INVESTIGACIÓN O EL DESARROLLO CON FONDOS FEDERALES**

La presente invención se realizó con el apoyo del gobierno de acuerdo con los acuerdos número GM086433 y DE013023 otorgada por el National Institutes of Health. El gobierno posee ciertos derechos sobre la presente invención.

10

Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de las colas y adhesivos quirúrgicos, especialmente a los que pueden utilizarse en cámaras cardíacas y vasos sanguíneos principales.

15

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica prioridad y el beneficio de prioridad de la solicitud provisional de Estados Unidos del n.º de serie 61/924.864, presentada el 8 de enero de 2014, titulada "Adhesivos de tejidos hidrófobos, métodos de fabricación y métodos de uso de los mismos" y de la solicitud provisional de Estados Unidos del n.º de serie 61/827.240, presentada el 24 de mayo de 2013, titulada "Adhesivos de tejidos hidrófobos, métodos de fabricación y métodos de uso de los mismos".

20

Antecedentes de la invención

25

Los defectos cardiovasculares son los defectos de nacimiento más comunes en niños y una causa principal de muerte en lactantes por debajo de un año de edad. Dado que la mayoría de defectos cardiovasculares congénitos son estructurales, que implican anomalías en las cámaras cardíacas, válvulas y vasos grandes, se requiere intervención quirúrgica para reparar agujeros, reconectar vasos anómalos y reconstruir válvulas para lograr una fisiología normal.

30

La cirugía también es necesaria para tratar enfermedades cardiovasculares adquiridas en adultos, incluyendo la patología de válvulas secundaria a la enfermedad cardíaca degenerativa o reumática, ruptura septal ventricular o de la pared libre seguida de infarto de miocardio y disección aórtica.

35

La cirugía cardíaca abierta normalmente se basa en un cierre basado en sutura o la unión de estructuras cardiovasculares; sin embargo, esto puede ser un reto técnicamente, debido a la fragilidad del tejido de los lactantes pequeños y al tejido adulto enfermo/dañado, que conduce a tiempos operatorios mayores, riesgo aumentado de complicaciones de sangrado o dehiscencia y por tanto, resultados peores. Además, se requiere derivación cardiopulmonar (CPB, del inglés, cardiopulmonary bypass) para la cirugía a corazón abierto, lo que puede tener efectos adversos considerables, incluyendo una respuesta inflamatoria y potenciales complicaciones neurológicas.

40

Si bien las intervenciones basadas en catéteres para el cierre de defectos cardíacos (por ejemplo, defectos septales atriales y ventriculares (ASD y VSD, del inglés, atrial septal defects y ventricular septal defects, respectivamente)) han aparecido recientemente en un esfuerzo por reducir la invasividad de los procedimientos, los retos principales permanecen al asegurar los dispositivos dentro del corazón latente. La fijación de dispositivos para el cierre basado en catéteres de defectos septales cardíacos actualmente se basa en medios mecánicos de agarre del tejido. Esto puede provocar lesión en estructuras críticas, tales como válvulas cardíacas o tejido de conducción especializado. Además, si existen bordes de tejido inadecuados alrededor de los defectos, la prótesis puede desprenderse, dañando las estructuras vecinas y también dejando defectos residuales, que limitan la aplicación de dispositivos. Por tanto, tales métodos solo pueden aplicarse en pacientes seleccionados, dependiendo de la localización anatómica y de la forma geométrica del defecto.

45

Los adhesivos de tejidos suaves y compatibles que curan rápidamente tienen resistencia adhesiva significativa y trabajan en presencia de sangre, ofrecen una solución potencial. Pueden utilizarse para unir superficies tisulares o dispositivos protésicos a tejidos sin la necesidad de atrapamiento o fijación mecánica, evitando por tanto la compresión y la erosión tisulares y pueden utilizarse también en procedimientos quirúrgicos mínimamente invasivos. Tales materiales pueden encontrar una amplia gama de aplicaciones, no solo en reparación cardíaca mínimamente invasiva, sino también en la reparación de tejidos blandos, potencialmente con cicatrización y daño mínimos. Por ejemplo, en cirugía vascular, la anastomosis basada en sutura no siempre da como resultado un sellado hemostático instantáneo y puede crear irregularidades en el endotelio que predispone a la trombosis. Además, la presencia de suturas permanentes puede crear una reacción de cuerpo extraño con inflamación y cicatrización adicionales en el sitio de reparación, que puede aumentar el riesgo de oclusión de vasos tardía. Los adhesivos tisulares podrían lograr tales reparaciones con un sellado instantáneo con una cicatrización o daño tisular mínimos.

50

Un adhesivo tisular ideal, especialmente para aplicaciones cardiovasculares y/o gastrointestinales, debe tener las siguientes propiedades: (1) baja viscosidad o propiedades similares a líquidos antes del curado, para permitir la aplicación sencilla a un área deseada, (2) lavado mínimo por los fluidos corporales y activación solo cuando se deseé

para facilitar el suministro y la recolocación de los dispositivos implantados durante los procedimientos mínimamente invasivos, (3) resistencia adhesiva significativa, especialmente en presencia de sangre y/u otros fluidos corporales, (4) capacidad para resistir las cargas mecánicas de la adhesión a tejido altamente móvil (por ejemplo, contracciones del corazón o pulsaciones en vasos grandes), (5) capacidad para formar un sellado hemostático, (6) respuesta mínima inflamatoria y (7) biodegradabilidad, que es especialmente importante para aplicaciones pediátricas, dado que las consecuencias a largo plazo de los materiales extraños en el cuerpo en crecimiento son inciertas.

5 Lamentablemente, los adhesivos clínicamente disponibles actuales, tales como el cianoacrilato (CA) de grado médico o el sellador de fibrina, se lavan fácilmente en condiciones dinámicas, son tóxicos y por tanto, no pueden utilizarse internamente y/o presentan una resistencia adhesiva y/o física débil en condiciones fisiológicas, de modo que no 10 pueden soportar las fuerzas dentro de las cámaras cardíacas y vasos sanguíneos principales. También, muchos de estos adhesivos presentan propiedades de activación que hacen muy difíciles los ajustes finos o la recolocación de los dispositivos. Asimismo, muchos adhesivos en desarrollo logran la adhesión tisular solo a través de la reacción 15 química con grupos funcionales en la superficie tisular y por tanto, se vuelven ineficaces en presencia de sangre.

15 Se han explorado alternativas al cianoacrilato. La patente de Estados Unidos n.º 8.143.042 de Bettinger *et al.* describe elastómeros biodegradables que pueden utilizarse para varias aplicaciones, tales como colas quirúrgicas. Los elastómeros se preparan mediante el reticulado de un prepolímero que contiene grupos funcionales reticulables, tales 20 como grupos acrilato. El prepolímero puede tener un peso molecular de entre alrededor de 300 daltons y 75000 daltons. La patente -042 desvela que el grado de acrilación puede variar de 0,3 a 0,8 y se define como "grado bajo de acrilación" como 0,31 y "grado alto de acrilación" como 0,41.

25 La densidad de reticulación puede afectar a las propiedades mecánicas y/o resistencia adhesiva del polímero reticulado/curado. La patente -042 desvela que cuando los prepolímeros descritos en ella se utilizan como una cola o un sellador quirúrgicos, la densidad de reticulación en el polímero curado, es decir, el porcentaje de grupos funcionales activados en la estructura del prepolímero correspondiente, es bajo preferentemente, menos de un 1 %, con el fin de aumentar el número de grupos hidroxilo libres y hacer el producto excesivamente pegajoso. La patente -042 desvela que es deseable aumentar el número de grupos hidroxilo libres en el polímero con el fin de aumentar la pegajosidad del polímero. Esto sugiere que el mecanismo primario de adhesión del polímero desvelado en la patente -042, como 30 muchos otros adhesivos en la técnica, son interacciones químicas entre grupos funcionales (por ejemplo, grupos hidroxilo) en el polímero y el tejido al que se aplica. Este tipo de interacción química llega a ser ineficaz en presencia de fluidos corporales, especialmente sangre (Artzi *et al.*, *Adv. Mater.* 21, 3399-3403 (2009)).

35 De manera similar, Mahdavi, *et al.*, *PNAS*, 2008, 2307-2312 describen un polímero de PGSA elastomérico nanomodelado con una capa fina de dextrano oxidado con funcionalidades de aldehídos (DXTA) para aumentar la resistencia de adhesión del adhesivo al promover la reticulación covalente entre el grupo aldehído terminal en DXTA con grupos amina en proteínas de tejido.

40 Este mecanismo de adhesión basado esencialmente en unión covalente entre los radicales generados durante el proceso de curado y los grupos funcionales del tejido, tiene varias limitaciones. El uso de adhesivos con química reactiva necesita superficies tisulares para secarse antes de la aplicación del prepolímero, lo que hace muy difícil el uso en la aplicación cardíaca, tal como durante los procedimientos de emergencia. Adicionalmente, la química reactiva puede desnaturalizar proteínas o tejido y promover una reacción inmunitaria indeseable, tal como la inflamación local que puede conducir al rechazo del adhesivo. Asimismo, la química reactiva que solo se une a la superficie del tejido 45 tendría probablemente una adhesión menor a medida que la interfaz fuera diferente y por tanto, habría una falta de coincidencia en las propiedades mecánicas en la interfaz entre la cola y el tejido.

50 Existe la necesidad de un sellador/adhesivo de tejidos mejorado que pueda aplicarse fácilmente a un sitio deseado, permanezca en el sitio en el lugar deseado antes del curado/reticulación, no se lave por fluidos corporales, sea biocompatible (no tóxico) y presente fuerzas adhesivas fuertes, tales como las encontradas dentro de las cámaras cardíacas y los vasos sanguíneos principales, incluso en presencia de fluidos corporales, tales como la sangre.

55 Por tanto, es un objetivo de la invención proporcionar adhesivos/selladores tisulares que puedan aplicarse fácilmente al sitio deseado y que permanezcan en el sitio en el lugar deseado antes del curado/reticulación y que no se lave por fluidos corporales.

60 Es un objetivo de la invención además proporcionar estos adhesivos/selladores tisulares que sean biocompatibles (no tóxicos).

65 Es también un objetivo de la invención proporcionar estos adhesivos/selladores tisulares que presenten fuerzas adhesivas fuertes y que soporten la alteración mecánica, tales como las encontradas dentro de las cámaras cardíacas y los vasos sanguíneos principales.

65 Es un objetivo adicional de la invención proporcionar métodos para fabricar estos adhesivos/selladores tisulares mejorados y métodos de uso de los adhesivos/selladores tisulares mejorados.

Sumario de la invención

El alcance de protección se define por las reivindicaciones. Cualquier referencia en la descripción a los métodos de tratamientos se refiere a los productos de la presente invención para su uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia. Se describen prepolímeros para usar como selladores y adhesivos tisulares y métodos para fabricar y utilizar los mismos. Los prepolímeros tienen características de flujo de manera que pueden aplicarse al área deseada a través de una jeringuilla o catéter (por ejemplo, viscosidad relativamente baja), pero son suficientemente viscosos para permanecer en el sitio en el lugar de aplicación y no escapar del tejido. El prepolímero también es suficientemente hidrófobo para resistir el lavado por fluidos corporales, tales como la sangre. Esto facilita el suministro al lugar deseado, así como la recolocación de los dispositivos implantados durante la cirugía mínimamente invasiva. El prepolímero es estable en fluidos corporales; no reticula espontáneamente en fluidos corporales sin la presencia de un estímulo aplicado intencionadamente (por ejemplo, luz UV, calor, iniciador químico) para iniciar la reticulación. El peso molecular del prepolímero puede variar. En algunas realizaciones, el peso molecular del prepolímero es de aproximadamente 1.000 daltons a aproximadamente 10.000 daltons, preferentemente aproximadamente 3.000 daltons. Tras la reticulación, el polímero curado presenta resistencia adhesiva significativa en presencia de sangre y otros fluidos corporales. El prepolímero puede incubarse en fluidos corporales, tal como sangre, antes de la administración y la reticulación, sin una disminución sustancial en la resistencia adhesiva cuando se reticula.

La resistencia adhesiva de los polímeros bioadhesivos puede mejorar en función de las propiedades mecánicas del polímero curado adhesivo y del grado de interdigitación o entrelazamiento del polímero curado con el tejido al que se aplica. El grado de entrelazamiento y las propiedades mecánicas son función del peso molecular del precursor, del grado de activación del prepolímero (por ejemplo, activación mediante acrilación) y del porcentaje de reticulación del polímero curado. El prepolímero se activa mediante la introducción de uno o más grupos funcionales que pueden reaccionar para formar reticulaciones entre las cadenas de polímeros. El prepolímero preferentemente está activado. Esto significa que los grupos funcionales reactivos se incorporan a la estructura del prepolímero. La activación de acuerdo con la realización preferida incluye introducir grupos vinílicos sustituidos o sin sustituir en la estructura del prepolímero. En realizaciones más preferidas, esto incluye la introducción de grupos acrilato sustituidos o sin sustituir, usando técnicas conocidas en la materia. De acuerdo con otra realización, la activación incluye introducir éster de vinilo, vinil carbamatos, vinil cetonas, amida de vinilo, vinil carbonato, grupos éter de vinilo o grupos vinilo en forma de alilo. En algunas realizaciones, la cadena de polímero es un poliéster formado a partir de un poliol sustituido o sin sustituir, tal como un triol y un diácido sustituido o sin sustituir. En realizaciones particulares, el triol es glicerol. Los grupos funcionales libres en el prepolímero pueden activarse introduciendo grupos funcionales reactivos que pueden hacerse reaccionar para formar reticulaciones para formar el sellador o adhesivo tisular. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los grupos hidroxi libres en el poliol pueden estar acrilados mediante la introducción de grupos acrilato. Los grupos acrilato reaccionan posteriormente para formar reticulaciones para formar el adhesivo o sellador. En algunas realizaciones, el grado de activación, preferentemente acrilación, del prepolímero es de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,9, más preferiblemente de aproximadamente 0,4 a aproximadamente 0,6. La densidad de reticulación en el polímero curado puede variarse, modificando el grado de activación, preferentemente acrilación y/o las condiciones de reticulación, tales como el tiempo. La densidad de reticulación es al menos de aproximadamente un 1 % a un 40 % o superior. En realizaciones particulares, la activación del prepolímero es la acrilación y las reticulaciones en el polímero curado contienen funcionalidad de éster de ácido dioico simple. La densidad de reticulación está en función del grado real de activación, preferentemente acrilación, del prepolímero (por ejemplo, número teórico de sitios de reticulación). Puede mejorarse además modulando el tiempo de reacción de reticulación (por ejemplo, cuántos grupos reaccionaron realmente) y/o la energía.

El prepolímero es suficientemente hidrófobo, de manera que tras la aplicación o administración al sitio deseado, el prepolímero repele el agua y no se lava por fluidos corporales, tales como la sangre. El prepolímero puede incubarse también en fluidos corporales, tal como sangre, sin reaccionar (por ejemplo, reticulación). Una vez aplicado y reticulado, el polímero curado no presenta pérdida o presenta una pérdida mínima en las propiedades adhesivas debido a la incubación en fluidos corporales, especialmente en sangre. Las propiedades mecánicas del adhesivo o sellador dependen de la densidad de reticulación del polímero curado.

En algunas realizaciones, el grado de activación, preferentemente acrilación, es de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,9. Los valores por debajo de este intervalo tienden a formar un adhesivo que no es suficientemente robusto mecánicamente, en particular para aplicaciones donde el adhesivo debe soportar presiones elevadas, tales como las cámaras cardíacas o los vasos sanguíneos y/o donde el adhesivo está en contacto, especialmente en contacto prolongado, con fluidos corporales, tales como la sangre. Los valores por encima de este intervalo tienden a formar adhesivos con un grado de rigidez mayor. Esto puede ser problemático para aplicaciones donde el adhesivo necesita flexionarse y moverse con el movimiento del paciente.

En algunas realizaciones, el prepolímero activado se aplica directamente al sitio deseado, tal como mediante inyección o a través de un catéter. El prepolímero debe ser suficientemente no viscoso como para ser inyectable a través de una aguja de jeringuilla que tiene un calibre de aproximadamente 14-20, preferentemente 14-18, pero suficientemente viscoso para permanecer en el sitio en el lugar de administración. El prepolímero debe ser también suficientemente hidrófobo para repeler agua y para que no se lave por fluidos corporales. El prepolímero puede mezclarse con un

agente fotoiniciador, terapéutico, profiláctico y/o de diagnóstico y/o uno o más excipientes y la mezcla aplicarse a través de inyección o un catéter. En algunas realizaciones, el prepolímero activado se cura en presencia de radiación electromagnética (por ejemplo, luz ultravioleta) para formar un adhesivo (polímero curado). De acuerdo con realizaciones alternativas, la similitud de polimerización puede iniciarse térmica o químicamente, por ejemplo, 5 utilizando un iniciador redox. En otras realizaciones, el prepolímero activado se aplica a un parche, que se aplica en el sitio deseado. El parche es suficientemente transparente (como se ha descrito anteriormente) para permitir la radiación electromagnética (por ejemplo, luz UV) para pasar a través del material del parche e iniciar la fotopolimerización del prepolímero para formar un adhesivo (polímero curado) en las realizaciones donde se utiliza un 10 fotoiniciador para iniciar la polimerización. En otras realizaciones, la polimerización puede iniciarse térmica o químicamente, por ejemplo, iniciador redox, en cuyo caso la transparencia del parche no es importante. La capa de cola debe estar en una cantidad que maximice la adhesión. En las realizaciones preferidas el espesor de la capa de cola está por encima de 74 µm, más preferentemente por encima de 200 µm.

15 El adhesivo (polímero curado) es lo suficientemente elástico para ser capaz de resistir el movimiento del tejido subyacente (por ejemplo, contracciones del corazón, vasos sanguíneos, etc.). El adhesivo (polímero curado) puede proporcionar un sello hemostático y es biodegradable y biocompatible, provocando una respuesta inflamatoria mínima. En realizaciones particulares, el polímero reticulado (o polímero curado) independiente o aplicado a un parche tiene una resistencia adhesiva de extracción de 90° de al menos 0,5 N/cm², al menos aproximadamente 1 N/cm², más preferentemente al menos aproximadamente 2 N/cm² y una o más de las siguientes características: (1) el peso 20 molecular del prepolímero es de aproximadamente 1.000 daltons a aproximadamente 10.000 daltons; (2) el grado de activación, preferentemente acrilación, es de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,9; y/o (3) la densidad de reticulación es al menos de aproximadamente un 1 % a un 40 % o superior. En realizaciones particulares, el polímero reticulado independiente o aplicado a un parche presenta resistencias al estallido de al menos 100 mmHg a 200 mmHg.

25 Los materiales pueden utilizarse en varias indicaciones donde se desee un sellador o un adhesivo o una barrera. Entre las indicaciones ilustrativas se incluyen la cirugía, tal como la cirugía cardiovascular (por ejemplo, áreas que tienen presiones elevadas, tales como cámaras cardíacas y/o vasos sanguíneos principales), la detención del sangrado debido a una herida o trauma (heridas de combate, accidentes de coche, etc.), el tratamiento de heridas que son 30 difíciles de cerrar o que fallan en curarse adecuadamente mediante mecanismos fisiológicos normales, por ejemplo, úlceras diabéticas, reparación de aneurismas, cierre de tejidos (tracto gastrointestinal, pulmón, etc.), la prevención de la formación de agujeros en el tejido, la prevención de la formación de adhesiones, la mejora/aumento de las propiedades mecánicas de los tejidos, etc. Los materiales descritos pueden utilizarse también para el suministro de fármacos individualmente o como parte del uso del material como un sellador, adhesivo o barrera.

35 En las realizaciones preferidas el material del parche es blando y elástico. Preferentemente, el material del parche tiene una elongación de al menos un 50 %, más preferentemente por encima de un 100 % y más preferentemente por encima de un 150 %. El parche debe tener preferentemente también un módulo de Young por debajo de 20 MPa, más preferentemente por debajo de 10 MPa y más preferentemente 5 MPa. En algunas realizaciones, el grosor del parche 40 es menor de aproximadamente 500 µm, más preferentemente menos de aproximadamente 400 µm, más preferentemente menos de aproximadamente 300 µm y más preferentemente, menos de aproximadamente 200 µm. Los parches son útiles como mallas de hernia, parches de suministro de fármacos, parches para prevenir la infección (es decir, bloqueo de entrada de bacterias/hongos en el tejido), que aumentan suturas/grapas o las reemplaza, 45 suministro de agentes localmente en el tejido, es decir, agentes quimioterapéuticos suministrados al tumor o quimio suministrada al sitio para evitar recurrencia, para promover la cicatrización/regeneración, colas/parches para aplicaciones dentales para la regeneración ósea guiada o injertos gingivales, parches para sellar huesos juntos, parches que colocan dispositivos o injertos para cartílago o hueso, reemplazo de tornillos en hueso), etc. El parche 50 puede aplicarse a cualquier órgano o sitio donde se requiera un adhesivo o sellador, tal como estómago, pulmón, corazón, páncreas, intestino, colon, hígado, riñón, aplicaciones ortopédicas, aplicaciones craneofaciales y aplicaciones dentales.

En algunas realizaciones, el parche puede ser de doble cara, es decir, prepolímero aplicado a ambas caras. En otras realizaciones, el material puede ser parte de una membrana de barrera, donde una cara es adhesiva y la otra no. El parche puede contener una topografía, por ejemplo, características a microescala o nanoscala creadas sobre la superficie del parche para potenciar la adhesión. Estas características pueden prepararse usando técnicas disponibles en la técnica, tales como la litografía. Estas características pueden tener cualquier forma y/o tamaño, dado que mejoran la adhesión en comparación con un parche sin las características.

Breve descripción de los dibujos

60 La Figura 1A representa la estructura química de un prepolímero de adhesivo activado por luz hidrófobo (HLAA; del inglés, hydrophobic light-activated adhesive) antes de la exposición a luz UV. La Figura 1B es la estructura química del HLAA tras la exposición a luz UV. La figura 1C es un gráfico de barras de la resistencia adhesiva (N/cm²) de un parche de poli(glicerol sebacato uretano) (PGSU) en función del adhesivo, para (de izquierda a derecha) cianoacrilato (CA, DERMABOND®), fibrina (TISSUESEAL®) y HLAA que no está curado (0 s) o que está 65 curado durante 1 s, 5 s y 30 s respectivamente. La Figura 1D es un gráfico de barras que muestra la resistencia

adhesiva de un adhesivo de HLAA en función del material de parche y el tiempo de curado. Los materiales del parche incluyen, de izquierda a derecha, poli(glicerol sebacato uretano) (PGSU), pericardio bovino, submucosa de intestino delgado porcino y polietilen tereftalato (PET). Los tiempo de curado de UV son 5 s o 30 s, como se indica debajo de cada barra. La Figura 1E es un gráfico de barras de la resistencia adhesiva relativa para los parches revestidos con HLAA (barra izquierda) o CA (barra derecha) después de haberse expuesto a sangre antes de la prueba de adhesión. No se observó un cambio significativo en la resistencia de adhesión para los parches de HLAA. Por el contrario, el parche de CA se activa inmediatamente tras el contacto con sangre, perdiendo casi toda la capacidad de adherirse a su sustrato previsto.

La Figura 2 es un gráfico que muestra la curva de estrés (MPa)-deformación (%) para la compresión de un HLAA curado durante 100 ciclos.

La Figura 3A es un gráfico que muestra el módulo de pérdida (G'') y el módulo de almacenamiento (G') en función de la frecuencia angular para el prepolímero de HLAA antes del curado. La Figura 3B es un gráfico que muestra la viscosidad (Pa·s) en función de la velocidad de cizalladura (1/s) para el prepolímero de HLAA.

La Figura 4 es un gráfico de la resistencia adhesiva (N/cm^2) en función del grado de acrilación (mol acrilato/mol glicerol) para HLAA.

La Figura 5A es un gráfico de barras de la resistencia adhesiva (N/cm^2) de HLAA curado durante 5 segundos con luz de 365 nm y una precarga de 3 Newton en función de la intensidad de luz (W/cm^2). La Figura 5B es un gráfico de barras de la resistencia adhesiva (N/cm^2) del HLAA curado durante 5 segundos con luz de 365 nm a una intensidad de 0,38 W/cm^2 en función de la precarga (N) durante el curado.

La Figura 6 es un gráfico del porcentaje de luz UV transmitida a través de los materiales del parche, yendo de izquierda a derecha, poli(glicerol sebacato uretano) (PGSU), pericardio bovino (PB), submucosa de intestino delgado porcino (SIS; del inglés, small intestine submucosa) y polietilen tereftalato (PET).

La Figura 7 es un gráfico de barras del grosor de un parche revestido de adhesivo de HLAA antes (barra izquierda) y después (barra derecha) de la exposición a sangre.

La Figura 8 describe las estructuras químicas que representan el poli(glicerol subarato) acrilado (PGSubA) y el poli(glicerol dodecanodoato) acrilado (PGDoA) evaluado en mediciones de adhesión.

La Figura 9 es un gráfico de barras de la fuerza de adhesión (N/cm^2) para GSubA (barra izquierda) y PGDoA (barra derecha). La línea discontinua representa el valor promedio obtenido para la adhesión del HLAA (PGSA).

La Figura 10 representa las estructuras químicas de los diferentes derivados acrilados producidos a partir de la estructura de prepolímero de PGS.

La Figura 11 es un gráfico de barras de la fuerza de adhesión (N/cm^2) para los diferentes derivados de acrilato producidos a partir de una estructura de prepolímero de PGS. La línea discontinua representa el valor promedio obtenido para la adhesión del HLAA (PGSA).

La Figura 12 representa la estructura química para un derivado de vinilo producido a partir del prepolímero de PGS (PGS-AI).

La Figura 13 es un gráfico de barras que muestra la fuerza de adhesión (N/cm^2) de PGS-AI. La línea discontinua representa el valor promedio obtenido para la adhesión del HLAA (PGSA).

La Figura 14 es un gráfico de barras de las veces de aumento en la resistencia adhesiva de HLAA en un sustrato blanco (barra izquierda) y uno revestido de colágeno (barra derecha).

Las Figuras 15A-15B son gráficos de barras del grado de necrosis (Figura 15A) y del grado de inflamación (15B) según se puntuó mediante una evaluación subjetiva realizada por un anatopatólogo con enmascaramiento de corazones explantados 7 días y 14 días después de la implantación con implantes de HLAA (barras izquierdas) y CA (barras derechas).

La Figura 16 es un gráfico que muestra el número de plaquetas depositadas en función del material.

45 Descripción detallada de la invención

I. Definiciones

50 "Adhesión de extracción de 90°" o "resistencia adhesiva de extracción de 90°" como se utiliza en el presente documento se refiere al valor de adhesión obtenido por la unión de un artículo o muestra adhesivos a un tejido húmedo, tal como la superficie epicárdica del tejido cardiaco, vasos sanguíneos o la cara serosa del tejido del intestino porcino, inmovilizado sobre un sustrato plano, tal como un adaptador metálico. La prueba de adhesión de extracción de 90° determina la fuerza perpendicular mayor (en tensión) que un área de superficie puede soportar antes del desprendimiento del adhesivo.

60 El término "biomoléculas", como se utiliza en el presente documento, se refiere a moléculas (por ejemplo, proteínas, aminoácidos, péptidos, polinucleótidos, nucleótidos, carbohidratos, azúcares, lípidos, nucleoproteínas, glucoproteínas, lipoproteínas y moléculas pequeñas) tanto de origen natural como creadas artificialmente (por ejemplo, mediante métodos de síntesis o recombinantes) que se encuentran comúnmente en células y tejidos. Las clases específicas de biomoléculas incluyen, pero sin limitación, enzimas, receptores, neurotransmisores, hormonas, citocinas, modificadores de la respuesta celular tales como factores de crecimiento y factores quimiotácticos, anticuerpos, vacunas, haptenos, toxinas, interferones, ribozimas, agentes antisensoriales, plásmidos, ADN y ARN.

65 Las expresiones "polinucleótido", "ácido nucleico" u "oligonucleótido" se refieren a un polímero de nucleótidos. Las expresiones "polinucleótido", "ácido nucleico" y "oligonucleótido", se pueden usar de manera indistinta. Normalmente,

un polinucleótido comprende al menos tres nucleótidos. Los ADN y ARN son polinucleótidos. El polímero puede incluir nucleósidos naturales (es decir, adenosina, timidina, guanosina, citidina, uridina, desoxiadenosina, desoxitimidina, desoxiguanosina y desoxicitidina), análogos de nucleósidos (por ejemplo, 2-aminoadenosina, 2-tiotimidina, inosina, pirrolo-pirimidina, 3-metil adenosina, C5-propinilcitidina, C5-propiniluridina, C5 bromouridina, C5 fluorouridina, C5 yodouridina, C5 metilcitidina, 7 desazaadenosina, 7 desazaguanosina, 8 oxoadenosina, 8 oxoguanosina, O(6) metilguanina y 2-tiocitidina), bases modificadas químicamente, bases modificadas biológicamente (por ejemplo, bases metiladas), bases intercaladas, azúcares modificados (por ejemplo, 2'-fluororribosa, ribosa, 2'-desoxirribosa, arabinosa y hexosa) o grupos fosfato modificados (por ejemplo, fosforotioatos y enlaces de 5'-N fosforamidita).

5 Como se utiliza en el presente documento, un "polipéptido", un "péptido" o una "proteína" comprende una cadena de al menos tres aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. Los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína", se pueden usar de manera indistinta. Péptido puede referirse a un péptido individual o a una colección de péptidos. Los péptidos inventivos preferentemente contienen solo aminoácidos naturales, aunque pueden emplearse como alternativa aminoácidos no naturales (es decir, compuestos que no se producen en la naturaleza, pero que se pueden incorporar a una cadena polipeptídica) y/o análogos de aminoácidos, como se conocen en la técnica.

10 Los términos "polisacárido", "carbohidrato" u "oligosacárido" se refieren a un polímero de azúcares. Los términos "polisacárido", "carbohidrato" y "oligosacárido", se pueden usar de manera indistinta. Normalmente, un polisacárido comprende al menos tres azúcares. El polímero puede incluir azúcares naturales (por ejemplo, glucosa, fructosa, 15 galactosa, manosa, arabinosa, ribosa y xilosa) y/o azúcares modificados (por ejemplo, 2'-fluororribosa, 2'-desoxirribosa y hexosa).

20 El término "biocompatible", como se utiliza en el presente documento, prevé describir materiales que no provocan una respuesta perjudicial sustancial *in vivo*. Por ejemplo, las colas de cianoacrilato no están aprobadas para usar *in vivo* debido a una inflamación y toxicidad considerable y por tanto no se consideran biocompatibles.

25 Como se utiliza en el presente documento, los polímeros "biodegradables" son polímeros que se degradan en especies oligoméricas y/o monoméricas en condiciones fisiológicas o endosomales. En diversas realizaciones preferidas, los 30 subproductos de polímeros y de biodegradación de polímeros son biocompatibles. Los polímeros biodegradables no son necesariamente hidrolíticamente degradables y pueden requerir una acción enzimática para degradarse completamente.

35 La expresión "condiciones fisiológicas", como se utiliza en el presente documento, se refiere a la gama de condiciones químicas (por ejemplo, pH, fuerza iónica) y bioquímicas (por ejemplo, concentraciones enzimáticas) probables de encontrar en los fluidos intracelulares y extracelulares de los tejidos. Para la mayoría de tejidos, el pH fisiológico varía de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 7,4.

40 "Hidrófobo", como se utiliza en el presente documento, significa que el prepolímero repele el agua suficientemente para permanecer en el sitio en el lugar de aplicación/administración antes de la reticulación.

45 "Inyectable", como se utiliza en el presente documento, significa la composición de prepolímero es suficientemente menos viscosa, es decir que puede aplicarse mediante una jeringuilla que necesita, por ejemplo, una aguja que tiene un calibre de 14-20, preferentemente 14-18, más preferentemente 16-18. En alguna realización, la aguja es de calibre 18.

50 "Grado de activación", como se utiliza en el presente documento, se refiere a la cantidad real de activación/funcionalización en el prepolímero. El grado de activación normalmente se expresa como moles de agente de activación por mol de resto a acilar. Por ejemplo, la acrilación (por ejemplo, grado de acrilación) se expresa como moles del agente de acrilación (por ejemplo, cloruro de acrilo) por mol de resto a acilar (por ejemplo, glicerol). En otras realizaciones, el grado de activación (por ejemplo, grado de acrilación) puede expresarse como un porcentaje de los restos disponibles que se han activado y que están disponibles para la reticulación. El porcentaje real de restos que se reticulan normalmente es menor que el porcentaje de restos que se activan, dado que el grado de reticulación depende del tiempo de estímulo (por ejemplo, tiempo de irradiación, tiempo de calentamiento, etc.).

55 "Reticulado en presencia de sangre", como se utiliza en el presente documento, significa que el prepolímero puede incubarse en sangre u otros fluidos corporales antes de la aplicación/administración con poca o sin reticulación. El prepolímero se reticula sustancialmente solo después de la aplicación intencionada de un estímulo externo, tal como luz UV, calor, iniciador químico, etc. Esto contrasta con otros adhesivos conocidos, tales como cianoacrilatos, que son altamente reactivos a la humedad en la atmósfera circundante y deben almacenarse en un ambiente inerte, seco, 60 antes de su uso. Tales adhesivos no pueden exponerse a los fluidos corporales antes de la aplicación en el sitio deseado.

65 Como se utiliza en el presente documento, "agentes bioactivos" se utiliza para referirse a compuestos o entidades que alteran, inhiben, activan o afectan de otra forma eventos biológicos o químicos.

Como se utiliza en el presente documento, el término "tejido" se refiere a una colección de células similares

combinadas para realizar una función específica y a cualquier matriz extracelular que rodea a las células.

El término "sustituido" como se utiliza en el presente documento significa reemplazar un hidrógeno o uno o más átomos, por ejemplo, carbono, nitrógeno, oxígeno, etc., de una molécula. Los sustituyentes pueden incluir, por ejemplo,

5 alquilo, alquenilo, alquinilo, halógeno, hidroxilo, alquilcarboniloxi, arilcarboniloxi, alcoxcarboniloxi, ariloxicarboniloxi, carboxilato, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alcoxcarbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, alcoxilo, ciano, amino (incluyendo alquil amino, dialquilamino, arilamino, diarilamino, y alquilarilamino), acilamino (incluyendo alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, carbamoilo y ureido), amidino, imino, sulfhidrilo, alquiltio, ariltio, nitro, trifluorometilo, ciano, azido, heterociclico, alquilarilo o un grupo aromático o 10 heteroaromático. Por consiguiente, la expresión "un sustituyente como se describe en el presente documento" o similar se refiere a uno o más de los sustituyentes anteriores y a las combinaciones de los mismos.

El término "alquilo" incluye grupos alifáticos saturados, que incluye tanto "alquilos no sustituidos" como "alquilos sustituidos", el último de los cuales se refiere a grupos alquilo que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno en uno o más carbonos de la estructura de hidrocarburos. El término "alquilo" incluye grupos alquilo de cadena recta (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, etc.), grupos alquilo de cadena ramificada (isopropilo, *tert*-butilo, isobutilo, etc.), grupos cicloalquilo (alicílicos) (ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo) y grupos alquilo sustituidos de cicloalquilo. El término "alquilo" también incluye las cadenas laterales de aminoácidos naturales y no naturales.

20 Un grupo "alquilarilo" o un "aralquilo" es un alquilo sustituido con un arilo (por ejemplo, fenilmetil (bencilo)).

El término "arilo" incluye grupos aromáticos de un solo anillo de 5 y 6 miembros, así como grupos arilo multicíclicos, por ejemplo, tricíclicos, bicíclico, por ejemplo, naftaleno, antraceno, fenantreno, etc.). El (los) anillo(s) aromático(s) 25 puede(n) estar sustituido(s) en una o más posiciones del anillo con dichos sustituyentes como se ha descrito anteriormente. Los grupos arilo también pueden estar fusionados o puenteados con, por ejemplo, anillos alicílicos o heterocílicos que no son aromáticos, de modo que forman, por ejemplo, un policiclo.

30 El término "alquenilo" incluye grupos alifáticos insaturados análogos en longitud y posible sustitución a los alquilos descritos anteriormente, pero contienen al menos un doble enlace. Por ejemplo, el término "alquenilo" incluye grupos alquenilo de cadena recta (por ejemplo, etenilo, propenilo, butenilo, pentenilo, hexenilo, heptenilo, octenilo, nonenilo, decenilo, etc.), grupos alquenilo de cadena ramificada, grupos cicloalquenilo (alicílicos) (ciclopropenilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo, cicloheptenilo, ciclooctenilo), grupos cicloalquenilo alquil o alquenil sustituidos y grupos alquenilo cicloalquil o cicloalquenil sustituidos. El término alquenilo incluye tanto "alquenilos no sustituidos" como "alquenilos sustituidos", el último de los cuales se refiere a grupos alquenilo que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno en uno o más carbonos de la estructura de hidrocarburos.

35 El término "alquinilo" incluye grupos alifáticos insaturados análogos en longitud y posible sustitución a los alquilos descritos anteriormente, pero contienen al menos un triple enlace. Por ejemplo, el término "alquinilo" incluye grupos alquinilo de cadena recta (por ejemplo, etinilo, propinilo, butinilo, pentinilo, hexinilo, heptinilo, octinilo, noninilo, decinilo, etc.), grupos alquinilo de cadena ramificada y grupos alquinilo cicloalquil o cicloalquenil sustituidos. El término alquinilo incluye tanto "alquinilos no sustituidos" como "alquinilos sustituidos", el último de los cuales se refiere a grupos alquinilo que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno en uno o más carbonos de la estructura de hidrocarburos.

45 El término acilo incluye compuestos y grupos que contienen el radical acilo ($\text{CH}_3\text{CO}-$) o un grupo carbonilo. El término "acilo sustituido" incluye grupos acilo que tienen sustituyentes que reemplazan uno o más de los átomos de hidrógeno.

50 El término "acilamino" incluye grupos en donde un grupo acilo está unido a un grupo amino. Por ejemplo, el término incluye alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, grupos carbamoilo y ureido.

55 El término aroilo incluye compuestos y grupos con un arilo o un grupo heteroaromático unido a un grupo carbonilo. Entre los ejemplos de grupos aroilo se incluyen fenilcarboxi y naftil carboxi.

El término "alcoxialquilo", "alquilaminoalquilo" y "tioalcoxialquilo" incluye grupos alquilo, como se ha descrito anteriormente, que incluyen adicionalmente átomos de oxígeno, nitrógeno o sulfuro que reemplazan uno o más carbonos de la estructura de hidrocarburo, por ejemplo, átomos de oxígeno, nitrógeno o sulfuro.

60 El término "alcoxi" incluye grupos alquilo no sustituido y sustituido, alquenilo y alquinilo unidos covalentemente a un átomo de oxígeno. Los ejemplos de grupos alcoxi incluyen grupos metoxi, etoxi, isopropiloxi, propoxi, butoxi y pentoxi y pueden incluir grupos cílicos, tales como ciclopentoxi.

65 El término "amina" o "amino" incluye compuestos donde un átomo de nitrógeno se une covalentemente a al menos un carbono o heteroátomo. La expresión "alquil amino" incluye grupos y compuestos en donde el nitrógeno se une a al menos un grupo alquilo adicional. La expresión "dialquil amino" incluye grupos en donde el átomo de nitrógeno se une a al menos dos grupos alquilo adicionales. El término "arilamino" y "diarilamino" incluye grupos en donde el nitrógeno se une a al menos uno o dos grupos arilo, respectivamente. El término "alquilarilamino", "alquilaminoarilo" o

"arilaminoalquilo" se refiere a un grupo amino que está unido a al menos un grupo alquilo y a al menos un grupo arilo. El término "alcaminoalquilo" se refiere a un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo unido a un átomo de nitrógeno que está unido también a un grupo alquilo.

- 5 El término "amida" o "aminocarboxi" incluye compuestos o grupos que contienen un átomo de nitrógeno que está unido al carbono de un carbonilo o de un grupo tricarbonilo. El término incluye grupos "alcaminocarboxi" que incluyen grupos alquilo, alquenilo o alquinilo unidos a un grupo amino unido a un grupo carboxi. Incluye grupos arilaminocarboxi que incluyen grupos arilo o heteroarilo unidos a un grupo amino que se une al carbono de un grupo carbonilo o tiocarbonilo. Los términos "alquilaminocarboxi", "alquenilaminocarboxi", "alquinilaminocarboxi", y "arilaminocarboxi" incluyen grupos en donde los grupos alquilo, alquenilo, alquinilo y arilo, respectivamente, se unen a un átomo de nitrógeno que está en cambio unido al carbono de un grupo carbonilo.

El término "carbonilo" o "carboxi" incluye compuestos y grupos que contienen un carbono conectado con un doble enlace a un átomo de oxígeno y formas tautoméricas del mismo. Entre los ejemplos de grupos que contienen un carbonilo se incluyen aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, amidas, ésteres, anhídridos, etc. La expresión "grupo carboxi" o "grupo carbonilo" se refiere a grupos, tales como grupos "alquilcarbonilo" en los que un grupo alquilo se une covalentemente a un grupo carbonilo, grupos "alquenilcarbonilo" en los que un grupo alquenilo se une covalentemente a un grupo carbonilo, grupos "alquinilcarbonilo" en los que un grupo alquinilo se une covalentemente a un grupo carbonilo, grupos "arilcarbonilo" en los que un grupo arilo se une covalentemente al grupo carbonilo. Además, el término también se refiere a grupos en donde uno o más heteroátomos se unen covalentemente al grupo carbonilo. Por ejemplo, el término incluye grupos tales como, por ejemplo, grupos aminocarbonilo, (en donde un átomo de nitrógeno se une al carbono del grupo carbonilo, por ejemplo, una amida), grupos aminocarboniloxi, en donde un átomo de oxígeno y uno de nitrógeno se unen al carbono del grupo carbonilo (por ejemplo, denominado también como un "carbamato"). Además, también se incluyen los grupos aminocarbonilamino (por ejemplo, ureas) así como también otras combinaciones de grupos carbonilo unidos a heteroátomos (por ejemplo, átomos de nitrógeno, oxígeno, azufre, etc. así como de carbono). Además, el heteroátomo puede sustituirse con uno o más grupos alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, aralquilo, acilo, etc.

- 30 El término "éter" incluye compuestos o grupos que contienen un oxígeno unido a dos átomos diferentes de carbono o heteroátomos. Por ejemplo, el término incluye "alcoxialquilo" que se refiere a un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo unido covalentemente a un átomo de oxígeno que se une covalentemente a otro grupo alquilo.

35 El término "éster" incluye compuestos y grupos que contienen un carbono o un heteroátomo unido a un átomo de oxígeno que se une al carbono de un grupo carbonilo. El término "éster" incluye grupos alcoxcarboxi tales como metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, propoxicarbonilo, butoxicarbonilo, pentoxicarbonilo, etc. Los grupos alquilo, alquenilo o alquinilo son como se definió anteriormente.

- 40 El término "hidroxi" o "hidroxilo" incluye grupos con un -OH o -O-.
- 45 El término "halógeno" incluye flúor, bromo, cloro, yodo, etc. El término "perhalogenado" generalmente se refiere a un grupo en donde todos los hidrógenos se reemplazan por átomos de halógeno.

50 El término "heteroátomo" incluye átomos de cualquier elemento distinto de carbono o hidrógeno. Los heteroátomos preferidos son nitrógeno y oxígeno. El término "heterocírculo" o "heterocíclico" incluye anillos saturados, insaturados, aromáticos ("heteroarilos" o "heteroaromáticos") y policíclicos que contienen uno o más heteroátomos. El heterocíclico puede estar sustituido o sin sustituir. Los ejemplos de heterocíclicos incluyen, por ejemplo, benzodioxazol, benzofurano, benzimidazol, benzotiazol, benzotiofeno, benzoxazol, cromeno, deazapurina, furano, indol, indolizina, imidazol, isoxazol, isoindol, isoquinolina, isotiaozol, metilenodioxifenilo, naftiridina, oxazol, purina, pirano, pirazina, pirazol, piridazina, piridina, pirimidina, pirrol, quinolina, tetrazol, tiazol, tiofeno y triazol. Otros heterociclos incluyen morfolino, pipracina, piperidina, tiomorfolino y tioazolidina.

- 55 Las expresiones "anillo policíclico" y "estructura de anillo policíclico" incluyen grupos con dos o más anillos (por ejemplo, cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos y/o heterociclos) en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes, por ejemplo, los anillos son "anillos condensados". Los anillos que se unen a través de átomos no adyacentes se denominan anillos "puenteados". Cada uno de los anillos del anillo policíclico puede estar sustituido con tales sustituyentes como se ha descrito anteriormente.

- 60 El término "alrededor de" o "aproximadamente" como se utiliza en el presente documento generalmente significa dentro del 20 %, preferentemente, dentro del 10 % y más preferentemente, dentro del 5 % de un valor o intervalo de valores dado. La expresión "alrededor de x" incluye además x.

II. Prepolímeros

- 65 Los prepolímeros para usar como selladores y adhesivos de tejidos tienen características de flujo de manera que pueden aplicarse al área deseada a través de una jeringuilla o catéter (por ejemplo, viscosidad relativamente baja), pero son suficientemente viscosos para permanecer en el sitio en el lugar de aplicación y no escapar del tejido.

"Prepolímero", como se utiliza en el presente documento, se refiere al polímero activado antes de la reticulación. El prepolímero también es suficientemente hidrófobo para resistir el lavado por fluidos corporales, tales como la sangre. Esto facilita el suministro al lugar deseado, así como la recolocación de los dispositivos implantados durante la cirugía mínimamente invasiva. El prepolímero es estable en fluidos corporales; no reticula espontáneamente en fluidos corporales sin la presencia de un estímulo aplicado intencionadamente (por ejemplo, luz UV, calor, iniciador químico) para iniciar la reticulación. El peso molecular del prepolímero puede variar. En algunas realizaciones, el peso molecular del prepolímero es de aproximadamente 1.000 daltons a aproximadamente 10.000 daltons, de aproximadamente 2.000 daltons a aproximadamente 10.000 daltons, de aproximadamente 3.000 daltons a aproximadamente 10.000 daltons, de aproximadamente 5.000 daltons a aproximadamente 10.000 daltons. En algunas realizaciones, el peso molecular promedio del prepolímero es de aproximadamente 3.000 daltons. Tras la reticulación, el polímero curado presenta resistencia adhesiva significativa en presencia de sangre y otros fluidos corporales. El prepolímero puede incubarse en fluidos corporales, tal como sangre, antes de la administración y la reticulación, sin una disminución sustancial en la resistencia adhesiva cuando se reticula. El adhesivo (polímero curado) es lo suficientemente elástico para ser capaz de resistir el movimiento del tejido subyacente (por ejemplo, contracciones del corazón, vasos sanguíneos, etc.). El adhesivo (polímero curado) puede proporcionar un sello hemostático y es biodegradable y biocompatible, provocando una respuesta inflamatoria mínima.

La resistencia adhesiva de los polímeros bioadhesivos puede mejorar en función de las propiedades mecánicas del polímero curado adhesivo y del grado de interdigitación o entrelazamiento del polímero curado con el tejido al que se aplica. El grado de entrelazamiento y las propiedades mecánicas son función del peso molecular del precursor, del grado de activación del prepolímero (por ejemplo, activación mediante acrilación) y del porcentaje de reticulación del polímero curado. El prepolímero se activa mediante la introducción de uno o más grupos funcionales que pueden reaccionar para formar reticulaciones entre las cadenas de polímeros. El material resultante es preferentemente biodegradable y elastomérico. En algunas realizaciones, la cadena de polímero es un poliéster formado a partir de un poliol sustituido o sin sustituir, tal como un triol y un diácido sustituido o sin sustituir. En realizaciones particulares, el triol es glicerol. Los grupos funcionales libres en el prepolímero pueden activarse introduciendo grupos funcionales reactivos que pueden hacerse reaccionar para formar reticulaciones para formar el sellador o adhesivo tisular. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los grupos hidroxi libres en el poliol pueden estar acrilados mediante la introducción de grupos acrilato. Los grupos acrilato reaccionan posteriormente para formar reticulaciones para formar el adhesivo o sellador. En algunas realizaciones, el grado de activación, preferentemente acrilación, del prepolímero es de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,9, preferentemente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 0,7, más preferiblemente de aproximadamente 0,4 a aproximadamente 0,6. En realizaciones particulares, el grado de activación, preferentemente acrilación, es aproximadamente 0,5. La densidad de reticulación en el polímero curado puede variarse, modificando el grado de activación, preferentemente acrilación y/o las condiciones de reticulación, tales como el tiempo. En algunas realizaciones, la densidad de reticulación es al menos aproximadamente un 1 %, un 2 %, un 3 %, un 4 %, un 5 %, un 6 %, un 7 %, un 8 %, un 9 %, un 10 %, un 12 %, un 15 %, un 18 %, un 20 %, un 22 %, un 25 %, un 28 %, un 30 %, un 32 %, un 35 %, un 38 %, un 40 % o más. En realizaciones particulares, la activación del prepolímero es la acrilación y las reticulaciones en el polímero curado contienen funcionalidad de éster de ácido dioico simple.

En realizaciones particulares, el polímero reticulado (o polímero curado) independiente o aplicado a un parche tiene una resistencia adhesiva de extracción de 90° de al menos 0,5 N/cm², al menos aproximadamente 1 N/cm² o incluso al menos aproximadamente 2 N/cm² y una o más de las siguientes características: (1) el peso molecular del prepolímero es de aproximadamente 1.000 daltons a aproximadamente 10.000 daltons, de aproximadamente 2.000 daltons a aproximadamente 10.000 daltons, de aproximadamente 3.000 daltons a aproximadamente 10.000 daltons, de aproximadamente 5.000 daltons a aproximadamente 10.000 daltons o de acuerdo con realizaciones preferidas, aproximadamente 3.000 daltons; (2) el grado de activación, preferentemente acrilación, es de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,9, de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 0,8, de aproximadamente 0,4 a aproximadamente 0,6 o aproximadamente 0,5; y/o (3) la densidad de reticulación es al menos aproximadamente un 1 %, un 2 %, un 3 %, un 4 %, un 5 %, un 6 %, un 7 %, un 8 %, un 9 %, un 10 %, un 12 %, un 15 %, un 18 %, un 20 %, un 22 %, un 25 %, un 28 %, un 30 %, un 32 %, un 35 %, un 38 %, un 40 % o más. En realizaciones particulares, el polímero curado independiente o aplicado a un parche presenta resistencias al estallido de al menos 100 mmHg, 140 mmHg, 150 mmHg, 160 mmHg, 170 mmHg, 180 mmHg, 190 mmHg, 200 mmHg o mayores de 200 mmHg.

El prepolímero es suficientemente hidrófobo, de modo que tras la aplicación o administración al sitio deseado, el prepolímero repele el agua y no se lava por fluidos corporales, tales como la sangre. Esto contrasta con los selladores/adhesivos de tejidos hidrófilos en la materia, tal como los materiales basados en polietilenglicol (PEG), que se lavan mediante los fluidos corporales después de la aplicación/administración. El prepolímero puede incubarse también en fluidos corporales, tal como sangre, sin reaccionar (por ejemplo, reticulación). Una vez aplicado y reticulado, el polímero curado no presenta pérdida o presenta una pérdida mínima en las propiedades adhesivas debido a la incubación en fluidos corporales, especialmente en sangre. Esto contrasta con adhesivos conocidos, tales como cianoacrilatos, que son altamente reactivos y deben almacenarse en un ambiente inerte, seco, antes de su uso, dado que los materiales reaccionarán debido a la humedad en el ambiente circundante (por ejemplo, aire, fluidos corporales, etc.). Estos materiales no pueden incubarse en fluidos corporales antes de su uso.

El prepolímero preferentemente está activado. Esto significa que los grupos funcionales reactivos se incorporan a la

estructura del prepolímero. La activación de acuerdo con la realización preferida incluye introducir grupos vinílicos sustituidos o sin sustituir en la estructura del prepolímero. En realizaciones más preferidas, esto incluye la introducción de grupos acrilato sustituidos o sin sustituir, usando técnicas conocidas en la materia. En una realización, la activación incluye introducir éster de vinilo, vinil carbamatos, vinil cetonas, amida de vinilo, vinil carbonato, grupos éter de vinilo o grupos vinilo en forma de alilo...

Las propiedades mecánicas del adhesivo o sellador dependen de la densidad de reticulación del polímero curado. La densidad de reticulación en el polímero curado es mayor de un 1 %, por ejemplo, mayor de un 5 %, un 8 %, un 10 %, un 12 %, un 15 %, un 18 %, un 20 %, un 22 %, un 25 %, un 28 %, un 30 %, un 32 %, un 35 %, un 38 %, un 40 % o más. La densidad de reticulación está en función del grado real de activación, preferentemente acrilación, del prepolímero (por ejemplo, número teórico de sitios de reticulación). Puede mejorarse además modulando el tiempo de reacción de reticulación (por ejemplo, cuántos grupos reaccionaron realmente) y/o la energía.

En algunas realizaciones, el grado de activación, preferentemente acrilación, es de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,9, preferentemente de aproximadamente 0,4 a aproximadamente 0,75, más preferentemente aproximadamente 0,5. Los valores por debajo de este intervalo tienden a formar un adhesivo que no es suficientemente robusto mecánicamente, en particular para aplicaciones donde el adhesivo debe soportar presiones elevadas, tales como las cámaras cardíacas o los vasos sanguíneos y/o donde el adhesivo está en contacto, especialmente en contacto prolongado, con fluidos corporales, tales como la sangre. Los valores por encima de este intervalo tienden a formar adhesivos con un grado de rigidez mayor. Esto puede ser problemático para aplicaciones donde el adhesivo necesita flexionarse y moverse con el movimiento del paciente.

El adhesivo es lo suficientemente elástico para ser capaz de resistir el movimiento del tejido subyacente (por ejemplo, contracciones del corazón, vasos sanguíneos, etc.). El adhesivo puede proporcionar un sellado hemostático. El adhesivo es biodegradable y biocompatible, provocando una respuesta inflamatoria mínima. El adhesivo es preferentemente elastomérico.

En algunas realizaciones, los prepolímeros se preparan haciendo reaccionar un poliol, tal como un diol, un triol, un tetraol o superior con un poliácido, tal como un diácido o ácido de orden mayor para formar un poliéster. Pueden utilizarse también otras estructuras de prepolímeros para formar prepolímeros activados que incluyen, aunque no de forma limitativa polí(éster amidas) polí(uretanos) y/u otros materiales elastoméricos. Los grupos hidroxilo libres del prepolímero pueden activarse, tal como por acrilación o vinilación, para formar el prepolímero activado. En algunas realizaciones la reacción de acrilación sucede a través de acilación de los grupos hidroxilo libres. En otra realización, los grupos hidroxilo libres en el prepolímero pueden activarse a través de un enlazador de isocianato que genera enlaces de uretano. Otros grupos funcionales (por ejemplo, ácido carboxílico, amina, etc.) pueden activarse en lugar de o además de los grupos hidroxilo libres.

A. Poliol

"Poliol", como se utiliza en el presente documento, significa una molécula o resto que contiene dos o más grupos hidroxilo. Si solo se utiliza un tipo de poliol, el poliol contiene tres o más grupos hidroxilo. En otras realizaciones, puede utilizarse una mezcla de diferentes polioles cuando alguno de los polioles contiene dos o más grupos hidroxilo y los otros polioles contienen tres o más grupos hidroxilo. Los polioles adecuados incluyen dioles, tales como dioles de alcano; trioles, tales como glicerol, trimetilolpropano, trietanolamina; tetraoles, tales como eritritol, pentaeritritol; y polioles superiores, tales como sorbitol. Los dioles insaturados, tales como tetradeca-2,12-dieno-1,14-diol u otros dioles incluyendo dioles macromonómeros tales como, por ejemplo, óxido de polietileno y N-metildietanoamida (MDEA) pueden utilizarse también. En una realización, el poliol es glicerol sustituido o sin sustituir.

Además de la incorporación al prepolímero, los polioles pueden incorporarse en el polímero reticulado resultante a través de, por ejemplo, química del acrilato. Por ejemplo, los dioles podrían acrilarse primero y a continuación, combinarse con prepolímero acrilado utilizando una reacción de polimerización de radicales libres. En diversas realizaciones, pueden utilizarse aldehídos y tioles, por ejemplo, para unir proteínas y factores de crecimiento al prepolímero.

B. Poliácido

Puede utilizarse una amplia variedad de diácidos o de ácidos de orden superior en la formación de composiciones poliméricas biodegradables elásticas. Los ácidos ilustrativos incluyen, pero sin limitación, ácido glutárico (5 carbonos), ácido adípico (6 carbonos) ácido pimélico (7 carbonos), ácido subérico (8 carbonos) y ácido acelaico (nueve carbonos). Entre los diácidos de cadena larga se incluyen diácidos que tienen más de 10, más de 15, más de 20 y más de 25 átomos de carbono. Pueden utilizarse diácidos no alifáticos. Por ejemplo, pueden utilizarse versiones de los diácidos anteriores que tienen uno o más enlaces dobles para producir copolímeros de poliol-diácido.

Pueden incorporarse aminas y grupos aromáticos en la cadena de carbono. Los diácidos aromáticos ilustrativos incluyen ácido tereftálico y caboxifenoxy-propano. Los diácidos también puede incluir sustituyentes. Por ejemplo, en diversas realizaciones, pueden utilizarse grupos reactivos como amina e hidroxilo para aumentar el número de sitios

disponibles para la reticulación. En diversas realizaciones, pueden utilizarse aminoácidos y otras biomoléculas para modificar las propiedades biológicas del polímero. En diversas realizaciones, pueden utilizarse grupos aromáticos, grupos alifáticos y átomos de halógeno para modificar las interacciones intercaternarias dentro del polímero. En una realización, el diácido es ácido sebálico sustituido o sin sustituir.

5

C. Prepolímero activado

El prepolímero preferentemente está activado. Puede activarse introduciendo grupos funcionales que pueden reaccionar o hacerse reaccionar para formar reticulaciones. El prepolímero se activa haciendo reaccionar uno o más grupos funcionales en la estructura del polímero con uno o más grupos funcionales que pueden reaccionar o hacerse reaccionar para formar reticulaciones que dan como resultado un polímero curado. En algunas realizaciones, el grupo funcional reactivo a reticular en el prepolímero es un grupo vinilo sustituido o sin sustituir. En algunas realizaciones, la reticulación en el polímero curado correspondiente es o contiene una funcionalidad de éster dioico individual.

10 Los grupos funcionales adecuados a activarse en la estructura del prepolímero incluyen grupos hidroxi, grupos ácido carboxílico, aminas y combinaciones de los mismos. En realizaciones particulares, el grupo funcional a activarse es hidroxi y/o ácido carboxílico. En realizaciones más particulares, es hidroxi. Los grupos hidroxi libres en el prepolímero pueden activarse mediante la funcionalización de los grupos hidroxi con un resto que puede formar una reticulación entre cadenas de polímero. En alguna realización, los grupos que se activan son grupos hidroxilo en restos A y/o B en el prepolímero.

15 Los grupos hidroxi libres pueden funcionalizarse con varios grupos funcionales. En una realización, los grupos hidroxi libres se funcionalizan con grupos vinilo. Los grupos vinilo pueden introducirse mediante varias técnicas conocidas en la técnica, tal como mediante vinilación o acrilación. Los grupos vinilo contienen la siguiente estructura $-\text{CR}_1=\text{CR}_2\text{R}_3$ en donde R_1 , R_2 , R_3 se seleccionan independientemente entre sí de H, alquilo (por ejemplo, metilo, etilo), arilo (por ejemplo, fenilo), alquilo sustituido, arilo sustituido, ácido carboxílico, éster, amida, amina, uretano, éter y carbonilo

20 En una realización, el grupo funcional es o contiene un grupo acrilato. El grupo acrilato son restos que contienen un grupo acriloilo sustituido o sin sustituir. De acuerdo con una realización específica, contiene el grupo siguiente: , - $\text{C}(\text{=O})-\text{CR}_1=\text{CR}_2\text{R}_3$, en donde R_1 , R_2 , R_3 se seleccionan independientemente entre sí, en el grupo que consiste en H, alquilo (por ejemplo, metilo, etilo), arilo (por ejemplo, fenilo), alquilo sustituido, arilo sustituido, ácido carboxílico, éster, amida, amina, uretano, éter y carbonilo

25 Las realizaciones preferidas incluyen cuando R_1 , R_2 y R_3 son H; R_1 es CH_3 , R_2 y R_3 son H; R_1 y R_2 son H y R_3 es CH_3 ; y R_1 y R_2 son H y R_3 es fenilo. Los grupos vinilo pueden incorporarse también en la estructura del prepolímero utilizando grupos carboxilo libres en el prepolímero. Por ejemplo, el metacrilato de hidroxietilo puede incorporarse a través de los grupos COOH del prepolímero utilizando la química de activación de carbonil diimidazol.

30 El grado de activación puede variar. En algunas realizaciones, el grado de activación es de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,9, preferentemente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 0,8, lo más preferentemente de aproximadamente 0,4 a aproximadamente 0,6. En realizaciones particulares, el grado de activación, preferentemente de acrilación, es aproximadamente 0,5. En realizaciones particulares, el grado de activación es como se ha descrito anteriormente y el grupo funcional reactivo es acrilato (grado de acrilación).

35 45 Además de acrilatos u otros grupos vinilo, pueden utilizarse otros agentes para activar el prepolímero. Los ejemplos de dichos agentes incluyen, pero sin limitación, glicidilo, epiclorhidrina, trifenilfosfina, azodicarboxilato de dietilo (DEAD; del inglés, diethyl azodicarboxylate), diazirina, diviniladipato y divinilsebacato con el uso de enzimas como catalizadores, reactivos similares a fosgeno, cloruros diácidos, bisanhídridos, bishaluros, superficies metálicas y combinaciones de los mismos.

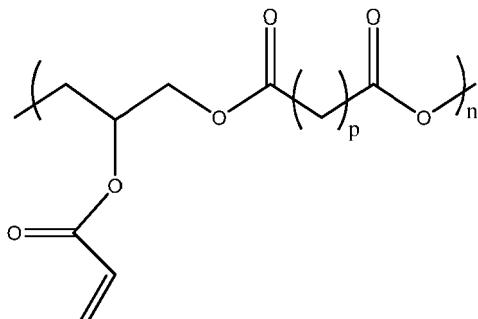
50 55 El prepolímero activado debe tener una viscosidad que permita al prepolímero permanecer en el sitio en el lugar de administración sin que se lave por los fluidos corporales, tales como agua y/o sangre. En algunas realizaciones, la viscosidad del prepolímero es entre aproximadamente 0,5 a aproximadamente 100 $\text{Pa}\cdot\text{s}$, preferentemente entre aproximadamente 1,0 y aproximadamente 50 $\text{Pa}\cdot\text{s}$, más preferentemente entre aproximadamente 2,0 a aproximadamente 40 $\text{Pa}\cdot\text{s}$ y más preferentemente entre aproximadamente 2,5 a aproximadamente 25 $\text{Pa}\cdot\text{s}$. La viscosidad del prepolímero se determina en parte por el peso molecular del prepolímero.

60 65 El peso molecular promedio en peso es menos de 20.000 daltons. En otras realizaciones, el peso molecular es entre aproximadamente 1000 daltons a aproximadamente 10.000 daltons, entre aproximadamente 2.000 daltons a aproximadamente 10.000 daltons, entre aproximadamente 3.000 daltons a aproximadamente 10.000 daltons o entre aproximadamente 5.000 daltons a aproximadamente 10.000 daltons. En una realización preferida, es aproximadamente 3.000 daltons.

70 La naturaleza hidrófoba del prepolímero funciona para mantener el prepolímero en el sitio en el lugar de administración al repeler el agua. La hidrofobicidad depende de la composición química del prepolímero, que incluye la naturaleza hidrófoba de la estructura del polímero (por ejemplo, las cadenas de alquilo más largas son más hidrófobas que las

cadenas cortas) y del grado de activación.

En algunas realizaciones, el prepolímero tiene la siguiente estructura química:



5

donde p es un número entero de 1-20, preferentemente de 2-20, más preferentemente de 4-10 y n es un número entero de 1-10.000. En algunas realizaciones, las reticulaciones son entre una porción de los restos A. En otras realizaciones, las reticulaciones pueden ser entre una porción de los restos B. Incluso en otras 10 realizaciones, las reticulaciones pueden ser entre una porción de los restos A y B. Una "porción", como se utiliza en el presente documento, significa alguna cantidad menos que la cantidad total, por ejemplo, menos de un 10 %, un 15 %, un 20 %, un 25 %, un 30 %, un 35 %, un 40 %, un 45 %, un 50 %, un 55 %, un 60 %, un 65 %, un 70 % o un 75 %. En algunas realizaciones, la porción de grupos funcionales que están activados es menos de un 60 %, preferentemente 15 menos de un 55 %, más preferiblemente menos de un 50 %.

El prepolímero activado puede reaccionar además con uno o más materiales adicionales para modificar las reticulaciones entre las cadenas de polímero. Por ejemplo, antes o durante el curado/reticulación, uno o más hidrogel(es) u otros precursores poliméricos (por ejemplo, precursores que pueden modificarse para contener grupos acrilato) tales como polí(etylenglicol), dextrano, quitosano, ácido hialurónico y alginato, otros precursores basados en acrilato, tales como ácido acrílico, acrilato de butilo, acrilato de 2-ethylhexilo, acrilato de metilo, acrilato de etilo, acrilonitrilo, n-butanol, metacrilato de metilo y trimetilol propano trimetacrilato ("TMPTA"), trimetacrilato de pentaeritritol, tetrametacrilato de pentaeritritol, etilenglicol dimetacrilato, dipentaeritritol penta acrilato, (bis fenol A glicidil metacrilato) ("Bis-GMA") y (trietilenglicol dimetacrilato) ("TEGDMA"), acrilato de sacarosa y combinaciones de los mismos, pueden 20 hacerse reaccionar con el prepolímero acrilado (por ejemplo, PGSA).

25

III. Métodos de fabricación de los prepolímeros

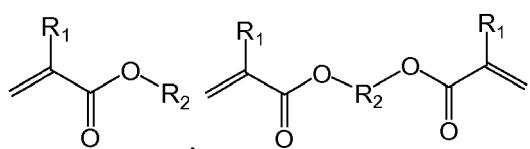
Los grupos reticulables, tales como grupos vinilo, pueden incorporarse en la estructura del prepolímero con o sin el uso de catalizador, aunque se prefiere el uso de un catalizador. Puede utilizarse una amplia variedad de catalizadores, 30 incluyendo, pero sin limitación, 4-(dimetilamino)piridina, *N*-hidroxi-succinimida, carbodiimidas y piridina. Preferentemente, la reacción se lleva a cabo en un disolvente. Los ejemplos de disolventes adecuados incluyen, pero sin limitación, benceno, tolueno, cloroformo, diclorometano, acetato de etilo y tetrahidrofurano.

En algunas realizaciones, puede llevarse a cabo la activación del prepolímero a través de vinilación. Entre los ejemplos 35 de grupos vinilo adecuados para activar el prepolímero se incluyen éster de vinilo sustituido o sin sustituir, vinil carbamatos sustituidos o sin sustituir, vinil cetonas sustituidas o sin sustituir, vinil amidas sustituidas o sin sustituir, vinil carbonatos sustituidos o sin sustituir, grupos éter de vinilo sustituidos o sin sustituir y grupos vinilo sustituidos o sin sustituir en forma de alilo. Los grupos vinilo pueden introducirse en el prepolímero mediante varias técnicas conocidas en la técnica anterior. Estas pueden ser, pero sin limitación, reacciones de acilación o uretanización.

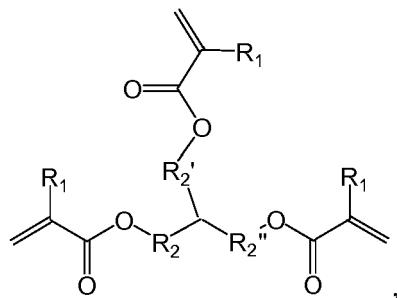
40

En algunas realizaciones, los grupos hidroxilo libres (u otros grupos funcionales, tales como aminas o ácidos carboxílicos) pueden activarse mediante acrilación, generando grupos acrilato. Los ejemplos de acrilatos adecuados incluyen, pero sin limitación, metacrilato, 3-fenilacrilato, beta-metacrilato vinil metacrilato, maleico metacrilato y los que tienen la estructura:

45

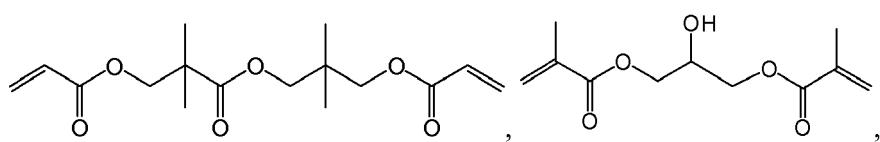
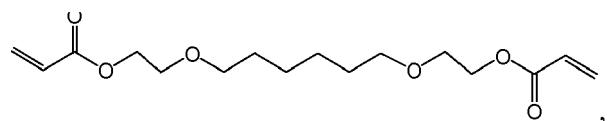


o

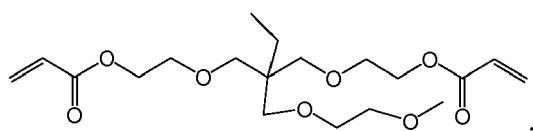
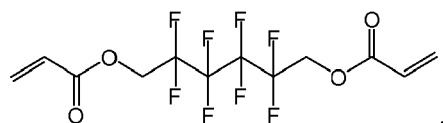


5 donde R_1 puede ser metilo o hidrógeno; y R_2 , R_2' y R_2'' pueden ser grupos alquilo, arilo, heterociclos, cicloalquilo, heterociclos aromáticos, multicicloalquilo, hidroxilo, éster, éter, haluro, ácido carboxílico, amino, alquilamino, dialquilamino, trialquilamino, amido, carbamoil tioéter, tiol, alcoxi o ureido. R_2 , R_2' y R_2'' pueden incluir también ramificaciones o sustituyentes que incluyen grupos alquilo, arilo, heterociclos, cicloalquilo, heterociclos aromáticos, multicicloalquilo, hidroxilo, éster, éter, haluro, ácido carboxílico, amino, alquilamino, dialquilamino, trialquilamino, amido, carbamoil tioéter, tiol, alcoxi o ureido.

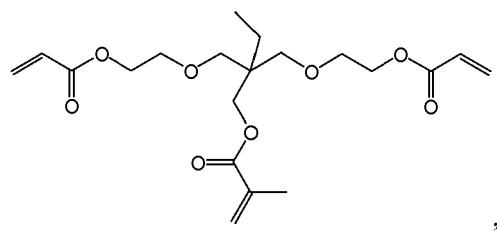
10 Los ejemplos adicionales de monómeros de acrilato adecuados incluyen, pero sin limitación,



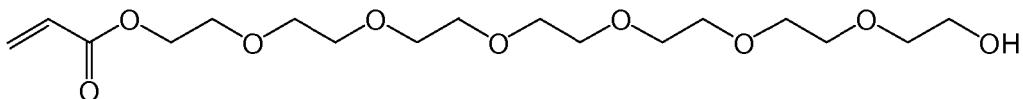
15



20



y



- La activación del prepolímero a través de acrilación puede llevarse a cabo mediante la reacción del prepolímero con un acriloílo, tal como cloruro de acriloílo, generando un grupo acrilato a través de una acilación. La reacción puede 5 llevarse cabo en presencia de catalizadores, tal como trietilamina y 4-(dimetilamino)piridina ("4-DMAP"). La reacción puede llevarse a cabo en un disolvente orgánico, tal como diclorometano anhídrido. Se prefiere que esta reacción se lleve a cabo en condiciones secas utilizando estos reactivos. Los grupos de ácido carboxílico libres pueden acrilarse 10 en esta reacción.
- 10 Puede utilizarse el grado de activación, preferentemente grado de acrilación, del prepolímero para ajustar las propiedades del polímero reticulado resultante.

En realizaciones alternativas, el prepolímero activado, preferentemente acrilado, es un líquido viscoso que puede 15 curarse sin disolvente.

III. Métodos para la fabricación de adhesivos

En diversas realizaciones, los prepolímeros activados pueden estar reticulados para formar una red polimérica curada 20 que utiliza una reacción iniciada por radicales libres, tales como, por ejemplo, por polimerización fotoiniciada, polimerización termoniniciada y polimerización iniciada por rédox.

El prepolímero acrilado puede irradiarse con luz (normalmente luz ultravioleta (UV)) en presencia de un fotoiniciador 25 para facilitar la reacción. Los ejemplos de fotoiniciadores adecuados incluyen, pero sin limitación, 2-dimetoxi-2-fenil-acetofenona, 2-hidroxi-1-[4-(hidroxietoxi)fenil]-2-metil-1-propanona (IRGACURE® 2959), 1-hidroxiciclohexil-1-fenil 30 cetona (IRGACURE® 184), 2-hidroxi-2-metil-1-fenil-1-propanona (DAROCUR® 1173), 2-bencil-2-(dimetilamino)-1-[4-morfolinil]fenil]-1-butanona (Irgacure 369), metilbenzoilformato (DAROCUR® MBF), oxi-fenil-ácido acético-2-[2-oxo-2-fenil-acetoxi-etoxi]-etil éster (IRGACURE® 754), 2-metil-1-[4-(metiltio)fenil]-2-(4-morfolinilo)-1-propanona (IRGACURE® 907), óxido de 2,4,6-trimetilbenzoil-difenil-fosfina (DAROCUR® TPO), óxido de fosfina, fenil bis(2,4,6-trimetil benzoyl) (IRGACUR®E 819) y combinaciones de los mismos.

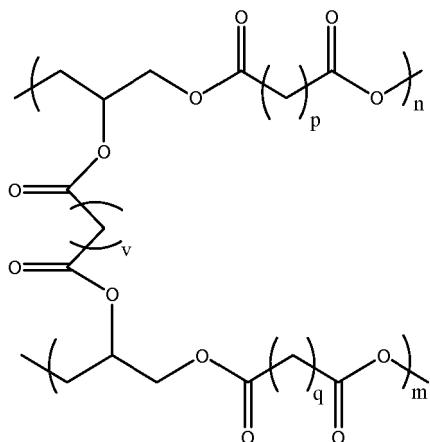
30 En diversas realizaciones preferidas, el prepolímero activado se irradia con luz visible (normalmente luz azul o luz verde) en presencia de un fotoiniciador para facilitar la reacción. Los ejemplos de fotoiniciadores para luz visible incluyen, pero sin limitación, sal disódica de eosina Y, NVP y trietanolamina y canforquinona.

35 En algunas realizaciones, el prepolímero se reticula por fotopolimerización. Con el fin de que se produzca la fotopolimerización, el prepolímero (y el sustrato al que se aplica) debe ser suficientemente transparente para la luz UV. En algunas realizaciones, el prepolímero (y el sustrato) transmite al menos un 5, 10, 12, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 u 80 % o superior de la luz UV. El período de tiempo de irradiación se puede variar con el fin de 40 alcanzar la cantidad deseada de reticulación. En algunas realizaciones, el tiempo de irradiación es de aproximadamente 1 segundo, 5 segundos, 10 segundos, 15 segundos, 20 segundos, 30 segundos, 45 segundos, un minuto, 90 segundos o dos minutos o superior. La intensidad de la luz se puede variar según se necesite para lograr la reticulación suficiente. En algunas realizaciones, la intensidad es menor de aproximadamente 0,45 W/cm². En algunas realizaciones, el prepolímero se aplica a un parche, en donde el parche es transparente al uso de radiación para reticular el prepolímero para formar el adhesivo.

45 En las realizaciones que implican una fotopolimerización y otras aplicaciones médicas *in vivo*, el uso de fotoiniciadores citocompatibles es preferente y puede requerirse por las agencias reguladoras. Se ha informado de que el fotoiniciador IRGACURE® 2959 provoca una citotoxicidad mínima (muerte celular) en una amplia gama de tipos celulares y especies de mamíferos.

50 En algunas realizaciones, el prepolímero activado se reticula *in vivo*. La temperatura a la que se produce la reticulación tiene que controlarse para no dañar el tejido sobre el que se ha aplicado el prepolímero. En algunas realizaciones, la mezcla de prepolímero no se calienta por encima de aproximadamente 45 °C durante la irradiación, preferentemente no por encima de aproximadamente 37 °C y más preferentemente no por encima de aproximadamente 25 °C.

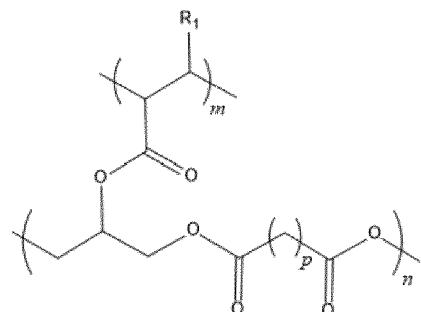
55 En algunas realizaciones, el polímero curado tiene la siguiente estructura:



donde p y q son independientemente un número entero de 1-20, preferentemente 2-20, más preferentemente de 2-10, más preferentemente de 4-10 y m y n son independientemente un número entero de 1-10.000.

5

En otras realizaciones, el polímero curado tiene la siguiente estructura:



10 en donde m, n y p representan cada uno independientemente un número entero mayor que 1 y R1 es hidrógeno o metilo.

Además de la reticulación fotoquímica, el prepolímero puede reticularse: térmicamente, mediante una reacción similar a la de Mitsunobu, mediante una polimerización iniciada por un par redox (por ejemplo, peróxido de benzoílo, N,N-dimetil-p-toluidina, persulfato de amonio, "TEMED") o mediante una reacción de adición similar a la de Michael utilizando un compuesto de sulfhidrilo bifuncional. Puede utilizarse una reacción del tipo de Mitsunobu para reticular el prepolímero. Por ejemplo, se hace reaccionar un prepolímero de PGS disuelto en THF, en condiciones de temperatura y presión ambiente, con azodicarboxilato de diisopropilo y trifenilfosfina. En aproximadamente 1 hora de tiempo de reacción se forma el producto de la composición de poliéster reticulado elastomérico final. Las condiciones moderadas de esta reacción permiten la incorporación de varios grupos funcionales, tales como, por ejemplo, ésteres, epóxidos, haluros, en la composición de poliéster reticulado elastomérico. En otras realizaciones, pueden utilizarse monoácidos para introducir cadenas laterales unidas a ésteres y utilizarse monoalcoholes para crear cadenas laterales unidas a éteres.

25 Los enlaces y las hebras de polímero de la red no son homogéneos en una red polimérica curada. La formación de diferentes reticulaciones en la red polimérica curada puede explotarse para ajustar u optimizar las propiedades del polímero curado resultante. Por ejemplo, redes poliméricas, tales como las formadas por la fotopolimerización de PGSA y de polietilen glicol acrilado (PEGD), contienen tanto reticulaciones de éster dioico individuales como reticulaciones formadas a partir de PEGD.

30 Las propiedades mecánicas de los materiales pueden variarse para adaptarse a la aplicación deseada variando la composición química de la estructura y/o reticulaciones poliméricas, el peso molecular de la estructura y/o reticulación del polímero, el grado de activación (por ejemplo, grado de acrilación) y/o la densidad de reticulación. En algunas realizaciones, los materiales presentan una deformación por compresión máxima mayor de aproximadamente un 30 %, tal como mayor de un 35 %, un 40 %, un 45 %, un 50 % o más. En otras realizaciones, los materiales reticulados presentan una deformación por compresión máxima mayor de aproximadamente 0,5 MPa, tal como superior a 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,25 o 1,5 MPa.

En algunas realizaciones, el polímero curado es biodegradable. La biodegradabilidad puede evaluarse *in vitro*, tal

como en solución salina tamponada con fosfato (PBS) o en condiciones alcalinas ácidas. En otras realizaciones, la biodegradabilidad puede evaluarse *in vivo*, tal como en un animal (por ejemplo, ratones, ratas, perros, cerdos, seres humanos). La velocidad de degradación puede evaluarse midiendo la pérdida de masa del polímero a lo largo del tiempo *in vitro* o *in vivo*. La velocidad de degradación depende de varios factores, incluyendo el peso molecular del polímero, la composición química de la estructura y/o reticulaciones del polímero y/o densidad de reticulación.

5 La densidad de reticulación (después de la reticulación del prepolímero) es mayor de un 1 %, un 2 %, un 3 %, un 4 %, un 5 %, un 6 %, un 7 %, un 8 %, un 9 %, un 10 %, un 12 %, un 15 %, un 18 %, un 20 %, un 22 %, un 25 %, un 28 %, un 30 %, un 32 %, un 35 %, un 38 % o un 40 %. Las densidades de reticulación superiores permiten obtener una 10 cohesión de material tras la reticulación. Se cree que el mecanismo del principio de adhesión es el entrelazamiento de cadenas. Aumentando el grado de reticulación, el grado de entrecruzamiento de cadenas y la cohesión polimérica aumenta, contribuyendo por tanto a un aumento en la resistencia adhesiva. La densidad de reticulación necesaria se logra mediante la combinación óptima del grado de activación (por ejemplo, acrilación) y el tiempo de exposición o el 15 tiempo de reacción y/o energía para la reacción de reticulación. Por ejemplo, en las realizaciones donde el prepolímero se fotopolimeriza, el tiempo de exposición del prepolímero a la radiación electromagnética aplicada afecta a la densidad de reticulación. Por el contrario, la técnica anterior enseña una densidad de reticulación mucho menor, menos de un 1 %, preferentemente menos de un 0,5 %, más preferentemente menos de un 0,05 %, con el fin de maximizar el número de grupos hidroxilo disponibles para interaccionar con la superficie tisular.

20 **IV. Métodos de uso**

A diferencia de los adhesivos tisulares convencionales que se activan espontáneamente durante la aplicación o en presencia de agua o de los adhesivos que son hidrófilos y por tanto están sujetos al lavado antes del curado, los materiales descritos en el presente documento pueden aplicarse a sustratos húmedos sin activación o desplazamiento. 25 Los materiales también pueden aplicarse a sustratos secos.

Si bien los adhesivos activados ligeros se han descrito anteriormente, la mayoría de estos adhesivos son hidrófilos, conduciendo a un hinchamiento sustancial y a un lavado rápido en presencia de esfuerzo de cizalladura. Se estudiaron prepolímeros hidrófobos biocompatibles reticulables por UV y biodegradables, tales como polí(glicerol sebacato 30 acrilato) compuesto de dos monómeros de origen natural: (1) glicerol; un bloque de construcción básico de lípidos y (2) ácido sebálico; un intermedio metabólico de ácidos grasos. Tanto el glicerol como el ácido sebálico existen en los productos aprobados por la Food and Drug Administration de Estados Unidos para aplicaciones médicas.

35 Los materiales pueden utilizarse en varias indicaciones donde se deseé un sellador o un adhesivo o una barrera. Las indicaciones ilustrativas incluyen, pero sin limitación, cirugía, tal como la cirugía cardiovascular (por ejemplo, áreas que tienen presiones elevadas, tales como cámaras cardíacas y/o vasos sanguíneos principales), la detención del sangrado debido a una herida o trauma (heridas de combate, accidentes de coche, etc.), el tratamiento de heridas que son difíciles de cerrar o que fallan en curarse adecuadamente mediante mecanismos fisiológicos normales, por ejemplo, úlceras diabéticas, reparación de aneurismas, cierre de tejidos (tracto gastrointestinal, pulmón, etc.), la 40 prevención de la formación de agujeros en el tejido, la prevención de la formación de adhesiones, la mejora/aumento de las propiedades mecánicas de los tejidos, etc. Los materiales descritos pueden utilizarse también como parte del uso del material como un sellador, adhesivo o barrera.

45 En algunas realizaciones, el prepolímero activado se aplica directamente al sitio deseado, tal como mediante inyección o a través de un catéter. El prepolímero debe ser suficientemente no viscoso como para ser inyectable a través de una aguja de jeringuilla que tiene un calibre de aproximadamente 14-20, preferentemente 14-18, pero suficientemente viscoso para permanecer en el sitio en el lugar de administración. El prepolímero debe ser también suficientemente hidrófobo para repeler agua y para que no se lave por fluidos corporales. El prepolímero puede mezclarse con un agente fotoiniciador, terapéutico, profiláctico y/o de diagnóstico y/o uno o más excipientes y la mezcla aplicarse a 50 través de inyección o un catéter. En algunas realizaciones, el prepolímero activado se cura en presencia de radiación electromagnética (por ejemplo, luz ultravioleta) para formar un adhesivo (polímero curado).

55 Como alternativa, la polimerización puede iniciarse térmica o químicamente, por ejemplo, utilizando un iniciador redox. En otras realizaciones, el prepolímero activado se aplica a un parche, que se aplica en el sitio deseado. El parche es suficientemente transparente (como se ha descrito anteriormente) para permitir la radiación electromagnética (por ejemplo, luz UV) para pasar a través del material del parche e iniciar la fotopolimerización del prepolímero para formar un adhesivo (polímero curado) en las realizaciones donde se utiliza un fotoiniciador para iniciar la polimerización. En otras realizaciones, la polimerización puede iniciarse térmica o químicamente, por ejemplo, iniciador redox, en cuyo caso la transparencia del parche no es importante.

60 La capa de cola debe estar en una cantidad que maximice la adhesión. En las realizaciones preferidas el espesor de la capa de cola está por encima de 74 µm, más preferentemente por encima de 200 µm.

65 En las realizaciones preferidas el material del parche es blando y elástico. Preferentemente, el material del parche tiene una elongación de al menos un 50 %, más preferentemente por encima de un 100 % y más preferentemente por encima de un 150 %. El parche debe tener preferentemente también un módulo de Young por debajo de 20 MPa, más

preferentemente por debajo de 10 MPa y más preferentemente 5 MPa. En algunas realizaciones, el grosor del parche es menor de aproximadamente 500 μm , más preferentemente menos de aproximadamente 400 μm , más preferentemente menos de aproximadamente 300 μm y más preferentemente, menos de aproximadamente 200 μm .

- 5 Las aplicaciones adecuadas incluyen, pero sin limitación, mallas de hernia, parches de suministro de fármacos, parches para prevenir la infección (es decir, bloqueo de entrada de bacterias/hongos en el tejido), que aumentan suturas/grapas o las reemplaza, suministro de agentes localmente en el tejido, es decir, agentes quimioterapéuticos suministrados al tumor o quimio suministrada al sitio para evitar recurrencia (es decir, glioblastoma) + promover la cicatrización/regeneración, colas/parches para aplicaciones dentales para la regeneración ósea guiada o injertos gingivales, parches para sellar huesos juntos, parches que colocan dispositivos o injertos para cartílago o hueso, reemplazo de tornillos en hueso), etc. El parche puede aplicarse a cualquier órgano o sitio donde se requiera un adhesivo o sellador, tal como estómago, pulmón, corazón, páncreas, intestino, colon, hígado, riñón, aplicaciones ortopédicas, aplicaciones craneofaciales y aplicaciones dentales.
- 10 15 El material puede mezclarse con agentes terapéuticos, profilácticos y/o de diagnóstico en el momento de la administración o en los agentes en el momento de la administración. El material también puede utilizarse para revestir o adherir los agentes a un dispositivo para la implantación o inyección, por ejemplo, un stent o válvula cardiaca, cuando el agente es un inflamatorio, antiinfectivo o antitrombótico.
- 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 Los materiales son flexibles y elásticos, permitiendo a la cola/sellador/adhesivo moverse con el movimiento del paciente según se mueva el paciente, por ejemplo, se siente, camine, corra, etc. Los materiales son flexibles al tiempo que mantienen las propiedades mecánicas necesarias (por ejemplo, módulo de Young, elongación máxima, etc.) para la aplicación específica. En realizaciones específicas, los materiales descritos son capaces de soportar las presiones ejercidas en las cámaras cardíacas y/o vasos sanguíneos principales. Por ejemplo, los parches tratados con HLAA presentaron resistencias al estallido de al menos 100 mmHg, 110 mmHg, 120 mmHg, 130 mmHg, 140 mmHg, 150 mmHg, 160 mmHg, 170 mmHg, 180 mmHg, 190 mmHg o 200 mmHg. En algunas realizaciones, la resistencia al estallido es mayor de 200 mmHg, que es significativamente mayor que la presión arterial sistólica fisiológica (90-130 mmHg). Después de 24 horas de implantación, la formación de una cápsula de fibrina fina como parte del proceso de cicatrización normal, probablemente ayude a asegurar además el parche en el sitio. Por tanto, es improbable un desprendimiento del parche en un momento posterior. La experiencia de los presentes investigadores con la unión del parche basado en HLAA contrasta con los informes que utilizan otros adhesivos, tales como CA o cola de BSA-glutaraldehído para procedimientos similares, cuando todos requieren cirugía cardíaca abierta invasiva. En algunas realizaciones, el parche puede ser de doble cara, es decir, prepolímero aplicado a ambas caras. En otras realizaciones, el material puede ser parte de una membrana de barrera, donde una cara es adhesiva y la otra no. El parche puede contener una topografía, por ejemplo, características a microescala o nanoescala creadas sobre la superficie del parche para potenciar la adhesión. Estas características pueden prepararse usando técnicas disponibles en la técnica, tales como la litografía. Estas características pueden tener cualquier forma y/o tamaño, dado que mejoran la adhesión en comparación con un parche sin las características. Como se muestra en los ejemplos, el prepolímero no se lava fácilmente ni se separa de una superficie tisular y permanece reticulable en presencia de fluidos corporales. Tras la reticulación, el material de resultado es flexible/elástico y presenta una resistencia adhesiva excelente, incluso después de un contacto prolongado con sangre. En algunas realizaciones, la resistencia de adhesión del polímero curado es mayor de 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4 o 1,5 N/cm² como se midió mediante el ensayo de extracción descrito en los ejemplos. En otras realizaciones, la resistencia adhesiva del adhesivo después de la incubación en un fluido corporal, tal como sangre, es al menos un 50 %, un 55 %, un 60 %, un 65 %, un 70 %, un 75 %, un 80 %, un 81 %, un 82 %, un 83 %, un 84 %, un 85 %, un 86 %, un 87 %, un 88 %, un 89 %, un 90 %, un 91 %, un 92 %, un 93 %, un 94 %, un 95 %, un 96 %, un 97 %, un 98 % o un 99 %. Los ejemplos sugieren que el mecanismo predominante de adhesión es el entrecruzamiento físico de las cadenas de polímero con el tejido subyacente (por ejemplo, colágeno en el epicardio) tras la reticulación. Puede producirse también alguna interacción covalente. Los materiales son biocompatibles con tejido de mamífero. Como se demuestra en los ejemplos, después de siete días, el grado de necrosis para HLAA y para el CA de control (cianoacrilato) fue equivalente. A los siete días, el grado de inflamación fue ligeramente menor para HLAA en comparación con CA (aunque con el margen de error). Por el contrario, después de 14 días, el grado de necrosis fue no solo sustancialmente menor que el CA, sino que, de hecho, había disminuido desde el grado observado después de 7 días. Se observó la misma tendencia en el grado de inflamación. En algunas realizaciones, los materiales pueden utilizarse en dispositivos médicos, por ejemplo, como parte o en todo un dispositivo o para adherir un dispositivo al tejido. En otras realizaciones, los materiales descritos en el presente documento pueden usarse para juntar tejido (por ejemplo, uno o más tejidos *in vivo*). Un sellado de conformación de tejido dañado puede ser desafiante debido al requisito de adhesión buena a superficie así como la resistencia a la cizalladura durante la carga de tensión. Por ejemplo, las punciones pulmonares, los vasos sanguíneos perforados y

las anastomosis del intestino pueden ser heridas desafiantes para el sellado. Pueden diseñarse adhesivos/selladores para coincidir con las propiedades mecánicas del tejido para proporcionar un cierre y sellado de heridas de conformación. Tales adhesivos pueden ser particularmente útiles en aplicaciones donde hay un movimiento de tejidos considerable.

- 5 Los materiales pueden utilizarse directamente, es decir, aplicarse directamente al sitio a sellar. Como alternativa, los materiales pueden aplicarse a un dispositivo, tal como un parche o cinta, para adherir el parche al sitio deseado.
- 10 Pueden utilizarse parches convencionales y/o materiales de parches conocidos en la técnica. Los parches para usar con vasos sanguíneos principales, tejido cardíaco y/o difícil para tratar heridas (por ejemplo, úlceras diabéticas) son conocidos en la técnica. Puede utilizarse cinta quirúrgica biocompatible biodegradable, por ejemplo, para detener el sangrado durante la cirugía. Dado que la cinta es biodegradable, no necesita eliminarse antes de que el cirujano suture la herida cerrada.
- 15 En algunas realizaciones, el polímero curado, solo o revestido sobre un parche, muestra una resistencia adhesiva de extracción de 90° de al menos aproximadamente 0,5 N/cm², preferentemente al menos aproximadamente 1 N/cm² e incluso más preferentemente al menos aproximadamente 2 N/cm². En otras realizaciones, resistencia adhesiva de extracción de 90° es de al menos aproximadamente 0,5 N/cm² a aproximadamente 2,5 N/cm², preferentemente entre aproximadamente 0,7 N/cm² a aproximadamente 2,5 N/cm², más preferentemente de aproximadamente 1 N/cm² a aproximadamente 2 N/cm².
- 20 20 La resistencia adhesiva puede mejorarse sometiendo al polímero curado a precarga. Esto puede ser particularmente útil para las realizaciones que implican un parche donde se aplica el prepolímero a un sustrato y el parche se aplica a un tejido. La precarga puede variar siempre que dé como resultado una mejora en la resistencia adhesiva. En algunas realizaciones, la precarga es de aproximadamente 0,5 N a aproximadamente 10 N, preferentemente de aproximadamente 1 N a aproximadamente 8 N, más preferentemente de aproximadamente 2 N a aproximadamente 8 N, más preferentemente de aproximadamente 3 N a aproximadamente 7 N. La aplicación de precarga puede ayudar al adhesivo a penetrar en el tejido.
- 25 30 35 El grosor de la capa de adhesivo puede variarse dependiendo de la aplicación y el lugar de aplicación. En algunas realizaciones, el grosor de los revestimientos es al menos aproximadamente 50 micrómetros, 60 micrómetros, 70 micrómetros, 74 micrómetros, 75 micrómetros, 80 micrómetros, 100 micrómetros, 125 micrómetros, 150 micrómetros, 175 micrómetros, 200 micrómetros, 225 micrómetros, 250 micrómetros, 275 micrómetros, 300 micrómetros, 325 micrómetros, 350 micrómetros, 375 micrómetros, 400 micrómetros, 425 micrómetros, 450 micrómetros, 475 micrómetros, 500 micrómetros, 525 micrómetros, 550 micrómetros, 575 micrómetros, 600 micrómetros, 625 micrómetros, 650 micrómetros, 675 micrómetros, 700 micrómetros o 725 micrómetros. Para las realizaciones donde el prepolímero se aplica a un parche, el grosor del adhesivo puede ser menos de 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15 o 10 micrómetros.

A. Cirugía cardiaca mínimamente invasiva

- 40 La cirugía cardiovascular reconstructiva mínimamente invasiva se ha perseguido activamente para evitar complicaciones de los procedimientos a corazón abierto invasivos y de la derivación cardiopulmonar. Sin embargo, uno de los retos principales es la ausencia de tecnologías exitosas para reconnectar tejido rápidamente o unir materiales protésicos en un ambiente altamente dinámico en presencia de sangre, que son susceptibles de procedimientos mínimamente invasivos. Además, a pesar de su rutina de uso, las suturas y grapas se asocian con daño en el tejido provocado por perforación profunda e isquemia. Esto se torna crítico cuando se aborda tejido quebradizo (por ejemplo, tras un infarto de miocardio o en lactantes pequeños) o estructuras cerca de tejido especializado (por ejemplo, sistema de conducción del corazón), donde el daño puede comprometer la función orgánica.
- 45 50 55 Dadas las propiedades viscosas e hidrófobas favorables del prepolímero de HLAA, presenta un lavado superficial mínimo tras la exposición al flujo sanguíneo como se ha mostrado mediante los experimentos *in vitro* e *in vivo*. Asimismo, su activación por luz UV permite la recolocación de parches o dispositivos tras el suministro sin aumentar sustancialmente la temperatura. Otros materiales que dependen de químicas reactivas, tales como colas de dextrano-aldehído reaccionan con proteínas sanguíneas y por tanto, puede comprometerse la adhesión por la exposición a sangre, si bien el HLAA retiene su función en presencia de sangre.

El tiempo de curado considerablemente corto para lograr la adhesión limita la cantidad de energía a la que los tejidos biológicos se exponen y minimiza el riesgo de desestabilización de la interfaz adhesivo-tejido durante el proceso de curado. Esto es especialmente crítico en ambientes dinámicos, tales como la vasculatura y el corazón latiente. Tras la activación, la interfaz cola-tejido tiene una discontinuidad mínima y un entrelazamiento físico máximo entre el HLAA y las fibras de colágeno presentes en la superficie cardiaca, ambas características relevantes para los adhesivos tisulares más fuertes. Para lograr este contacto de conformación, las propiedades viscosas y de flujo del prepolímero juegan un papel principal. El HLAA presentó una resistencia adhesiva máxima en un grado de reticulación específica, revelando la importancia de equilibrar las propiedades viscoelásticas del material. Un DA bajo dio como resultado un fallo cohesivo del material en fuerzas bajas debido a su reticulación limitada. A pesar de generar radicales libres más reactivos durante la exposición a UV, el aumento de DA por encima de 0,5 mol por mol de glicerol no dio como

resultado una adhesión tisular mejorada. Probablemente, un grado de reticulación mayor endurece la red polimérica reduciendo su elasticidad.

5 Los adhesivos/colas quirúrgicos pueden utilizarse también para detener el sangrado, por ejemplo, debido a una herida o trauma (heridas de combate, accidentes de coche, etc.) o durante la cirugía. La cola no necesita eliminarse antes de que el cirujano suture la herida cerrada ya que se degradará con el tiempo. Otros tipos de heridas que pueden tratarse incluyen, pero sin limitación, heridas que son difíciles de cerrar o que no se curan adecuadamente mediante mecanismos fisiológicos normales. Por ejemplo, los diabéticos con frecuencia sufren lesiones en la piel ("úlceras diabéticas"), especialmente en las extremidades inferiores que lleva mucho tiempo curar o que no se curan adecuadamente debido a una mala circulación. El uso de materiales para suministrar antibióticos o agentes antiinflamatorios a estas heridas puede ayudar a la curación y proporcionar una cobertura para la herida.

10 Los materiales presentan propiedades mecánicas en conformidad con el tejido a tratar. Por ejemplo, el nervio periférico tiene un módulo de Young de aproximadamente 0,45 MPa y la aorta torácica tiene un módulo de Young de 0,53 MPa. 15 En diversas realizaciones, los materiales logran una elasticidad mecánica con tales estructuras biológicas. Además, en diversas realizaciones, la inflamación y/o degradación de los materiales puede ajustarse sin cambiar sustancialmente una o más propiedades mecánicas, tales como el módulo de Young.

B. Stents, injertos y válvulas

20 En algunas realizaciones, los materiales pueden fabricarse en un stent biodegradable, malla, injerto o válvula. El stent puede aumentar el diámetro de un vaso sanguíneo para aumentar el flujo a través del vaso, pero dado que el stent es biodegradable, el vaso sanguíneo puede aumentar en diámetro con un riesgo reducido de trombosis o cubriendo el stent con tejido cicatricial, el cual puede volver a estrechar el vaso sanguíneo. El tiempo que un stent permanece en el sitio y retiene su forma antes de la degradación puede variar de paciente a paciente y depende parcialmente de la cantidad de bloqueo y de la edad del paciente (por ejemplo, los pacientes más mayores pueden necesitar más tiempo para curar). En determinadas realizaciones, los materiales pueden cubrir una superficie exterior de un stent para ayudar a adherir el stent a una pared del vaso de una manera que es menos dañina para el tejido que un stent sin cubrir. De manera similar, los materiales pueden cubrir la superficie de dispositivos que están en contacto con tejidos para proporcionar una interfaz adecuada que puede ser adhesiva al tejido.

C. Otras aplicaciones *in vivo*

35 Los materiales pueden utilizarse en otras varias aplicaciones donde se requiere un adhesivo o un sellador. Las indicaciones incluyen, pero sin limitación, fugas de aire tras una resección de pulmón; para reducir el tiempo para procedimientos quirúrgicos (por ejemplo, la suturas pueden requerir alinear el tejido con cada puntada, pero una cinta adhesiva puede ser capaz de alinear el tejido una vez); para sellar duramadre; para facilitar procedimientos laparoscópicos (por ejemplo, puede ser difícil atar nudos en espacios pequeños, pero una cinta puede enrollarse y colocarse a través de una aguja fina o trocar y desenrollarse en el lugar quirúrgico); como un adhesivo cutáneo degradable (por ejemplo, que puede liberar agentes según se degrada); como una matriz de hernia para evitar o reducir la necesidad de grapas o tachuelas; para evitar la pérdida de sangre; para manipular órganos o tejidos durante los procedimientos quirúrgicos (por ejemplo, para empujar el hígado a un lado y mantenerlo en el sitio); para asegurar los trasplantes de córnea en el sitio; para parchear un corazón para suministrar medicamentos y/o reducir el crecimiento del corazón después de un infarto de miocardio; para unir otro material a un tejido (por ejemplo, para mejorar el prendimiento de tejido injertado o para enlazar un dispositivo de suministro de fármacos o un armazón u otro constructo a un tejido u órgano); para aumentar las suturas o grapas; para distribuir fuerzas a lo largo del tejido; para evitar fugas; como una membrana de barrera en la piel para evitar la evaporación de agua de piel quemada; como un parche para el suministro de medicación anticicatrizes; para unir dispositivos (por ejemplo, dispositivos de suministro de fármacos, sensores) al tejido; para unir dispositivos (por ejemplo, un dispositivo de suministro de fármacos) a una membrana mucosa (por ejemplo, boca, intestino, ano, fosas nasales, vagina, etc.); para evitar la adhesión de tejido cerebral al cráneo después de una cirugía cerebral o la implantación de dispositivos; como barreras adhesivas (como se aplica en aplicaciones quirúrgicas) para la adhesión tejido-tejido y/o la adhesión tejido-dispositivo; para evitar la pérdida de sangre de vasos sanguíneos; como una cinta para asegurar dispositivos dentro de la cavidad oral, tal como para mantener dentaduras y aparatos orales; como una cinta para anclar tejido blando al hueso; y para evitar la adhesión peritoneal (por ejemplo, donde una cara es adhesiva y la otra no), evitando la formación de agujeros en el tejido, evitando la formación de adhesiones, mejorando/aumentando las propiedades mecánicas de los tejidos, etc.

60 En algunas realizaciones, el prepolímero activado se aplica directamente al sitio deseado, tal como mediante inyección o a través de un catéter. El prepolímero debe ser suficientemente no viscoso como para ser inyectable a través de una aguja de jeringuilla que tiene un calibre de 14-20, preferentemente 14-18, pero suficientemente viscoso para permanecer en el sitio en el lugar de administración. El prepolímero puede mezclarse con un agente fotoiniciador, terapéutico, profiláctico y/o de diagnóstico y/o uno o más excipientes y la mezcla aplicarse a través de inyección o un catéter.

65 En otras realizaciones, el prepolímero activado se aplica a un parche, que se aplica en el sitio deseado. El parche es

suficientemente transparente (como se ha descrito anteriormente) para permitir que la radiación electromagnética (por ejemplo, luz UV) pase a través del material del parche e iniciar la fotopolimerización del prepolímero para formar un adhesivo.

5 **D. Suministro de fármacos**

- Los materiales pueden contener uno o más agentes terapéuticos, profilácticos y/o de diagnóstico que se liberan durante el periodo de tiempo en que el material funciona como un sellador/adhesivo. El agente puede ser un agente de molécula pequeña (por ejemplo, peso molecular menor de 2000, 1500, 1000, 750 o 500 g/mol (amu) am), una biomolécula (por ejemplo, péptido, proteína, enzima, ácido nucleico, polisacárido, factores de crecimiento, secuencias de adhesión celular (por ejemplo, secuencia del RGD, de integrina), componentes de matriz extracelular) o combinaciones de los mismos.
- 10 Las clases de agentes de molécula pequeña incluyen, pero sin limitación, antiinflamatorios, analgésicos, agentes antimicrobianos y combinaciones de los mismos.
- 15 Los factores de crecimiento ilustrativos incluyen, sin limitación, TGF- β , factor de crecimiento de fibroblastos ácido, factor de crecimiento de fibroblastos básico, factor de crecimiento epidérmico, IGF-I y II, factor de crecimiento derivado del endotelio vascular, proteínas morfogenéticas óseas, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento de unión a heparina, factor de crecimiento hematopoyético y factores de crecimiento peptídico. Los componentes de matriz extracelular ilustrativos incluyen, pero sin limitación, colágeno, fibronectina, laminina, elastina y combinaciones de los mismos. Los proteoglicanos y los glicosaminoglicanos pueden asociarse covalente o no covalentemente con los materiales.
- 20
- 25 Los grupos funcionales en el prepolímero que no se activaron para la reticulación pueden utilizarse para unir covalentemente uno o más agentes, tales como los agentes de molécula pequeña y/o biomoléculas. Como alternativa, el otro u otros agentes pueden atraparse físicamente dentro del polímero curado, mediante la reticulación del prepolímero en presencia del agente.
- 30 El material puede contener también uno o más tipos de células, tal como células del tejido conjuntivo, células de órganos, miocitos, células nerviosas y combinaciones de las mismas. En algunas realizaciones, el material se siembra con uno o más de tenocitos, fibroblastos, células de ligamentos, células endoteliales, células pulmonares, células epiteliales, células de músculo liso, células de músculo cardíaco, células de músculo esquelético, células de islotes, células nerviosas, hepatocitos, células renales, células de vejiga, células uroteliales, condrocitos y células formadoras de hueso.
- 35

Ejemplos

Ejemplo 1. Adhesión tisular de HLAA sometida a estudio técnico

- 40 **Materiales y métodos**
- Síntesis del HLAA*
- 45 Todos los productos químicos se adquirieron en Sigma-Aldrich y se usaron como se recibieron, a menos que se especifique. Se preparó un prepolímero de poli(glicerol sebacato) (PGS) a través de policondensación de cantidades equimolares de glicerol y ácido sebálico. El prepolímero formado, tuvo un peso molecular promedio aproximado en peso de 5500 g/mol, determinado a través de cromatografía de permeación en gel (VISCOTEK® TDA 305 con la bomba 1260 y automuestreador de Agilent, Malvern Instruments). El prepolímero se acriló con cloruro de acriloilo y se purificó como se describe. Se ensayaron diferentes grados de acrilación (DA; del inglés, degrees of acrylation). Antes de su uso, el prepolímero de HLAA se mezcló con el fotoiniador Irgacure 2959 (0,2 % p/p) y se curó con una fuente de luz UV de curado puntual (OMNICURE® S1000, Lumen Dynamics Group Inc.) equipada con un filtro en el intervalo de 320 a 390 nm.
- 50

- 55 *Síntesis de derivados de HLAA con estructuras de poliéster variables*

Todos los productos químicos se adquirieron en Sigma-Aldrich y se usaron como se recibieron, a menos que se especifique.

- 60 Las estructuras de prepolímero de poliéster se sintetizaron a través de policondensación de glicerol y un diácido diferente, ácido subérico o ácido dodecanodioco, dando como resultado poli(glicerol suburato) (PGSub) o poli(glicerol dodecanodoato) (PGDo). El prepolímero formado, tuvo un peso molecular promedio aproximado en peso de 3677 g/mol para PGSub y de 3371 g/mol para PGD. Estos prepolímeros se acrilaron con cloruro de acriloilo, dirigiendo un grado de acrilación de 0,5 y se purificaron. Antes de su uso, el prepolímero fotocurable se mezcló con el fotoiniador IRGACURE® 2959 (0,2 % p/p) y se curó durante 5 segundos con una fuente de luz UV de curado puntual (OMNICURE® S1000, Lumen Dynamics Group Inc.) equipada con un filtro en el intervalo de 320 a 390 nm.
- 65

Síntesis de derivados de HLAA con grupos funcionales fotocurables variables

5 Todos los productos químicos se adquirieron en Sigma-Aldrich y se usaron como se recibieron, a menos que se especifique. Se preparó un prepolímero de poli (glicerol sebacato) (PGS) a través de policondensación de cantidades equimolares de glicerol y ácido sebálico. El prepolímero formado, tuvo un peso molecular promedio aproximado en peso de 5500 g/mol, determinado a través de cromatografía de permeación en gel (VISCOTEK® TDA 305 con la bomba 1260 y automuestreador de AGILENT®, Malvern Instruments). El prepolímero se acriló con cloruro de metacrililo, cloruro de cinamoilo o cloruro de crotonilo, dirigiendo un grado de acrilación de 0,5 y se purificaron. Se 10 ensayaron diferentes grados de acrilación (DA). Antes de su uso, los prepolímeros fotocurables se mezclaron con el fotoiniciador Irgacure 2959 (0,2 % p/p) 42 y se curaron durante 5 segundos con una fuente de luz UV de curado puntual (OMNICURE® S1000, Lumen Dynamics Group Inc.) equipada con un filtro en el intervalo de 320 a 390 nm.

Síntesis de derivados de HLAA con otros grupos funcionales vinílicos

15 20 Todos los productos químicos se adquirieron en Sigma-Aldrich y se usaron como se recibieron, a menos que se especifique. Se preparó un prepolímero de poli (glicerol sebacato) (PGS) a través de policondensación de cantidades equimolares de glicerol y ácido sebálico. Unos gramos de prepolímero de PGS se hicieron reaccionar con 178 μ l de la molécula que contiene vinilo isocianato de alilo (0,5 mol/mol de grupos hidroxilo libres en PGS) en presencia de estaño(II). Antes de su uso, el prepolímero fotocurable se mezcló con el fotoiniciador Irgacure 2959 (0,5 % p/p) 42 y se curó durante 30 segundos con una fuente de luz UV de curado puntual (OMNICURE® S1000, Lumen Dynamics Group Inc.) equipada con un filtro en el intervalo de 320 a 390 nm.

Caracterización química y mecánica del HLAA

25 30 Se evaluó el DA de las redes de PGSA después de la purificación (n=3) mediante NMR (Bruker 400 MHz de AVANCE®) y se calculó como se describe en SI. Se evaluaron la rigidez y la elasticidad de las redes de PGSA (n=5) a través de una prueba de compresión a una tasa de 1 mm/min (eXpert 3600 Biaxial, ADMET). Las muestras ensayadas se curaron durante un total de 5 segundos a una intensidad la luz de 0,38 W/cm² y en presencia de vidrio de borosilicato transparente al UV. Las muestras fueron de 6 mm de diámetro y de 1 mm de altura. El módulo compresivo se calculó como la pendiente observada para el 15 % inicial de deformación.

Síntesis del parche de PGSU 1:0.5

35 Se sintetizó un parche de poli(glicerol sebacato uretano) (PGSU) para usar con el HLAA. Se seleccionó PGSU debido a que se biodegrada lentamente *in vivo* a través de un mecanismo de erosión superficial y sufre un hinchamiento mínimo tras la exposición a condiciones fisiológicas. Antes del uso *in vivo* el material del parche se esterilizó mediante autoclave (121 °C, 100 kPa durante 15 minutos).

40 Animales

Se utilizaron ratas macho Wistar (300-350 g, Charles River Laboratories International) y cerdos Yorkshire (70-80 kg para el estudio intracardíaco y 40-50 kg para el estudio vascular, Parsons Em and Sons Inc.). Los estudios *in vivo* se llevaron a cabo de acuerdo con la guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio. El sacrificio de las ratas y los cerdos se realizó con CO₂ y FATALPLUS®, respectivamente. Los protocolos animales se revisaron y aprobaron por el Animal Care Committee del Boston Children's Hospital.

Análisis estadístico

50 Los datos se expresan como media \pm d.t. El análisis estadístico se realizó usando el software SigmaStat. Se utilizaron un ANOVA de una vía con pruebas *post hoc* de Tukey y una prueba t desapareada para examinar las diferencias estadísticas. Los resultados se consideraron significativos cuando se obtuvo un valor *p* \leq 0,05.

55 Resultados

Antes del curado, HLAA es un prepolímero altamente viscoso inmiscible en agua (Figura 1A) que puede extenderse fácilmente sobre una superficie. La caracterización reológica del material demostró su comportamiento viscoso para velocidades de cizalladura bajas y una viscosidad de aproximadamente 14 Pa·s (Figura 3B). Tras la exposición a luz UV y en presencia de un fotoiniciador, se produce reticulación y el HLAA se vuelve una película polimérica flexible (Figura 1B). Esta reticulación sucede a través de la polimerización de radicales libres debido a la presencia de restos acrilados en el prepolímero. Inicialmente, se evaluaron múltiples composiciones del HLAA para maximizar la resistencia adhesiva en condiciones de humedad. Se estableció un aparato de prueba controlada para asegurar la compresión consistente del parche revestido de HLAA frente al tejido cardíaco durante el curado. Se revistió un parche biocompatible con el prepolímero de HLAA y se comprimió sobre la superficie tisular utilizando una barra no adhesiva transparente unida al final de la guía de luz UV, el prepolímero de HLAA se curó y se aplicó una fuerza compresiva utilizando la barra no adhesiva transparente durante el proceso de curado y se midió la fuerza de adhesión como la

fuerza máxima observada durante el proceso de extracción que implica la aplicación controlada de una precarga seguida por una separación del asa provocando la separación uniforme del parche de la superficie tisular.

5 Se encontró que 0,5 mol de grupos acrilados por moléculas de glicerol en el prepolímero proporcionaron la adhesión más fuerte al tejido cardiaco (Figura 4). Un grado de acrilación más bajo dio como resultado un fallo cohesivo del material en fuerzas bajas que se debe a su reticulación limitada. Un grado de acrilación mayor dio como resultado una adhesión disminuida, probablemente debido a la alta rigidez de la red polimérica que es demasiado quebradiza y 10 menos compatible con la suavidad del tejido y por tanto, más propensa al fallo a fuerzas bajas. Para un grado de acrilación (DA) de 0,5 mol/mol-glicerol, las redes poliméricas generadas fueron elásticas y podrían comprimirse a un 15 $61\pm11\%$ de sus dimensiones iniciales. Las redes pueden comprimirse cíclicamente durante al menos 100 ciclos (Figura 2) con cambios mínimos en el módulo de compresión del material. El HLAA curado tuvo un módulo de compresión de $3,8\pm0,8$ ($n=4$) MPa durante el primer ciclo de compresión. El módulo aumentó a $4,2\pm0,6$ MPa durante la segunda compresión y permaneció relativamente constante durante los ciclos posteriores (Figura 2). Después de 24 horas de inmersión en PBS a 37°C , el HLAA curado tuvo un módulo de compresión de $2,9\pm1,2$ MPa y una 15 resistencia a la tracción de $6,4\pm1,7$ MPa.

20 Los prepolímeros de HLAA con un grado de acrilación de 0,5 se utilizaron para todos los experimentos restantes. La capacidad del HLAA para asegurar materiales de parches protésicos se evaluó a través de ensayos de adhesión de extracción (Figura 1C).

25 Se realizó un ensayo de adhesión de extracción (90°) en un probador universal eXpert 7601 de ADMET utilizando tejido epicárdico porcino nuevo. El tejido se mantuvo en solución salina de tampón fosfato (PBS) para asegurar que permaneciera húmedo durante el ensayo. A menos que se especifique, se utilizó un parche de PGSU para el ensayo y fue de aproximadamente 200 μm de grosor y de 6 mm de diámetro.

30 25 Se aplicó una capa fina de HLAA con un grosor de aproximadamente 300 μm al material del parche antes de la prueba de adhesión. Durante el proceso de curado, se aplicó una fuerza compresiva de -3N al parche revestido de HLAA utilizando un material no adhesivo (barra de vidrio de borosilicato con 9 mm de altura) conectada a la guía de luz UV (Lumen Dynamics Group Inc.; intensidad de luz $0,38\text{ W/cm}^2$ medida a una longitud de onda de 365 nm). La 35 interposición de la barra de vidrio de borosilicato facilita la liberación del sistema de curado del parche sin alterar la interfaz parche/adhesivo - tejido.

40 35 El procedimiento de extracción implicó la aplicación controlada de una precarga (-1N) al parche de PGSU adherente seguida de la separación del asa a una tasa de 8 mm/min provocando la separación uniforme del parche de la superficie tisular. La fuerza de adhesión se registró como la máxima fuerza observada. Para comparar con adhesivos tisulares convencionales, se midió la fuerza adhesiva de los revestimientos de fibrina (TISSUSEAL®, $n=4$) y cianoacrilato (CA, DERMABOND®, $n=3$) en parches de PGSU 1:0.5. Se ensayó el efecto del tiempo de curado (1, 5 y 30 segundos, $n=4$ por condición) en la resistencia adhesiva del HLAA. La adhesión de diferentes materiales de parche utilizados clínicamente en la cirugía cardiovascular (SUPPLE PERI-GUARD®; CORMATRIX®; DACRON® $n>4$ por material de parche) revestido con el HLAA también se ensayó.

45 40 Para examinar la capacidad de los adhesivos para resistir el lavado y la cura tras la exposición a sangre que fluye, se expusieron parches de PGSU revestidos con el prepolímero de HLAA o con CA a sangre heparinizada durante 5 minutos en un agitador incubado a 500 RPM y a 37°C ($n=3$) seguido del ensayo de adhesión de extracción. La resistencia adhesiva de los parches de PGSU revestidos con el prepolímero de HLAA o con CA frente al tejido epicárdico húmedo se utilizó como control. La resistencia adhesiva de los parches de PGSU revestidos con HLAA y revestidos con CA sobre tejido epicárdico húmedo sin sangre que fluye sirvió como control.

50 45 Se seleccionó el poli(glicerol sebacato uretano) (PGSU) como el material de parche dada su transparencia superior a la luz UV. Un espectro FTIR aumentado muestra el pico de estiramiento del grupo vinilo del HLAA antes de la activación UV y después de 5 segundos de exposición a luz UV. La reducción en el área de pico tras las exposiciones a la luz UV revela una disminución en el número de restos acrilados en el prepolímero debido a la reticulación. Los tiempos de curado, las intensidades de luz y la precarga durante el proceso de curado se variaron para determinar las condiciones óptimas para la resistencia adhesiva máxima. El HLAA alcanzó su máxima fuerza de adhesión después de 5 segundos de exposición a luz UV, cuando se utilizó una intensidad de luz de $0,38\text{ W/cm}^2$ (Figura 1D). Después de 5 segundos de exposición a luz UV, el HLAA tuvo aproximadamente la mitad de la resistencia adhesiva del CA y fue aproximadamente tres veces más fuerte que el sellador de fibrina disponible comercialmente (Figura 1C).

60 55 Las redes del HLAA se evaluaron a través de FTIR antes y después de 5 segundos de curado por UV. La intensidad del pico a 1635 cm^{-1} , que corresponde a la absorción de grupos acrilados, disminuye tras la exposición a luz UV. Tras la variación de la intensidad de luz, no se observó una diferencia principal en la resistencia adhesiva (Figura 5A). Por tanto, se seleccionó una intensidad de luz de $0,38\text{ W/cm}^2$. Además, el aumento de precarga se correlacionó con un aumento en la resistencia adhesiva (Figura 5B), probablemente debido al desplazamiento de agua y al contacto mejorado entre el parche y la superficie tisular. Se seleccionó una fuerza compresiva de 3 N, dada la capacidad para aplicarla *in vivo* para asegurar el contacto estrecho entre el parche y el tejido durante el proceso de curado.

Se exploró la versatilidad del HLAA para los materiales de parches clínicamente disponibles. Tras 5 segundos de curado, las fuerzas de adhesión de extracción medidas frente al tejido cardíaco nuevo fueron menores para estos materiales que para los parches de PGSU (Figura 1D). Es probable que se deba al curado ineficaz del HLAA en el escenario de estos materiales que tienen una transparencia a la luz UV inferior en comparación con PGSU (Figura 6).

5 Esto se superó aumentando el tiempo de curado de 5 a 30 segundos para lograr una resistencia adhesiva similar a los parches de PGSU (Figura 1D).

Una ventaja importante de emplear un adhesivo curable *in situ* es la posibilidad de activarlo con un estímulo externo una vez se ha colocado correctamente. Sin embargo, al tiempo que se mueve al sitio diana, puede ocurrir un lavado

10 del adhesivo tras el contacto con la sangre y otros fluidos y comprometer potencialmente su eficacia. Esto es especialmente relevante si se exponen parches revestidos con adhesivo al flujo sanguíneo, por ejemplo, dentro de las cámaras del corazón. Por tanto, se evaluó la resistencia de parches revestidos con CA y HLAA en una configuración experimental que simulara la exposición dinámica a la sangre antes del ensayo de adhesión. El CA se activa inmediatamente tras el contacto con sangre, perdiendo su capacidad de adherirse a su sustrato previsto (Figura 1E).

15 Por el contrario, tras la exposición del prepolímero de HLAA a la sangre que fluye, no se observó un lavado o cambio en la resistencia de adhesión significativa (Figura 1E). Esto se verificó midiendo el grosor del prepolímero de HLAA antes y después de la exposición a sangre (véase la Figura 7).

Ejemplo 2. Propiedades de los derivados de HLAA con estructura de PGS variable

20 Materiales y métodos

Se evaluó el rendimiento del PGDo acrilado (PGDoA) y del PGSu acrilado (PGSu) (Figura 8) a través del ensayo de extracción y se comparó con los resultados obtenidos para el polímero acrilado derivado de glicerol y ácido sebálico (HLAA) como se ha descrito anteriormente.

Resultados

30 Se logró una adhesión de extracción significativa para todos los derivados, indicando que los polímeros hidrófobos adhesivos pueden lograrse para diferentes estructuras de prepolímeros, como se muestra en la Figura 9.

Ejemplo 3. Propiedades de los derivados de HLAA con grupos funcionales acrilados variables

35 Materiales y métodos

Se evaluó el rendimiento del PGS acrilado utilizando los grupos metacrililo ("MA"), cinamoilo ("CA") y crotonoilo ("CinA"), mostrados en la Figura 10), a través del ensayo de extracción y se comparó con los resultados obtenidos para el polímero acrilado derivado de glicerol y ácido sebálico (HLAA), usando los métodos descritos anteriormente.

40 Resultados

Se logró una adhesión de extracción significativa para todos los derivados, indicando que los polímeros hidrófobos adhesivos pueden lograrse para químicas de derivados acrilados, como se demuestra en la Figura 11.

Ejemplo 4. Propiedades de los derivados de HLAA con grupos funcionales de vinilo variables

Materiales y métodos

50 Se evaluó el rendimiento del PGS vinilado utilizando alil isocianato ("Al"), mostrado en la Figura 12, como se ha descrito anteriormente.

Resultados

55 Pudo alcanzarse una adhesión de extracción significativa tras 30 segundos de luz UV en presencia de un 0,5 % p/p de fotoiniciador, como se demuestra por la Figura 13. La adhesión no fue significativa tras la exposición a 5 segundos de luz UV, como realizó el HLAA acrilado (línea de puntos).

Ejemplo 5 Evaluación de la interacción del HLAA y tejidos biológicos

60 Materiales y métodos

65 Se realizaron ensayos de adhesión del HLAA frente a cubreobjetos funcionalizados con colágeno para entender cómo interacciona el HLAA y se adhiere a la superficie tisular. Se examinó la adhesión del HLAA sobre colágeno en vidrio funcionalizado (BD biosciences) a través del ensayo de extracción como se ha descrito anteriormente. Las superficies de vidrio sin modificar sirvieron como control. Además, los parches revestidos con HLAA se unieron a tejido epicárdico nuevo de cerdo y se realizó una tinción de Masson Trichrome (MT) para caracterizar la interfaz de tejido-material.

Resultados

5 El HLAA mostró una adhesión fuerte frente a los portaobjetos revestidos con colágeno (Figura 14). La interacción de HLAA con colágeno se confirmó además *ex vivo* a través de la tinción de Masson and Trichrome (MT) de la interfase entre el adhesivo de HLAA y el tejido cardíaco, así como mediante microscopía electrónica de barrido. El epicardio tiene una capa de colágeno que conecta físicamente con la capa de adhesivo de HLAA. Se observó un comportamiento similar para la adventicia de la arteria carótida de cerdo. La contribución del enlace covalente entre los radicales generados durante el proceso de curado y los grupos funcionales presentes en la superficie tisular no puede descartarse; sin embargo, el entrelazamiento observado entre el HLAA y el colágeno sugiere que el entrelazado puede jugar un papel principal.

10 15 La resistencia adhesiva en función del grosor promedio del parche de HLAA se evaluó también. Los resultados se muestran en la Figura 7. La adhesión máxima se obtuvo cuando se aplicó una capa de 200 μm de grosor de HLAA al parche y el aumento del grosor de HLAA no impactó en la adhesión.

Ejemplo 6. Estudio de biocompatibilidad *in vivo*Materiales y métodos

20 25 Se realizó una ecocardiografía preoperatoria (VEVO® 2100 System, VisualSonics Inc.). Se realizó una toracotomía anterior izquierda en el 4º espacio intercostal para conseguir acceso al ventrículo izquierdo (VI). Después de abrir el pericardio, se unió un parche de PGSU (diámetro = 6 mm) revestido de HLAA al epicardio. Al tiempo que se activa el HLAA con luz UV, se presionó el parche contra la superficie epicárdica con la guía de luz y un cilindro de vidrio de borosilicato interpuesto. Se usaron parches revestidos de CA como control positivo. En puntos temporales definidos (7 y 14 días, n=8 para el HLAA y n=7 para CA) se realizó una ecocardiografía y los animales se sacrificaron. Se explantaron los corazones, se fijaron en paraformaldehído al 4 % (PFA) y se realizó una tinción de hematoxilina y eosina (H&E) y MT.

30 Para evaluar la biocompatibilidad y el potencial adhesivo del HLAA en condiciones de humedad y dinámicas, los parches se revistieron con el HLAA y se unieron al epicardio del corazón en un modelo de rata *in vivo*.

Resultados

35 Los parches revestidos con HLAA y CA se unieron con éxito a la superficie epicárdica del corazón de rata en todos los casos (PGSA: n=8; CA: n=7). La recolocación del parche no fue posible en el caso del CA, porque cura inmediatamente tras el contacto con agua. Por el contrario, debido a su adhesión "bajo demanda" a través de la polimerización tras la exposición a luz UV, los parches revestidos con HLAA se pudieron recolocar *in situ* antes de la activación.

40 45 Después de 7 días de implantación, el 100 % de los parches se unieron en ambos grupos (n=3). Después de 14 días de implantación, el grado de necrosis e inflamación fue significativamente menor en el grupo de HLAA en comparación con el grupo de CA, basado en el análisis de las secciones tisulares teñidas con H&E (Figuras 15A y 15B). La naturaleza de la reacción inflamatoria fue similar en los dos grupos. Hubo predominantemente linfocitos y macrófagos rodeando los parches en los días 7 y 14. En contraste con el CA, el infiltrado se redujo en tamaño a los 14 días para el HLAA. La función cardíaca, determinada mediante ecocardiografía, no cambió a lo largo del estudio para cada grupo.

Ejemplo 7. Cierre funcional de los defectos de la pared ventricular izquierda transmuralMateriales y métodos

50 55 Para evaluar además el potencial adhesivo del HLAA, en particular, su capacidad para lograr un sellado hemostático en condiciones dinámicas en presencia de sangre y presiones sistémicas, se utilizó un modelo de rata *in vivo* de un defecto de pared ventricular izquierda (VI) transmural.

60 La ecocardiografía preoperatoria, la anestesia y la preparación quirúrgica se realizaron como se ha descrito anteriormente. Después la exposición del VI, se creó un defecto de la pared lateral del VI transmural utilizando un perforador de 2 mm (INTEGRA™ Miltex®). Antes de la creación del defecto, se aplicó una sutura en bolsa de tabaco en la posición deseada para evitar el sangrado. Los defectos se cerraron con un parche de PGSU revestido de HLAA (diámetro = 6 mm). Posteriormente, la sutura en bolsa de tabaco se eliminó. En algunos casos, no se logró un sellado hemostático inmediato, debido a que el parche no se centró exactamente sobre el defecto y se observó sangrado en los bordes del parche. Para lograr un sellado completo, se aplicó cola adicional a los bordes del parche utilizando un borde de pipeta y a continuación, se curó durante 5 segundos. Se sometió a un grupo de animales al cierre de la sutura en bolsa de tabaco del defecto de la pared del VI sin el HLAA. Se realizaron la ecocardiografía y el sacrificio después de 7, 28, 90 y 180 días (HLAA: n=6 durante 7, 28 y 90 días, n=4 durante 180 días; CA: n=5 durante 7 días, n=3 durante

28 y 180 días y n=4 durante 90 días). Se explantaron los corazones, se fijaron en PFA al 4 % y se realizó una tinción de H&E y MT.

Resultados

5 Los parches revestidos de HLAA se utilizaron para cerrar los defectos de la pared del VI en un grupo de animales y esto se comparó con el cierre basado en una sutura convencional en un grupo de control. El cierre inmediato con éxito del defecto de pared del VI transmural se logró en 17 de los 19 animales que recibieron el parche revestido de HLAA, con una muerte animal adicional debido a complicaciones de sangrado en el cuarto día postoperatorio. Los 3 casos 10 donde el parche no se aseguró fueron el resultado, en parte, de la incapacidad de centrar el pequeño parche (6 mm de diámetro) sobre el defecto de 2 mm que se mueve rápidamente. La frecuencia cardíaca de las ratas es 6-7 veces superior que en seres humanos, complicando la aplicación del parche, que no debe ser un problema en seres humanos. El cierre de la herida transmural con suturas tuvo éxito en 14 de los 15 casos. Se sacrificó un animal debido 15 a la función del VI deprimida postoperatoriamente. Si bien el análisis ecocardiográfico 28 días después de la punción del VI y el cierre reveló una función cardíaca reducida en el área del defecto de la pared del VI transmural, no hubo una diferencia significativa en la función cardíaca global entre los grupos de parche revestido de HLAA y de sutura. La cicatrización de tejido, con acumulación de colágeno organizado, fue visible en ambos grupos como resultado del daño al tejido durante la creación del defecto.

20 **Ejemplo 8. Unión de un parche con el HLAA al septo del corazón latiente**

Materiales y métodos

25 Para demostrar la capacidad del HLAA para usarse en escenario de procedimientos intracardiacos de un corazón latiente, tal como el cierre de VSD, se desarrolló una técnica para unir un parche revestido con el HLAA al septo interventricular de un corazón de cerdo, al tiempo que se desarrolló un procedimiento de corazón latiente *in vivo*.

30 La anestesia y la preparación quirúrgica se realizaron como se ha descrito anteriormente. Brevemente, se realizó una toracotomía izquierda en el quinto o sexto espacio intercostal para exponer el corazón. El procedimiento entero se realizó sin CPB. Se utilizó una ecocardiografía epicárdica de 2D y 3D con una sonda de matriz X4 en un sistema SONOS 7500 (Philips Medical Systems) para la formación de imágenes dentro del corazón latiente. Los parches revestidos de HLAA se unieron al septo ventricular con una técnica desarrollada específicamente (SI). Se controlaron dos animales durante 4 horas tras el procedimiento. A continuación, se administró un bolo de epinefrina y se controló 35 la posición del parche a través de ecocardiografía para evaluar el efecto de la presión sanguínea y de la frecuencia cardíaca elevadas en el rendimiento del HLAA (n=2). Después de esto, se sacrificó a los animales. Otros dos animales se controlaron durante 24 horas y a continuación, se sacrificaron (n=2). Los corazones se explantaron, se fijaron con PFA al 4 % y se realizó una tinción de H&E.

40 Se utilizó un sistema de suministro de parche que consiste en un marco de nitinol y un parche que puede liberarse retirando los cables de nitinol manteniendo el parche en el marco. Para este procedimiento, se introdujo un ángulo de 90° al sistema de suministro para cumplir con la posición del septo respecto al ángulo de aproximación. Los parches de PGSU revestidos de HLAA (diámetro = 10 mm) se suministraron por el marco delgado de nitinol del sistema de suministro del parche y se unieron al septo interventricular del corazón latiente.

45 Resultados

50 La unión con éxito del parche se logró en los 4 animales ensayados con este dispositivo. Después de 24 horas de implantación del parche, no se detectó desplazamiento del parche mediante ecocardiografía. Después de la administración de epinefrina 4 horas después de la colocación del parche, se lograron una frecuencia cardíaca y presiones sanguíneas supranormales: la frecuencia cardíaca pico tuvo un promedio de 186 latidos por minuto (intervalo 173 - 200/min) y el pico de presión sanguínea sistólica tuvo un promedio de 204 mmHg (intervalo: 166 - 236 mmHg; n=2). El parche permaneció adherente al tejido en este ambiente extremadamente dinámico. Tras la explantación cardiaca, se encontró que los parches estuvieron bien fijados al septo en los 4 animales. El análisis histopatológico reveló la formación de una cápsula de fibrina delgada alrededor del parche después de 24 horas que probablemente ayuda a asegurar además el parche en el sitio.

55 El grado de necrosis y el grado de inflamación según se puntuó mediante una evaluación subjetiva realizada por un anatomopatólogo con enmascaramiento de corazones explantados 7 días y 14 días después de la implantación con implantes de HLAA y CA, mostraron una necrosis y una inflamación mínimas para el HLAA, especialmente en comparación con el control.

60 **Ejemplo 9. Cierre de defectos arteriales carotídeos con el HLAA**

Materiales y métodos

65 El uso del HLAA no se limita a la unión de parches para el cierre de defectos. Si el tamaño del defecto lo permite, el

HLAA puede utilizarse en sí para crear un sellado a prueba de fugas. Para estudiar esto, se evaluó la resistencia a la presión de estallido *in vitro* del HLAA en una arteria carótida porcina explantada.

- 5 El ensayo de presión de estallido *in vitro* (n=3) se realizó en arterias carotídeas de cerdo explantadas. Brevemente, un extremo del vaso se conectó a un conductor de jeringuilla y a un transductor de presión (Honeywell T&M) y la otra cara se cerró utilizando un tapón hecho a medida. Se hizo una incisión longitudinal de 3 a 4 mm de grosor total en la pared del vaso. A continuación, la incisión y la pared del vaso circundante (que cubre un área de ~ 1 cm²) se revistieron con el HLAA y posteriormente curó durante 20 segundos sin aplicación de presión. Se infundió solución salina a 60 ml/min y se registró la presión de estallido (eXpert 3600 Biaxial, ADMET). Para el estudio *in vivo* (n=4), se realizó la 10 anestesia como se ha descrito anteriormente. Se realizó un ultrasonido con un Doppler a color de la arteria carótida izquierda preoperatoriamente para confirmar el flujo sanguíneo normal laminar. A continuación, se hizo una incisión a la izquierda del cuello y se expuso la arteria carótida y se controló proximal y distalmente con pinzas vasculares. A continuación, se hizo una incisión longitudinal de 2 mm de grosor total en el vaso. La incisión se cerró con el HLAA 15 como se ha descrito anteriormente. A continuación, se liberaron las pinzas vasculares y la arteria carótida se inspeccionó durante hasta 10 minutos para detectar sangrado. Después de 24 horas de control, se realizó un ultrasonido con un Doppler a color para confirmar el flujo sanguíneo. Posteriormente, se sacrificó a los animales y la arteria carótida se fijó con PFA al 4 %. Se realizó una tinción de H&E en secciones transversales del centro y de los bordes del defecto.
- 20 El defecto (longitud 3-4 mm) se cubrió con prepolímero de HLAA viscoso seguido de curado sin aplicación de presión durante el curado. La presión de estallido fue 203,5±28,5 mmHg, significativamente mayor que la presión arterial sistólica fisiológica (90 - 130 mmHg).

Resultados

- 25 Para examinar además la capacidad del HLAA para crear un sellado a prueba de fugas, se crearon defectos de 2 mm de diámetro en la arteria carótida en un modelo de cerdo *in vivo* y se cerraron con el HLAA sin un parche. Todos los animales (n=4) sobrevivieron al procedimiento. No se detectó sangrado postoperatorio en ninguno de los animales. La 30 formación de imágenes de Doppler reveló flujo sanguíneo postoperatoriamente. Siguiendo el cierre del defecto arterial carotídeo 24 horas, no se identificó formación de trombos tras el explante de vasos y el endotelio estuvo intacto, como se confirmó por la tinción de H&E de las arterias carótidas.

Ejemplo 10. Evaluación del potencial trombogénico del HLAA que contiene PGSU

35 Materiales y métodos

Se evaluó el potencial trombogénico de parches revestidos de HLAA y PGSU y se comparó con un material, vidrio, trombogénico. Se utilizó un ensayo de lactato deshidrogenasa para determinar la unión plaquetaria.

- 40 Se incubaron parches circulares (diámetro = 12 mm) de HLAA, PGSU y vidrio con sangre heparinizada porcina durante 1 h a 37 °C en un mezclador de hematología. Se secaron las superficies minuciosamente después del contacto con la sangre con 50 ml de PBS y se sumergieron en 1 ml de solución de Triton X-100 al 2 % durante 20 min para lisar las plaquetas adherentes superficiales. A continuación, se cuantificó el número de plaquetas depositadas sobre cada muestra mediante un ensayo de lactato deshidrogenasa (LDH) con un kit de detección de citotoxicidad de LDH (Promega).
- 45

Resultados

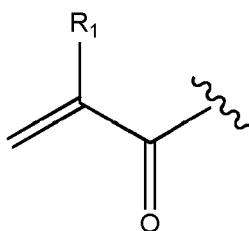
- 50 Los parches de HLAA mostraron un 46 % menos de adhesión plaquetaria y los de PGSU mostraron un 65 % menos de adhesión plaquetaria en comparación con el vidrio, como se muestra en la Figura 16. Estos datos están en línea con informes anteriores para la hemocompatibilidad del PGSU.

A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen los mismos significados que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece la invención divulgada.

55

REIVINDICACIONES

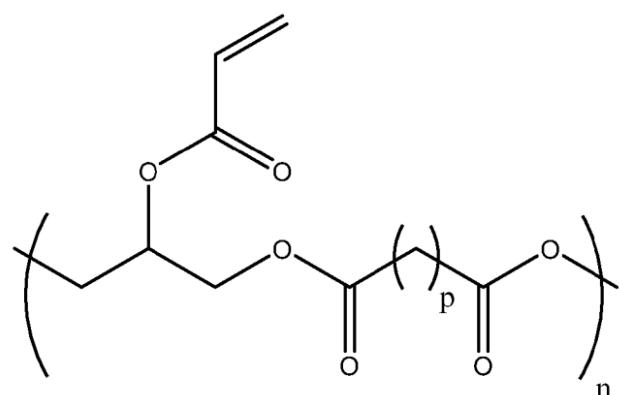
1. Una cola quirúrgica que comprende un prepolímero hidrófobo que comprende una pluralidad de grupos funcionales activados que pueden reaccionar o hacerse reaccionar para formar reticulaciones por la exposición a un estímulo seleccionado del grupo que consiste en luz, calor y un iniciador químico, en donde el porcentaje de grupos funcionales activados en la estructura polimérica es mayor de un 1 %, preferentemente superior a un 5 %, más preferentemente superior a un 10 %, más preferentemente superior a un 25 %, lo más preferentemente un 40 % o superior, en donde la reticulación del prepolímero no es iniciada por fluidos corporales, en donde el prepolímero cuando cura tiene una densidad de reticulación de al menos un 1 % o superior, en donde el peso molecular promedio en peso del prepolímero es menor de 20.000 daltons y en donde la viscosidad del prepolímero es de 0,5 a 100 Pa·s.
2. Una cola quirúrgica de acuerdo con la reivindicación 1, que es inyectable a través de una aguja de jeringuilla que tiene un calibre desde calibre 14 a 20, preferentemente de calibre 14 a 18, más preferentemente de calibre 16 a 18.
3. La cola quirúrgica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en donde, el peso molecular del prepolímero es de 1.000 daltons a 10.000 daltons, más preferentemente de 2.000 a 10.000 daltons, más preferentemente de 3.000 a 10.000 daltons, incluso más preferentemente de 5.000 a 10.000 daltons.
4. La cola quirúrgica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde,
- (i) la pluralidad de los grupos funcionales activados en el prepolímero son grupos acrilados;
- (ii) los moles del grupo funcional activado por mol de estructura polimérica son de 0,2 a 0,9, preferentemente de 0,3 a 0,8, más preferentemente de 0,4 a 0,6, más preferentemente 0,5
y/o
- (iii) la viscosidad del prepolímero es de 1,0 a 50 Pa·s, más preferentemente de 2,0 a 40 Pa·s, más preferentemente de 2,5 a 25 Pa·s.
5. La cola quirúrgica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el prepolímero es un poliéster que tiene la fórmula $(-A-B-)_n$, en donde A se deriva de un resto poliol sustituido o sin sustituir que comprende uno o grupos acrilados antes de la reticulación, B se deriva de un diácido sustituido o sin sustituir y n representa un número entero mayor de 1.
6. La cola quirúrgica de la reivindicación 5, en donde A se selecciona del grupo que consiste en trioles, tetraoles y polioles superiores, opcionalmente en donde A es un triol, opcionalmente además en donde el triol es glicerol.
7. El prepolímero de una cualquiera de las reivindicaciones 5 o 6, en donde el diácido es un diácido alifático, opcionalmente en donde el diácido se selecciona del grupo que consiste en ácido glutárico (5 carbonos), ácido adípico (6 carbonos) ácido pimélico (7 carbonos), ácido subérico (8 carbonos) y ácido acelaico (nueve carbonos), diácidos que tienen más de 10 carbonos, diácidos que tienen más de 15 carbonos, diácidos que tienen más de 20 carbonos y diácidos que tienen más de 25 átomos de carbono, opcionalmente además en donde el diácido es ácido sebálico.
8. La cola quirúrgica de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, en donde el acrilato comprende



- en donde, R₁ representa metilo o hidrógeno.

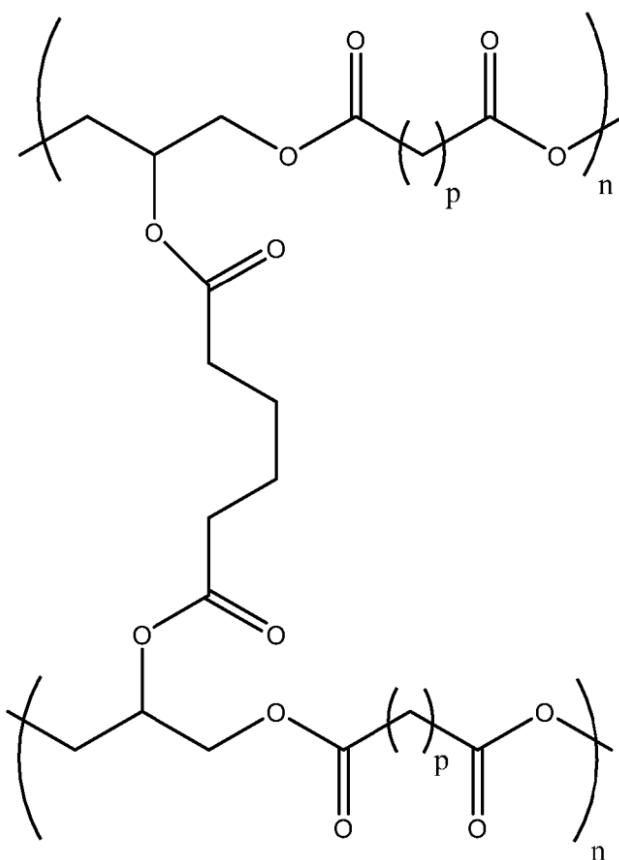
9. Un poliéster reticulado preparado a partir de la cola quirúrgica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
10. El poliéster reticulado de la reivindicación 9 en donde la adhesión a un sustrato húmedo es al menos 1,5 veces mayor que en el poliéster sin reticular, opcionalmente en donde el sustrato húmedo es tejido.
11. El polímero reticulado de las reivindicaciones 9 o 10 se adhiere a un sustrato húmedo solo tras la reticulación, con la adhesión húmeda siendo mayor de 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9 o 2,0 N/cm².
12. Un polímero de reticulación de una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en donde menos de un 50-60 % de los grupos vinilo están reticulados en el prepolímero polimerizado.

13. Un polímero de reticulación de una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, en donde el poliéster reticulado es elástico con una deformación por compresión máxima por encima de un 30%; y/o el poliéster reticulado es elástico con un módulo compresivo máximo por encima de 0,5 MPa.
- 5 14. El poliéster reticulado de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 13, en donde el poliéster reticulado se adhiere a un sustrato húmedo en presencia de sangre, donde el contacto con la sangre durante 5 minutos no altera sustancialmente la resistencia adhesiva.
- 10 15. El polímero reticulado de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 14, en donde la presión de estallido está por encima de 150 mmHg.
- 15 16. El polímero reticulado de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 15, en donde la cola se adhiere establemente a un sustrato dinámico durante un periodo de al menos 7 días, 14 días, 21 días, 28 días, un mes, dos meses, tres meses, cuatro meses, cinco meses, seis meses o más.
- 20 17. El polímero reticulado de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 16, en donde el poliéster transmite al menos un 5 % de la luz UV incidente y preferentemente más de un 80 % de luz UV incidente.
- 25 18. El polímero reticulado de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 17, en donde el porcentaje de activación es mayor de un 10 %.
19. El polímero reticulado de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 18, donde el poliéster reticulado es biocompatible; y/o en donde el poliéster reticulado es biodegradable.
- 25 20. El polímero reticulado de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 19, en donde la densidad de reticulación es al menos aproximadamente un 2 %, un 3 %, un 4 %, un 5 %, un 6 %, un 7 %, un 8 %, un 9 %, un 10 %, un 12 %, un 15 %, un 18 %, un 20 %, un 22 %, un 25 %, un 28 %, un 30 %, un 32 %, un 35 %, un 38 %, un 40 % o más.
- 30 21. Un kit que comprende un primer envase que comprende la cola quirúrgica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y un segundo envase que comprende un fotoiniciador.
22. Un parche que comprende la cola quirúrgica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, opcionalmente en donde el prepolímero está sobre una superficie del parche.
- 35 23. El parche de la reivindicación 22, en donde el parche comprende además un fotoiniciador, opcionalmente en donde el parche es transparente a la longitud de onda de la radiación para activar el fotoiniciador.
- 40 24. La cola quirúrgica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para usar en un método para pegar o sellar tejido, comprendiendo el método aplicar a la superficie del tejido y reticular el prepolímero para formar un polímero curado, en donde el polímero curado tiene una resistencia adhesiva de extracción de 90° de al menos aproximadamente 0,5 N/cm², preferentemente de al menos aproximadamente 1 N/cm² e incluso más preferentemente de al menos aproximadamente 2 N/cm².
- 45 25. La cola quirúrgica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para usar en un método para adherir tejido a la superficie de un dispositivo médico, comprendiendo el método aplicar a la superficie del tejido y/o al dispositivo médico, poner en contacto el tejido con el dispositivo médico y reticular el prepolímero para formar un polímero reticulado, en donde el dispositivo médico se adhiere al tejido con una resistencia adhesiva de extracción de 90° de al menos aproximadamente 0,5 N/cm², preferentemente de al menos aproximadamente 1 N/cm² e incluso más preferentemente de al menos aproximadamente 2 N/cm².
- 50



Prepolímero de HLAA

FIG. 1A



Red de HLAA

FIG. 1B

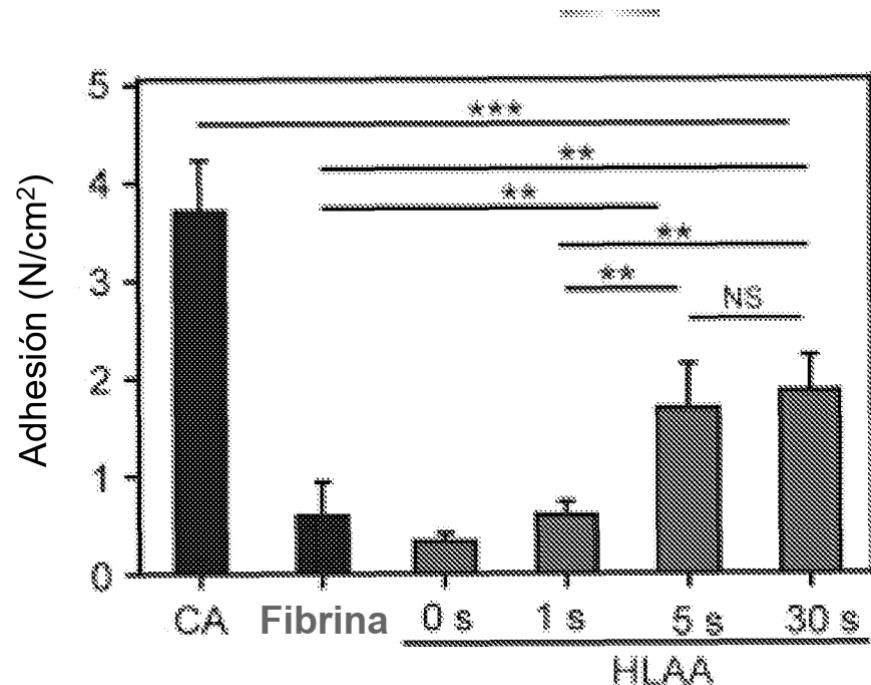


FIG. 1C

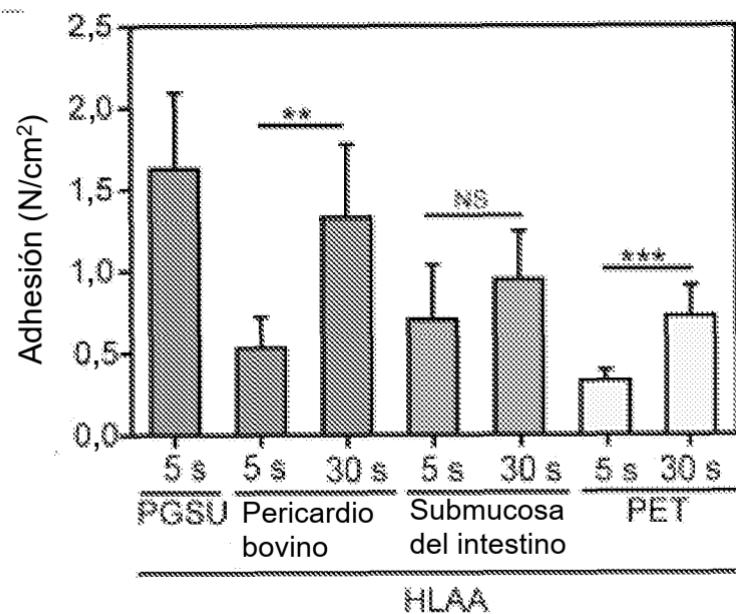


FIG. 1D

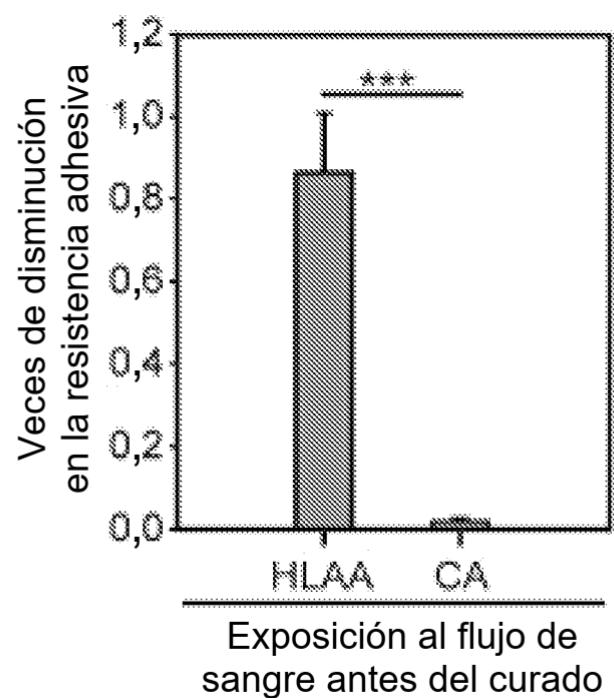


FIG. 1E

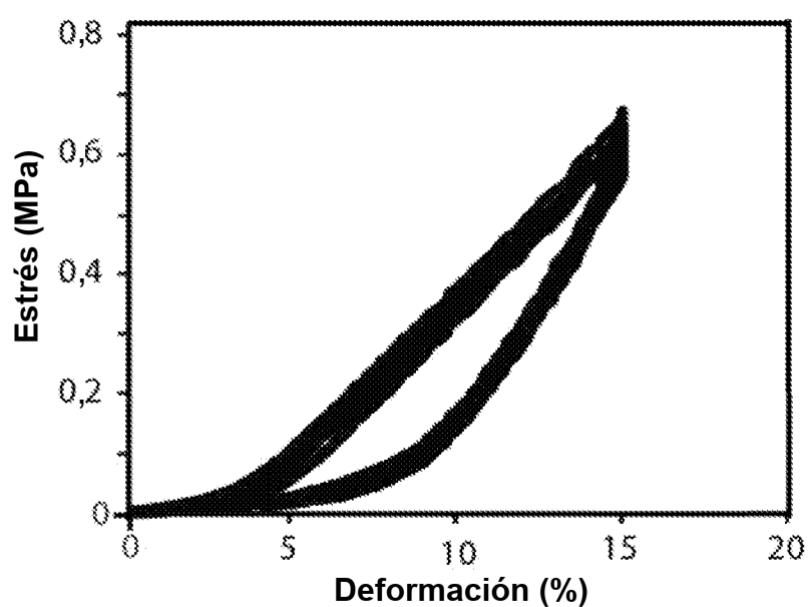


FIG. 2

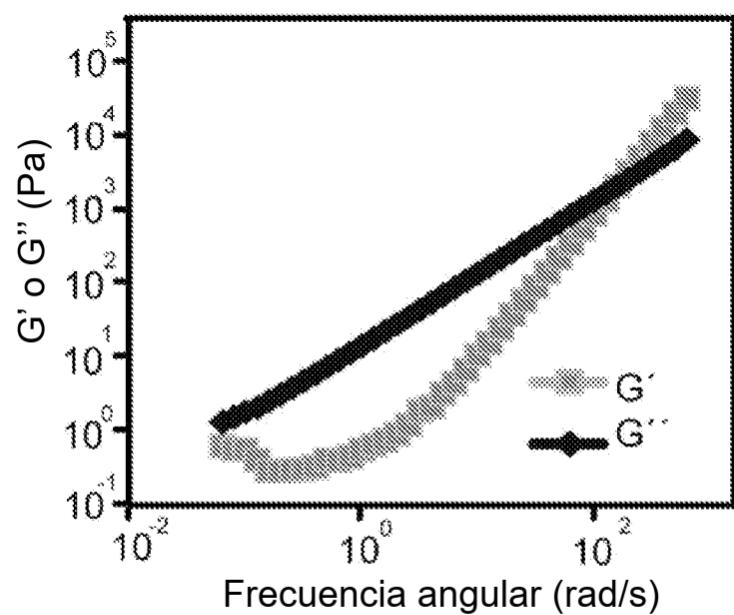


FIG. 3A

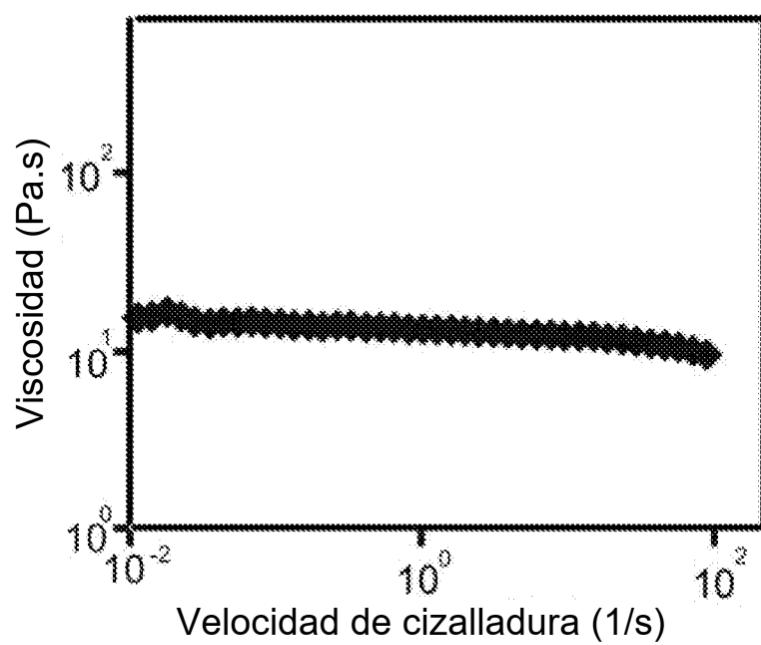


FIG. 3B

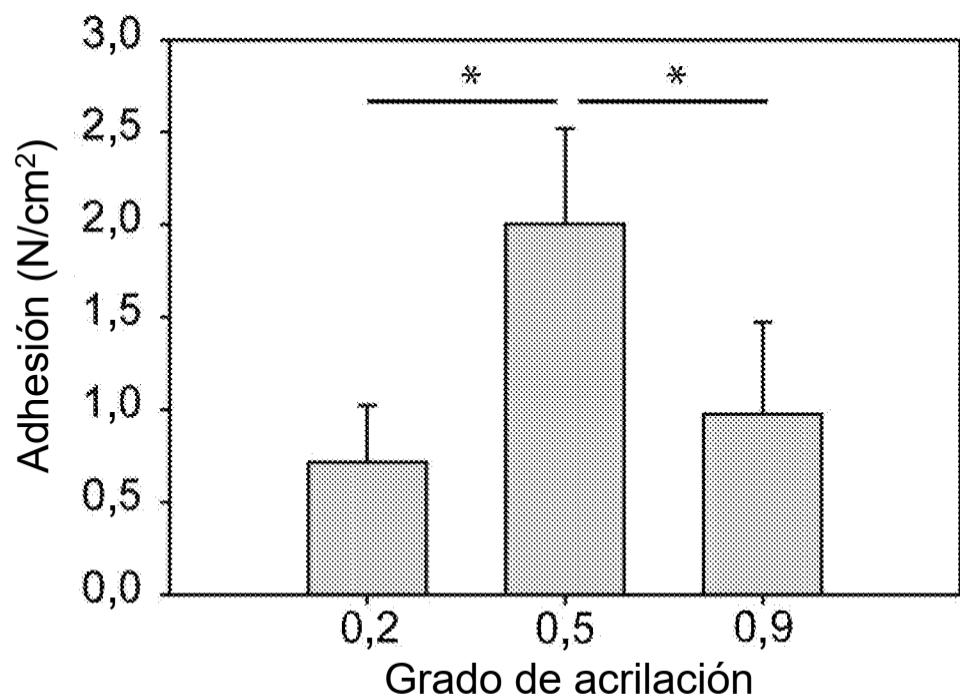


FIG. 4

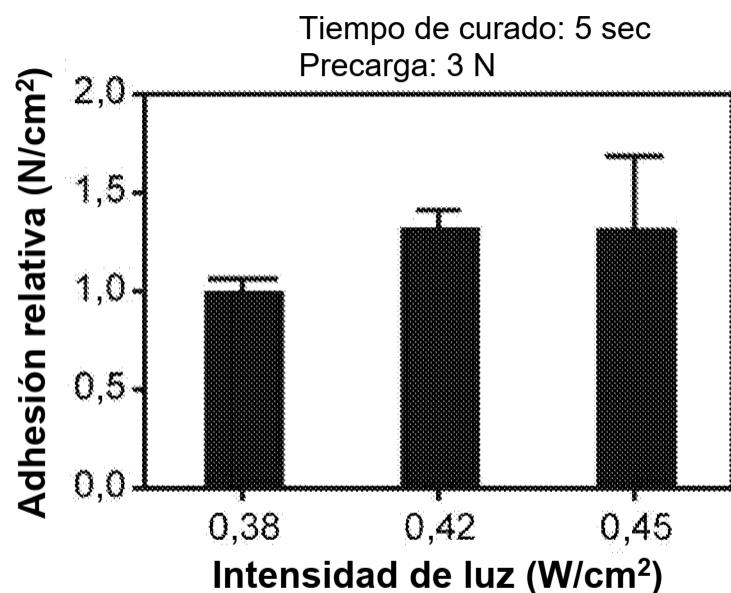


FIG. 5A

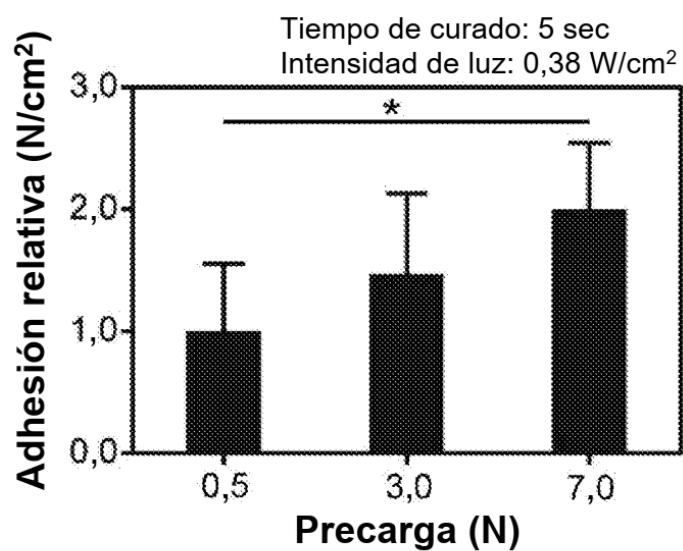


FIG. 5B

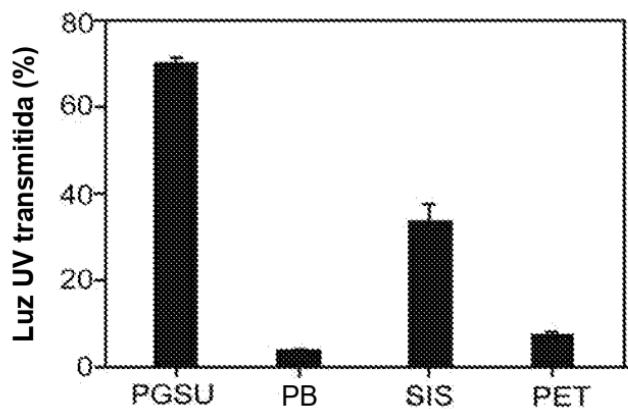


FIG. 6

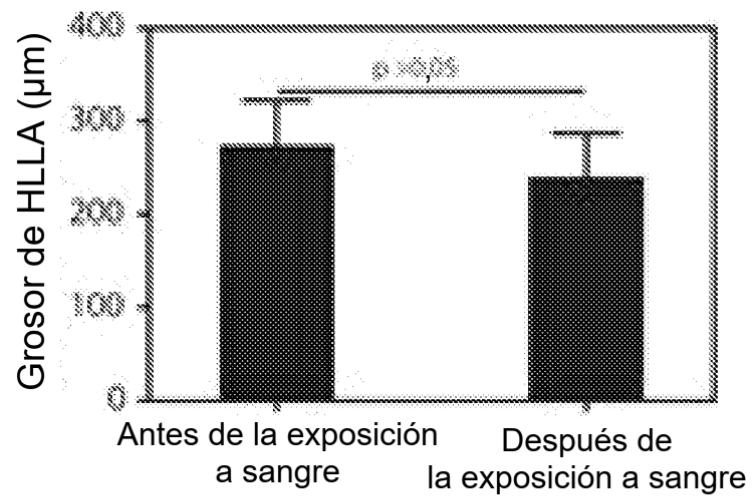


FIG. 7

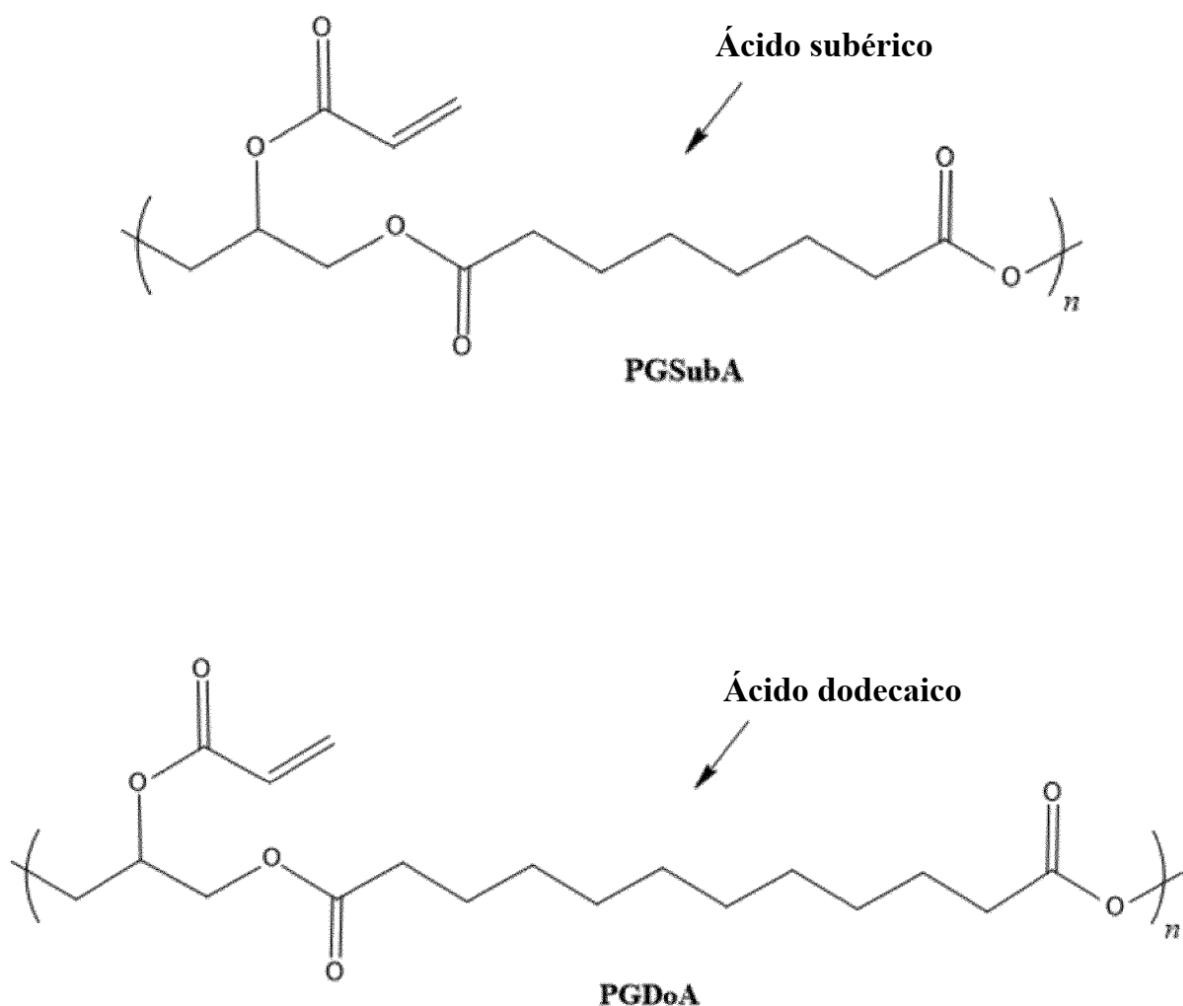


FIG. 8

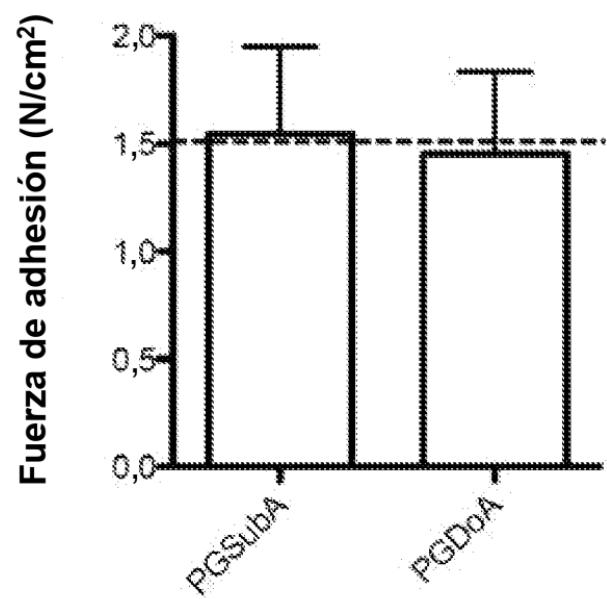


FIG. 9

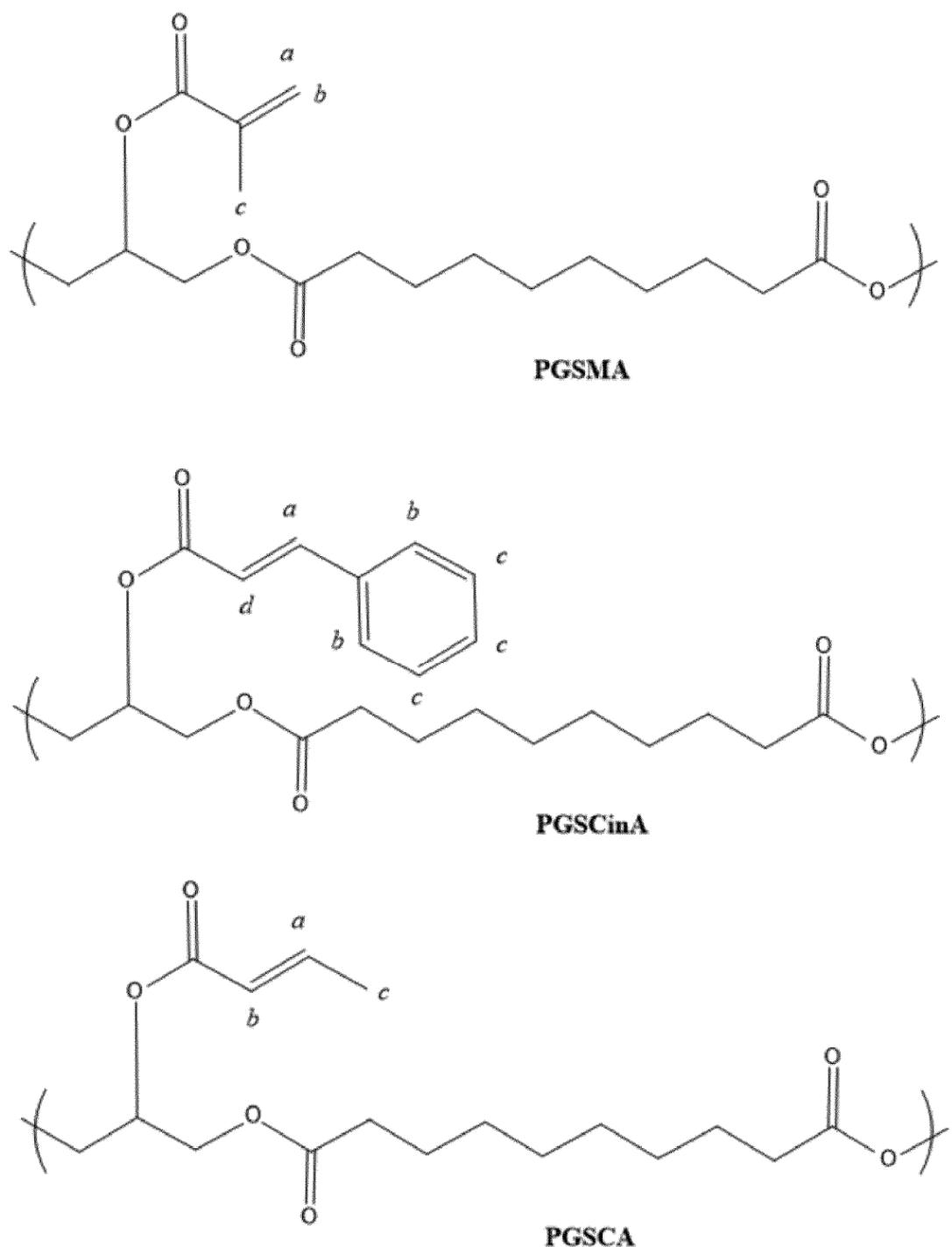


FIG. 10

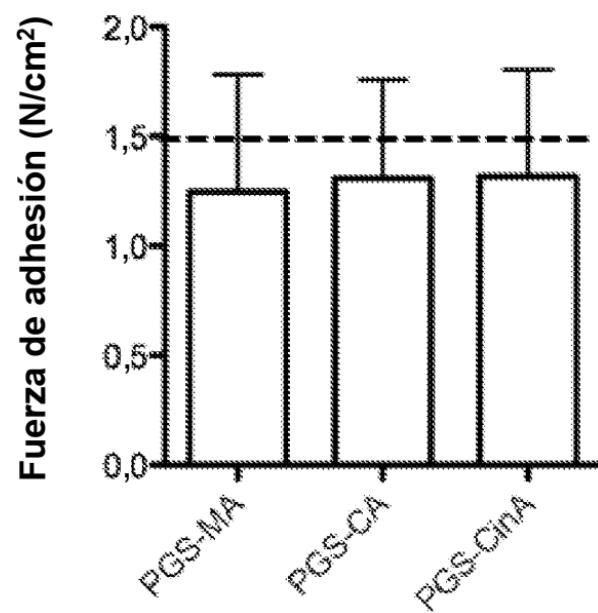


FIG. 11

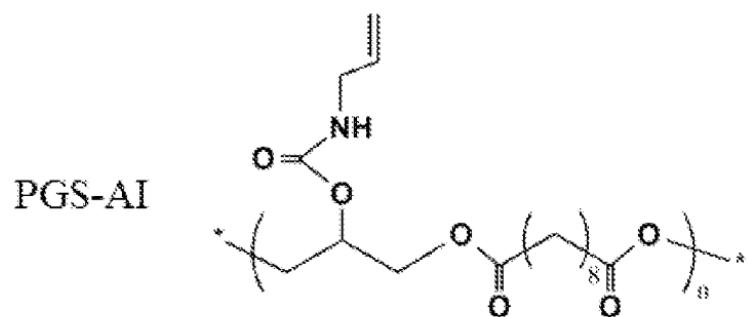


FIG. 12

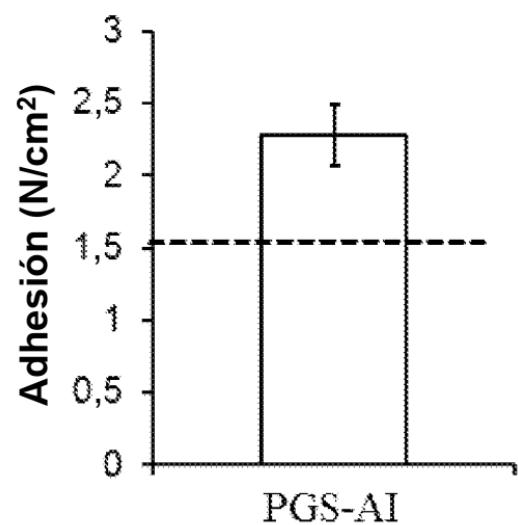


FIG. 13

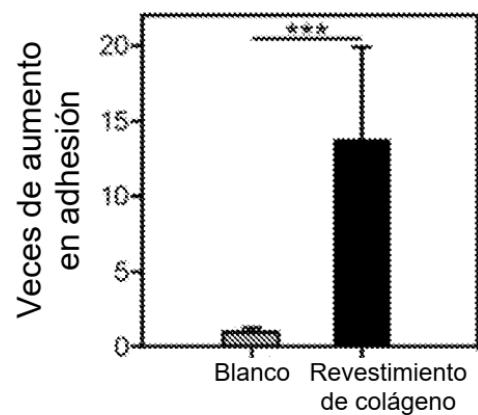


FIG. 14

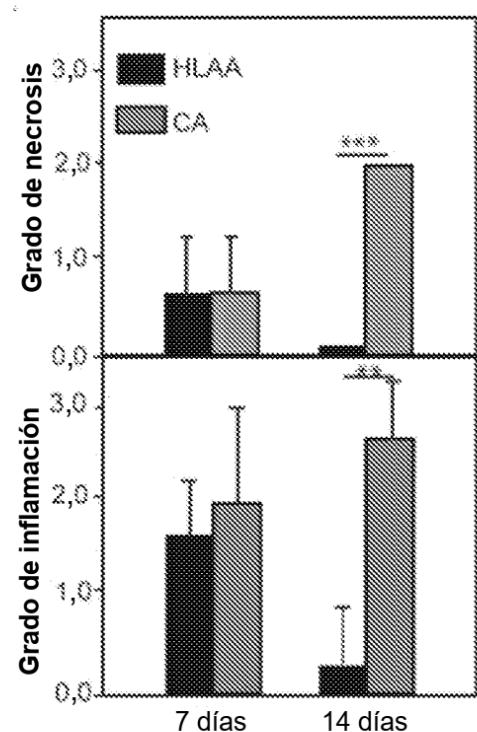


FIG. 15A-15B

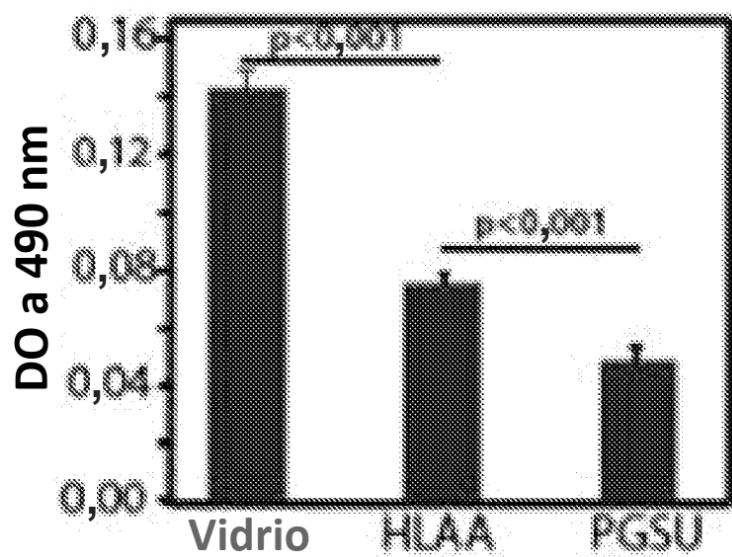


FIG 16