

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 806 075**

51 Int. Cl.:

A01N 1/02 (2006.01)

A61K 35/14 (2015.01)

B01D 15/00 (2006.01)

B01J 20/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.08.2012 PCT/US2012/050295**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.02.2013 WO13025483**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.08.2012 E 12824141 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2020 EP 2741605**

54 Título: **Sorbente polimérico para la eliminación de impurezas de sangre completa y productos sanguíneos**

30 Prioridad:

12.08.2011 US 201161523170 P

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

16.02.2021

73 Titular/es:

**CYTOSORBENTS CORPORATION (100.0%)
7 Deer Park Drive, Suite K
Monmouth Junction, NJ 08852, US**

72 Inventor/es:

**CHAN, PHILLIP, P.;
CAPPONI, VINCENT, J.;
GOLOBISH, THOMAS, D. y
ALI, HUMAYRA, BEGUM**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 806 075 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

Sorbente polimérico para la eliminación de impurezas de sangre completa y productos sanguíneos

5 CAMPO TÉCNICO

La presente invención se refiere a composiciones y métodos útiles en la eliminación de citoquinas, lípidos bioactivos, hemoglobina libre, productos de degradación de la membrana o celular, mediadores inflamatorios, sustancias vasoactivas, antígenos extraños y anticuerpos de la sangre y productos sanguíneos.

10

ANTECEDENTES

La transfusión de sangre completa o derivados de sangre completa ("productos sanguíneos") son literalmente la sangre vital de pacientes con una variedad de afecciones, desde traumatismos graves hasta cirugía y cáncer. De acuerdo con la Cruz Roja Americana, hay más de 14 millones de transfusiones de glóbulos rojos concentrados (pRBC) por año en los Estados Unidos, con 1 de cada diez ingresos a hospitales estadounidenses que requieren una transfusión de sangre de media. Cada año se administra un número similar de transfusiones de otras fracciones de sangre completa o productos sanguíneos, como plaquetas, glóbulos blancos, plasma, albúmina, inmunoglobulinas, factores de coagulación y crioprecipitado. La necesidad crítica de sangre se extiende al ejército, donde la logística del transporte y almacenamiento de sangre es complicada y el 8% de todos los ingresos hospitalarios durante la Operación Libertad Iraquí requirió transfusiones masivas, definidas como más de 10 unidades de sangre en las primeras 24 horas. La sangre completa y los productos sanguíneos serán referidos en la presente colectivamente como "sangre".

La sangre tiene una vida útil limitada. Una unidad típica de pRBC tiene una vida útil de solo 42 días, mientras que las plaquetas deben usarse en el plazo de los 5 días posteriores a la donación. Esto, junto con la alta demanda de sangre, ha llevado a la escasez periódica de sangre. Pero muchos expertos médicos creen que la sangre fresca debe usarse incluso antes, en el plazo de 2-4 semanas. Los estudios retrospectivos han implicado las transfusiones de sangre "más vieja" con un riesgo aumentado de reacciones a la transfusión no hemolíticas como fiebre, lesión pulmonar aguda relacionada con la transfusión (TRALI), disnea asociada a la transfusión (TAD), reacciones alérgicas, infección, muerte y otras complicaciones. En uno de estos estudios, el riesgo de muerte en el hospital aumentó en un 2% por cada día que envejecía una unidad de glóbulos rojos envasada. Debido a esto, sería útil extender la vida útil de los productos sanguíneos y mejorar la calidad de la sangre. La WO2012/094565 A1 divulga métodos para tratar la sangre, productos sanguíneos o fluido fisiológico para maximizar la vida útil y/o minimizar las complicaciones relacionadas con las transfusiones. La WO2009/158027 A1 divulga un sorbente polimérico que depura la mioglobina de la sangre y/o otros fluidos y soluciones fisiológicas. La US2008/119576 A1 divulga adsorbentes poliméricos porosos hemocompatibles de tamaño selectivo con una estructura de poro capaz de excluir moléculas más grandes de 50.000 Daltons, pero con un sistema de poro que permite una buena entrada y salida de moléculas más pequeñas de 35.000 Daltons, La DE 101 57 569 A1 divulga un proceso para la purificación de sangre, en el que los componentes de la sangre no celulares de un paciente se separan mediante procesos de separación conocidos y luego se suministran para purificación adicional.

SUMARIO

En una realización de la invención, las complicaciones relacionadas con las transfusiones como reacciones a transfusiones no hemolíticas como fiebre, lesión pulmonar aguda relacionada con la transfusión (TRALI), disnea asociada a la transfusión (TAD), las reacciones alérgicas se mitigan mediante la eliminación de moléculas no deseables de la sangre mediante el uso de un sorbente. El uso de un sorbente para eliminar productos no deseables de la sangre transfusible también puede extender la vida útil de esta sangre al, por ejemplo, eliminar los productos no deseables que se acumulan durante el almacenamiento. Estos productos no deseables que se encuentran en la sangre son referidos en la presente como moléculas biológicamente activas (BAM). Las BAM se definen como cualquier sustancia o molécula que, por sí sola o en combinación con otras BAM, puede provocar un proceso biológico, celular o fisiológico. Durante las transfusiones de sangre, las BAM pueden provocar una respuesta fisiológica no deseable en el receptor de la sangre transfundida, como TRALI, TAD y otras. Por ejemplo, los anticuerpos anti-antígeno leucocitario humano son BAM vinculados a casos graves de TRALI. Los priones, otro ejemplo de una BAM, pueden provocar la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob o encefalopatía espongiforme subaguda. Un subconjunto de BAM son los modificadores de la respuesta biológica (BRM), que son sustancias que tienen un efecto sobre el sistema inmune. Estos incluyen, por ejemplo, citoquinas, quimiocinas, anticuerpos, glicoproteínas y factores de crecimiento. Las citoquinas que se encuentran en la sangre transfusible pueden provocar fiebre en el receptor.

En otra realización, las BAM presentes en la sangre y productos sanguíneos como fármacos, mediadores inflamatorios y estimuladores como citoquinas, quimiocinas, interferones, óxido nítrico, tromboxanos, leucotrienos, factor activador plaquetario, prostaglandinas, glicoproteínas, cininas, cininógenos, factores del complemento, moléculas de adhesión celular, superantígenos, monoquinas, radicales libres, proteasas, metabolitos del ácido

65

araquidónico, prostaciclina, beta endorfinas, factores depresores del miocardio, anandimida, 2-aracodonilglicerol, tetrahidrobiopterina, histamina, bradiquinina, ligando CD40 soluble, serotonina, hemoglobina, lípidos bioactivos, antígenos, priones, toxinas, endotoxinas, componentes de la membrana o celulares y otros BRM son eliminados por el sorbente. Estas BAM pueden haber estado presentes en la sangre del donante en el momento que se hizo la donación de sangre o pueden desarrollarse a lo largo del tiempo a medida que se procesa la sangre, o estando en almacenamiento, o como parte del proceso de envejecimiento.

Los sorbentes adecuados incluyen polímeros biocompatibles. Ciertos polímeros son hemocompatibles. Algunos polímeros biocompatibles se suministran en forma de lechada, o suspensión, o polvo seco u otros particulados secos que pueden humedecerse.

En algunas realizaciones, puede usarse una bolsa de almacenamiento de sangre o un recipiente de sangre adecuado de tal manera que los sorbentes poliméricos estén en forma de perlas, de tal manera que las perlas tengan una flotabilidad neutra en la sangre. Las perlas flotantes adecuadas de sorbentes poliméricos tendrán una densidad que es comparable a la composición (fluido) en la que residen las perlas.

En otra realización, los sorbentes tienen una flotabilidad neutra en la sangre, de tal manera que las BAM pueden eliminarse en todo el volumen de sangre sin la necesidad de mezclarlos a lo largo del tiempo.

En algunas realizaciones, la sangre donada se trata con un sorbente para eliminar los anticuerpos no deseables como los anticuerpos anti-leucocitos y los anticuerpos anti-antígeno leucocitario humano, en el momento de la donación, durante el almacenamiento o en el momento de uso.

En otra realización, aumentar la densidad aparente de las perlas añadiendo heteroátomos más pesados a la matriz polimérica permite la síntesis de perlas de flotabilidad neutra con respecto a los glóbulos rojos concentrados (RBC). Esto se puede lograr mediante suspensión, sembrado, dispersión, precipitación, multietapas, emulsión de membranas/microcanales y polimerizaciones microfluídicas para formar partículas porosas de flotabilidad neutra (Gokmen MT, Du Prez FE. Porous polymer particles- A comprehensive guide to synthesis, characterization, functionalization and applications. Prog Polym Sci 2012;37:365-405).

En otras realizaciones, los polímeros comprenden partículas que tienen un diámetro en el intervalo de 0,1 micrómetros a 2 centímetros. Ciertos polímeros están en forma de polvo, perlas u otros particulados de forma regular o irregular.

En ciertas realizaciones, el polímero está hecho de partículas que tienen un diámetro en el intervalo de 0,1 micrómetros a 2 centímetros, es poroso y tiene una estructura de poro tal que el volumen total de poros del tamaño de poro en el intervalo de 50 Å a 40.000 Å es mayor de 0,5 cc/g a 5,0 cc/g de polímero seco.

El polímero de la invención es un copolímero de divinilbenceno y 4-cloroestireno. Algunos polímeros de la divulgación comprenden residuos de uno o más monómeros o monómeros que contienen heteroátomos o mezclas de los mismos seleccionados de divinilbenceno y etilvinilbenceno, estireno, etilrestireno, acrilonitrilo, metacrilato de butilo, metacrilato de octilo, acrilato de butilo, acrilato de octilo, metacrilato de cetilo, acrilato de cetilo, metacrilato de etilo, acrilato de etilo, viniltolueno, vinilnaftaleno, alcohol de vinilbencilo, vinilformamida, metacrilato de metilo, acrilato de metilo, trivinilbenceno, divinilnaftaleno, trivinilciclohexano, divinilsulfona, trimetacrilato de trimetilolpropano, trimetilolpropano, dimetacrilato de trimetilolpropano, triacrilato de trimetilolpropano, diacrilato de trimetilolpropano, dimetilacrilato de pentaeritritol, trimetilacrilato de pentaeritritol, tetrametacrilato de pentaeritritol, diacrilato de pentaeritritol, triacrilato de pentaeritritol, tetracrilato de pentaeritritol, dimetilacrilato de dipentaeritritol, trimetacrilato de dipentaeritritol, tetrametacrilato de dipentaeritritol, diacrilato de dipentaeritritol, triacrilato de dipentaeritritol, tetracrilato de dipentaeritritol, divinilformamida, 2-cloroestireno, 3-cloroestireno, 4-cloroestireno, 2,6-dicloroestireno, cloruro de 4-vinilbencilo, 2-bromoestireno, 3-bromoestireno, 4-bromoestireno, 2-fluoroestireno, 3-fluoroestireno, 4-fluoroestireno, 2-trifluorometilrestireno, 3-trifluorometilrestireno, 4-trifluorometilrestireno, 2,3,4,5,6-pentafluoroestireno, 4-vinil-18-corona-6 benceno, 2-cloroacrilato, 2,2,2-trifluorometilmetacrilato, 2-trifluorometilacrilato, metil 2-(clorometil)acrilato, metil 2-(bromometil)acrilato, 1H, 1H, 2H, 2H-heptadecafluorodecil acrilato, vinil cloroacetato y 2-cloroetil vinil éter.

En algunas realizaciones, el polímero es un polímero recubierto que comprende por lo menos un agente de reticulación y por lo menos un agente dispersante. El agente dispersante puede ser hemocompatible. Los agentes dispersantes pueden seleccionarse de productos químicos, compuestos o materiales como hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, poli(metacrilato de hidroxietilo), poli(acrilato de hidroxietilo), poli(metacrilato de hidroxipropilo), poli(acrilato de hidroxipropilo), poli(metacrilato de dimetilaminoetilo), poli(metacrilato de dimetilaminoetilo) poli(acrilato de dimetilaminoetilo), poli(metacrilato de dietilaminoetilo), poli(acrilato de dietilaminoetilo), poli(alcohol vinílico), poli(N-vinilpirrolidina), sales de poli(ácido metacrílico) y sales de poli(ácido acrílico) y mezclas de los mismos; el agente de reticulación se selecciona de un grupo que consiste de divinilbenceno, trivinilbenceno, divinilnaftaleno, trivinilciclohexano, divinilsulfona, trimetacrilato de trimetilolpropano, trimetilolpropano, dimetacrilato de trimetilolpropano triacrilato, trimetilolpropano, diacrilato de pentaeritritol dimetacrilatos de pentaeritritol, trimetacrilatos de pentaeritritol, tetrametacrilatos, diacrilatos de pentaeritritol, triacrilatos de pentaeritritol,

tetraacrilatos de pentaeritritol, dimetacrilatos de dipentaeritritol, trimetacrilatos de dipentaeritritol, tetrametacrilatos de dipentaeritritol, diacrilatos de dipentaeritritol, triacrilatos de dipentaeritritol, tetraacrilatos de dipentaeritritol, divinilformamida y mezclas de los mismos. Preferiblemente, el polímero se desarrolla simultáneamente con la formación del recubrimiento, en donde el agente dispersante se une químicamente a la superficie del polímero.

5 Algunas realizaciones de la invención usan un solvente orgánico y/o un porógeno polimérico como el porógeno o formador de poros, y la separación de fases resultante inducida durante la polimerización produce polímeros porosos. Algunos porógenos preferidos son alcohol bencílico, ciclohexano, ciclohexanol, mezclas de ciclohexanol/tolueno, ciclohexanona, decano, mezclas de decano/tolueno, ácido di-2-etilhexilfosfórico, di-2-etilhexil
10 ftalato, ácido 2-etil-1-hexanoico, 2-etil-1-hexanol, mezclas de 2-etil-1-hexanol/n-heptano, mezclas de 2-etil-1-hexanol/tolueno, alcohol isoamílico, n-heptano, n-heptano/acetato de etilo, n-heptano/acetato de isoamilo, mezclas de n-heptano/tetralina, mezclas de n-heptano/tolueno, mezclas de n-hexano/tolueno, pentanol, poli(metacrilato de estireno-co-metilo)/ftalato de dibutilo, mezclas de poliestireno/2-etil-1-hexanol, poliestireno/ ftalato de dibutilo,
15 mezclas de poliestireno/n-hexano, mezclas de poliestireno/tolueno, tolueno, tri-n-butilfosfato, mezclas de 1,2,3-tricloropropano/2-etil-1-hexanol, 2,2,4-trimetil pentano (isooctano), mezclas de trimetil pentano/tolueno, mezclas de poli(propilenglicol)/tolueno, mezclas de poli(propilenglicol)/ciclohexanol, y mezclas de poli(propilenglicol)2-etil-1-hexanol.

20 En una realización, el polímero es capaz de absorber moléculas de proteína de aproximadamente 100 Daltons a aproximadamente 1.000 Kilodaltons.

25 En otra realización, un polímero poroso que absorbe moléculas de proteínas de tamaño pequeño a mediano iguales o menores de 50.000 Daltons y excluye o reduce la absorción de proteínas sanguíneas grandes comprende la estructura de poro de tal manera que el volumen total de poros del tamaño de poro en el intervalo de 50 Å a 40.000 Å están en el intervalo de 0,5 cc/g a 5,0 cc/g de sorbente seco. El sorbente tiene una estructura de poro tal que el volumen total de poros del tamaño de poro en el intervalo de 50 Å a 40.000 Å es mayor que 0,5 cc/g a 5,0 cc/g de sorbente seco; en donde la proporción de volumen de poro entre 50 Å y 40.000 Å (diámetro de poro) a volumen de poro entre 100 Å y 1000Å (diámetro de poro) del sorbente es menor que 3:1.

30 En otra realización, un polímero poroso que absorbe de manera óptima moléculas de proteínas de tamaño mediano a grande de aproximadamente 300.000 Daltons y excluye o reduce la absorción de proteínas sanguíneas muy grandes comprende la estructura de poro de tal manera que el volumen total de poros del tamaño de poro en el intervalo de 50 Å a 40.000 Å están en el intervalo de 0,5 cc/g a 5,0 cc/g de sorbente seco. El sorbente tiene una estructura de poro tal que el volumen de poro total del tamaño de poro en el intervalo de 50 Å a 40.000 Å es mayor
35 de 0,5 cc/g a 5,0 cc/g de sorbente seco; en donde la proporción de volumen de poro entre 50Å y 40.000Å (diámetro de poro) a volumen de poro entre 1.000 Å y 10.000 Å (diámetro de poro) del sorbente es menor que 2:1.

40 En otra realización, un polímero poroso que absorbe óptimamente moléculas de proteínas de tamaño muy grande igual o inferior a 1.000.000 de Daltons (de 100 Daltons a 450.000 Daltons en algunas realizaciones) y excluye o reduce la absorción de proteínas sanguíneas muy grandes comprende la estructura de poro de tal manera que el volumen total de poros del tamaño de poro en el intervalo de 50 Å a 40.000 Å está en el intervalo de 0,5 cc/g a 5,0 cc/g de sorbente seco. El sorbente tiene una estructura de poro tal que el volumen total de poros del tamaño de poro en el intervalo de 50 Å a 40.000 Å es mayor que de 0,5 cc/g a 5,0 cc/g de sorbente seco; en donde la proporción de volumen de poro entre 50Å y 40.000Å (diámetro de poro) a volumen de poro entre 10.000 Å a 40.000 Å (diámetro de poro) del sorbente es menor que 3:1.

45 En algunas realizaciones, los polímeros pueden derivatizarse. Algunos polímeros pueden modificarse con un anticuerpo o ligando. Ciertos ligandos se unen específica o no específicamente a biomoléculas reactivas. Tal polímero puede ser poroso o sólido.

50 En algunas realizaciones, la composición está contenida en un recipiente de sangre adecuado con la sangre o productos sanguíneos. En ciertas realizaciones, la invención se refiere a una bolsa de almacenamiento de sangre que comprende cualquiera de las composiciones analizadas en la presente. En algunas realizaciones, el sorbente está en un recipiente adecuado para contener sangre y en contacto directo con sangre y productos sanguíneos pero incapaz de escapar del recipiente. En algunas realizaciones, la composición es parte del material del recipiente de almacenamiento que forma el recipiente. En algunas realizaciones, la composición se recubre o deposita sobre la superficie interior del recipiente de almacenamiento y en contacto directo con la sangre o productos sanguíneos. En algunas realizaciones, el material se separa de la sangre a través de la membrana, pero el fluido puede pasar a través de la membrana permitiendo que los BRM se comuniquen con la composición pero
55 excluyendo células como glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas. Algunos métodos comprenden además separar la composición de la sangre mediante filtración. En ciertas realizaciones, la filtración se produce mientras se extrae la sangre de la bolsa de almacenamiento durante la transfusión a un paciente. En algunas realizaciones, el sorbente en el recipiente de sangre está en contacto directo con la sangre.

65 En otras realizaciones, el sorbente es estructuralmente una parte integral del material del recipiente

dispersado homogéneamente a través de las paredes del recipiente, o sellado discretamente en múltiples áreas del recipiente proporcionando zonas de contacto directo con la sangre o productos sanguíneos, o recubierto, depositado o unido a las paredes interiores del recipiente en contacto directo con la sangre o los productos sanguíneos.

5 Ciertas realizaciones se refieren a filtros que comprenden cualquier composición analizada en la presente. Algunas realizaciones se refieren a un cartucho de filtro que comprende cualquiera de las composiciones analizadas en la presente. Algunos dispositivos de la invención son dispositivos de filtración de sangre que comprenden un filtro o cartucho de filtro que comprende cualquiera de las composiciones analizadas en la presente.

10 En algunas realizaciones, la composición está contenida en un filtro y o la sangre del donante en el momento de la donación se pasa a través del filtro antes de colocarla en un recipiente de sangre adecuado o la sangre o los productos sanguíneos en el recipiente de sangre pasan a través del filtro durante la transfusión al paciente. Para los propósitos de esta invención, el término "sorber" se define como "absorción y unión por absorción y adsorción".

15 Los sorbentes de la presente invención tienen una densidad esquelética en el intervalo de 1,0 g/ml a 1,3 g/ml. Ciertos sorbentes tienen una densidad esquelética que es sustancialmente la misma que la densidad de la sangre o del producto sanguíneo. En otras realizaciones, la perla polimérica sorbente es para sorber impurezas de la sangre que comprende cualquiera de las composiciones descritas en la presente donde la perla polimérica sorbente tiene una flotabilidad neutra o casi neutra en la sangre o productos sanguíneos almacenados.

20 En algunas realizaciones, como se usa en la presente, "sustancialmente el mismo" significa más o menos el 10% del valor referenciado. Como se usa en la presente, "flotabilidad casi neutra" significa que el sorbente tiene sustancialmente la misma densidad que la sangre o el producto sanguíneo almacenados.

25 En ciertas realizaciones, los métodos de la invención usan un método de polimerización con semillas que incluye semillas de polímeros basados en monómeros 100% heteroátomos y monómeros no heteroátomos de tal manera que la combinación puede llevar a un sistema de flotabilidad neutra. Ciertos polímeros de semilla están compuestos de una mezcla de monómero heteroátomo y no heteroátomo.

30 Con algunos métodos de la invención, el sorbente está en un recipiente adecuado para contener sangre y en contacto directo con sangre y productos sanguíneos, pero es incapaz de escapar del recipiente a un nivel que cumpla con el particulado USP como se especifica en la monografía 65 de IARC. Las monografías de la IARC (Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer) identifican factores ambientales que pueden aumentar el riesgo de cáncer humano.

35 Una ventaja de la invención es que con la creación de perlas con flotabilidad neutra, o flotabilidad casi neutra, debido a una densidad similar a los productos sanguíneos, las perlas permanecen dispersas de manera natural en la sangre o en el producto sanguíneo, lo que permite que las sustancias en la sangre sean sorbidas por las cuentas sin necesidad, o con una necesidad reducida, de mezclar o agitar el recipiente de sangre.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

45 La **Figura 1** muestra las densidades esqueléticas de los polímeros creados frente al porcentaje en peso de 4-cloroestireno para divinilbenceno comercial al 63% y al 80%. Esto demuestra que porcentajes en peso más altos de 4-cloroestireno producen mayores densidades esqueléticas del polímero final. En la figura, las flechas hacia abajo (↓) representan una perla que se hunde, la flecha hacia arriba (↑) una perla que flota y N es una perla de flotabilidad neutra en los glóbulos rojos concentrados.

50 La **Figura 2** muestra la distribución de perlas con flotabilidad neutra en glóbulos rojos concentrados. La **Figura 3** muestra la relación entre el volumen de poro de los polímeros creados con el porcentaje de Divinilbenceno comercial y el porcentaje en peso de 4-cloroestireno usados en la fase orgánica. Esto se usa para ilustrar que el divinilbenceno al 80% produjo volúmenes de poros mayores que el divinilbenceno al 63% con cantidades iguales de 4-cloroestireno presente.

55 La **Figura 4** es un gráfico que muestra el volumen de poros en función del diámetro de poro en base a la intrusión de mercurio. Un volumen de poro alto en un diámetro de poro dado significa que hay muchos poros de ese tamaño; un volumen de poro más bajo en un diámetro de poro dado significa pocos poros del tamaño dado.

60 La **Figura 5** es un gráfico que muestra el volumen de poro en función del diámetro de poro en base a la desorción de nitrógeno. Un volumen de poro alto en un diámetro de poro dado significa que hay muchos poros de ese tamaño; un volumen de poro más bajo en un diámetro de poro dado significa pocos poros del tamaño dado.

La **Figura 6** ilustra que para crear perlas de polímero con flotabilidad neutra, a medida que aumenta el volumen de poros del polímero, también debe aumentarse la densidad esquelética del polímero.

65 La **Figura 7** muestra la variación en la sorción de biomoléculas para los tres polímeros de diferente tamaño que se crearon.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE REALIZACIONES ILUSTRATIVAS

5 Según se requiere, en la presente se divulgan realizaciones detalladas de la presente invención; debe entenderse que las realizaciones divulgadas son meramente ejemplares de la invención que puede realizarse de varias formas.

Ejemplo 1: enfoque sintético general

10 En la búsqueda de perlas con flotabilidad neutra, las primeras pruebas revelaron que las perlas porosas y sólidas de polímeros a base de divinilbenceno, flotaban en glóbulos rojos concentrados. Los glóbulos rojos (solos) tienen una densidad de 1,125 g/ml, mientras que algunos de nuestros polímeros porosos de divinilbenceno tienen densidades esqueléticas de 1,082 g/ml. En la práctica, las bolsas de glóbulos rojos concentrados contienen más que las células solas, incluyendo sustancias como conservantes (por ejemplo, SAG) y plasma residual que pueden hacer
15 que la densidad de los glóbulos rojos concentrados varíe de una bolsa a otra. El plasma tiene una densidad de 1,025 g/ml. Durante nuestros estudios descubrimos valores de hematocrito entre el 40% y el 60%. Curiosamente, el poli 4-cloroestireno tiene una densidad de 1,55 g/ml. Por lo tanto, se previó que a proporciones específicas, la copolimerización de divinilbenceno y 4-cloroestireno produciría un intervalo de perla con flotabilidad neutra en glóbulos rojos concentrados. Se hicieron reaccionar cantidades crecientes de 4-cloroestireno con divinilbenceno comercial al 63% como se muestra en la **Figura 1** para producir un polímero de tipo de poro medio con densidades variables. La densidad estructural aumentó según lo previsto (medido por un picnómetro de helio). En la **Figura 1**, las flechas hacia abajo (↓) representan una perla que se hunde, la flecha hacia arriba (↑) una perla que flota y N es una perla con flotabilidad neutra. El divinilbenceno comercial al 63% produjo una perla con flotabilidad neutra a ~1,13 g/ml de densidad esquelética. La **Figura 1** también incorpora divinilbenceno comercial al 80% en una secuencia de densidad esquelética decreciente para producir una perla con flotabilidad neutra. Como se muestra en la **Figura 3**, esta secuencia dio como resultado volúmenes de poros mayores, en comparación con el divinilbenceno comercial al 63%, y se desarrolló aún más. Se sintetizaron dos tipos de polímeros con flotabilidad neutra adicionales que se dirigen a diferentes intervalos de poros usando divinilbenceno al 80% mediante la misma metodología. Los ejemplos 2, 3 y 4 son los tres tipos de polímeros con flotabilidad neutra desarrollados. En la **Figura 2** se muestran ejemplos típicos de cómo se distribuyen las perlas con flotación neutra en los glóbulos rojos concentrados.

Usando estas técnicas, un experto en la técnica puede crear perlas con una densidad uniforme o una mezcla de perlas que varían en densidad, permitiendo que algunas o todas las perlas tengan una flotabilidad neutra y se dispersen a lo largo o en una banda dentro de los productos sanguíneos (por ejemplo, glóbulos rojos concentrados, plaquetas, etc.) en glóbulos rojos concentrados de densidades variables. La flotabilidad neutra, o la isodensidad, o la flotabilidad casi neutra permite que las perlas se dispersen por toda la sangre o el producto sanguíneo con menos perlas que se depositan en el fondo de la sangre o que flotan en la superficie de la sangre. Esto se pretende que permita que las perlas eliminen eficientemente las BAM sin necesidad de agitar o mezclar el recipiente de sangre. En algunas realizaciones, una mezcla de perlas que varían en densidad aparente a través de la modificación del volumen de poro, densidad de poro o una combinación de los mismos puede proporcionar una dispersión o bandas de perlas a lo largo de la bolsa.

Ejemplos 2-4: Síntesis del sorbente

45 Tres sorbentes poliméricos porosos se caracterizan por sus estructuras de poro y sus síntesis se describen en los ejemplos 2, 3 y 4. La caracterización estructural se da en los Ejemplos 5, 6 y 7. Los polímeros sintetizados en estos pasos se colocarían luego en un recipiente de sangre adecuado.

50 El proceso de síntesis consiste en (1) preparar la fase acuosa, (2) preparar la fase orgánica, (3) llevar a cabo la polimerización en suspensión, (4) purificar el producto adsorbente polimérico poroso resultante (elaboración), y (5) la adición de un recubrimiento hemo-compatible.

Configuración del reactor. Se equipó un reactor de caldera de 0,5 l con un agitador superior con una pala agitadora multinivel, un condensador enfriado por agua, un termopar y un burbujeador. Se instaló una junta entre la tapa superior y la caldera inferior. Todos los puertos no utilizados se taparon con el tapón apropiado. La temperatura se controló con un manto calefactor que estaba regulado por un controlador de temperatura equipado con el termopar mencionado anteriormente.

60 **Polimerización.** Se dispersó alcohol polivinílico ("PVA") en la mitad de la carga de agua a temperatura ambiente (RT) y luego se calentó a 70° C. Las sales restantes: MSP, DSP, TSP y nitrito de sodio (ver Tabla 1) se disolvieron en el resto de la carga de agua. La solución de PVA y la solución de sales se añadieron cada una al reactor y se calentaron a la temperatura de reacción deseada (ver la Tabla 1) con agitación. La fase orgánica premezclada, incluyendo el iniciador, se vertió en el reactor sobre la fase acuosa con la velocidad de agitación establecida a las revoluciones por minuto ("rpm") para la formación de las gotículas apropiadas. Una vez que la temperatura alcanzó el punto establecido, el temporizador de reacción se configuró a 16 horas y comenzó y se dejó
65

proceder a la reacción.

Elaboración. Se marcó el nivel final de solvente en el reactor. Después de enfriarse, el solvente se extrajo por sifón hasta al nivel de las perlas. El reactor se llenó hasta la marca con agua (RT) y se calentó entre 50° C y 70° C y se agitó durante 30 minutos. Luego se dejó reposar durante 3 a 5 minutos y el líquido se extrajo por sifón hasta el nivel de las perlas. Las perlas se lavaron cinco veces de esta manera. El reactor se llenó luego hasta la marca con metanol RT, si procede (verla Tabla 1), y se agitó a RT durante 5 minutos. Las perlas se dejaron reposar durante de 3 a 5 minutos. Las perlas se lavaron 3 veces de esta manera. El polímero se retiró con vapor durante 8 horas. Después de que se hubo completado la retirada con vapor, el polímero se volvió a humedecer en alcohol isopropílico y luego se tamizó con agua purificada hasta el tamaño de partícula deseado. El polímero se secó luego en un horno a 100° C.

Este proceso dio como resultado un adsorbente limpio y seco en forma de perlas de polímero esféricas y porosas.

El polímero podría modificarse para una mayor hemocompatibilidad mediante el procedimiento de la Patente de Estados Unidos N° 6.114.466.

Tabla 1. Iones de condición de síntesis para polímeros con flotabilidad neutra

	Ejemplo 2 SFA-102-155	Ejemplo 3 RJR-100-112	Ejemplo 4 RJR-100-110
Condiciones de Ejecución			
Tamaño de Caldera	0.5	0.5	0.5
Temperatura de Reacción (° C)	80	87	87
Cargas de Fase Acuosa			
Artículo	Carga, g	Carga, g	Carga, g
Agua Ultrapura	231.26	231.26	231.26
Alcohol Polivinílico (PVA)	0.68	0.68	0.68
Fosfato Monosódico (MSP)	0.71	0.71	0.71
Fosfato Disódico (DSP)	2.36	2.36	2.36
Fosfato Trisódico (TSP)	1.47	1.47	1.47
Nitrito de Sodio	0.01	0.01	0.01
Total	236.49	236.49	236.49
Cargas de Fase Orgánica			
Artículo	Carga, g	Carga, g	Carga, g
Divinilbenceno (DVB)(80%)	66.4	64.97	101.57
4-Cloroestireno	23.1	23.1	35.81
Tolueno	55.78	0.00	0.00
Isooctano	64.07	0.00	0.00
Ciclohexanol	0.00	150.03	102.93
Peróxido de Bencoilo (BPO)(97%)	0.90	0.90	0.90
Total, sin BPO	209.35	239.10	240.31
Elaboración			
Lavados con Metanol	N/A	3	3

Ejemplo 5: Caracterización de la estructura de poro

Las estructuras de poro de los polímeros sorbentes se analizaron con tanto un penetrómetro de mercurio

Micromeritics AutoPore IV 9500 V1.09 (instrumento de intrusión de Hg) o un instrumento Micromeritics ASAP 2010 (desorción de N₂) para mostrar la existencia de poros grandes y poros pequeños. Los resultados se proporcionan en las **Figuras 4 y 5** donde el volumen de poros se representa gráficamente en función del diámetro de poro. La estructura de poro variable permite que los polímeros sorban una variedad de diferentes subproductos dañinos en la sangre, como se muestra en la **Figura 7**.

Ejemplos 6 y 7: Caracterización de la densidad

Para cada polímero elaborado, se determinó la densidad usando dos técnicas diferentes. La primera técnica usada fue la picnometría de helio. Se usó un Micromeritics AccuPyc 1330 para muestras de 1 cm³, para determinar la densidad esquelética (densidad de la estructura principal del polímero) de cada polímero.

También se necesitaba una segunda técnica porque la flotabilidad neutra se define por el principio de Arquímedes donde un objeto es impulsado por una fuerza igual al peso del líquido desplazado por el objeto. En el caso de una perla de polímero poroso, esto representa una situación única en la que la densidad compuesta de la perla porosa es una función de la densidad esquelética y del medio ocupado en los poros de la perla.

La relación puede expresarse como sigue en la ecuación 1:

Ecuación 1: $\rho_{\text{perla aparente}} = (\% \text{ Volumen no poroso}) \cdot \rho_{\text{esquelética}} + (\% \text{ de volumen poroso}) \cdot \rho_{\text{medios de suspensión}}$

En el caso de un polímero poroso con flotabilidad neutra:

Ecuación 2: $\rho_{\text{perla aparente}} = \rho_{\text{medio de suspensión}}$ (se supone que no hay sorción apreciable de solutos)

La segunda técnica, que determinó la densidad aparente, fue una simple prueba de laboratorio en la que se colocó el polímero en sangre para que se pudiera determinar visualmente la flotabilidad neutra. La **Figura 2**, que es el resultado final de esta segunda técnica, muestra que las perlas están suspendidas en el medio de la muestra de sangre, por lo que se determina que tienen flotabilidad neutra. Los polímeros RJR 100-110, SFA 102-155 y RJR 100-112 tenían todos flotabilidad neutra en los RBC concentrados; por lo tanto, la densidad aparente era casi equivalente a los RBC concentrados. Cabe señalar que los aumentos en el volumen de poros requirieron aumentos en la densidad esquelética para compensar la reducción potencial en la densidad aparente debido a conservantes de menor densidad (SAG por ejemplo) y al plasma que se introduce en los poros. Esto se demuestra en la **Figura 6**.

Ejemplo 8: Sorción de biomoléculas

Se ejecutaron isotermas de equilibrio no competitivas en RJR 100-110, SFA 102-155 y RJR 100-112 en solución tampón para evaluar la capacidad de sorción para el citocromo c (Cyt C, 12 kDa), albúmina de suero humano (HSA), 67 kDa) e inmunoglobulina G (IgG, 150 kDa). Cyt C, HSA e IgG están actuando como sustitutos de peso molecular para las moléculas biológicamente activas (BAM). Cada uno se probó individualmente y todos los valores se midieron por absorbancia UV/Vis y se informaron como mg de proteína sorbida/g de polímero seco.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para tratar la sangre y los productos sanguíneos almacenados que maximiza la vida útil y/o minimiza una complicación relacionada con la transfusión mediante la eliminación de moléculas no deseables en la sangre y los productos sanguíneos por medio del uso de un sorbente, en donde el sorbente tiene una densidad esquelética en el intervalo de 1,1 g/ml a 1,3 g/ml, y en donde el sorbente es un copolímero biocompatible de divinilbenceno y 4-cloroestireno.
- 10 2. El método de la reivindicación 1, en el que:
- 15 a) dicha complicación relacionada con la transfusión es una reacción a la transfusión no hemolítica; o
b) dicha complicación relacionada con la transfusión es una reacción a la transfusión no hemolítica seleccionada de fiebre, lesión pulmonar aguda relacionada con la transfusión (TRALI), disnea asociada a la transfusión (TAD) y una reacción alérgica.
- 20 3. Los métodos de la reivindicación 1 o 2, en donde:
- 25 a) dichas moléculas no deseables son moléculas biológicamente activas (BAM), modificadores de la respuesta biológica (BRM), productos de hemólisis, productos de la degradación de la membrana o celular, toxinas, fármacos, anticuerpos, priones y moléculas similares que se encuentran en la sangre y los productos sanguíneos almacenados; o
b) dichas moléculas no deseables son moléculas biológicamente activas o modificadores de la respuesta biológica y se eliminan de dicha sangre o productos sanguíneos; o
c) dichas moléculas no deseables son moléculas biológicamente activas o modificadores de la respuesta biológica seleccionados de mediadores y estimuladores inflamatorios y se eliminan de dicha sangre o productos sanguíneos; o
d) dichas moléculas no deseables son moléculas biológicamente activas o modificadores de la respuesta biológica seleccionados de mediadores inflamatorios y estimuladores seleccionados de citoquinas, óxido nítrico, tromboxanos, leucotrienos, factor activador plaquetario, prostaglandinas, glicoproteínas, cininas, cininógenos, factores del complemento, moléculas de adhesión celular, superantígenos, monocinas, quimiocinas, interferones, radicales libres, proteasas, metabolitos del ácido araquidónico, prostaciclina, beta endorfinas, factores depresores del miocardio, anandimida, 2-aracadonilglicerol, tetrahidrobiopterina, serotonina, histamina, bradiquinina, ligando de CD40 soluble, lípidos bioactivos, hemoglobina, partículas de glóbulos rojos, componentes de la membrana o celulares, factores de crecimiento, glicoproteínas, priones, toxinas, endotoxinas, fármacos, sustancias vasoactivas, antígenos extraños y anticuerpos, y se eliminan de dicha sangre o productos sanguíneos.
- 30 4. El método de la reivindicación 2 donde las moléculas no deseables son anticuerpos.
- 35 5. El método de la reivindicación 1, en el que dicho polímero es hemocompatible.
- 40 6. El método de la reivindicación 1 o 5,
- 45 a) en el que dicho polímero biocompatible o hemocompatible comprende partículas que tienen un diámetro en el intervalo de 0,1 micrómetros a 2 centímetros; o
b) en el que dicho polímero biocompatible o hemocompatible comprende partículas que tienen un diámetro en el intervalo de 0,1 micrómetros a 2 centímetros y en el que dicho polímero biocompatible se suministra como una lechada, suspensión, polvo seco u otro particulado seco que puede humedecerse; o
c) en el que dicho polímero comprende partículas que tienen un diámetro en el intervalo de 0,1 micrómetros a 2 centímetros, es poroso y tiene una estructura de poro tal que el volumen total de poros del tamaño de poro en el intervalo de 50 Å a 40.000 Å es mayor de 0,5 cc/g a 5,0 cc/g de polímero seco.
- 50 7. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6,
- 55 a) en donde el sorbente tiene una estructura de poro de tal manera que el volumen total de poros del tamaño de poro en el intervalo de 50 Å a 40.000 Å es mayor de 0,5 cc/g a 5,0 cc/g de sorbente seco; en donde la proporción del volumen de poro entre 50 Å y 40.000 Å (diámetro de poro) al volumen de poro entre 100 Å y 1.000 Å (diámetro de poro) del sorbente es menor que 3:1; o
b) en donde el sorbente tiene una estructura de poro tal que el volumen total de poros del tamaño de poro en el intervalo de 50 Å a 40.000 Å es mayor de 0,5 cc/g a 5,0 cc/g de sorbente seco; en donde la proporción de volumen de poro entre 50 Å y 40.000 Å (diámetro de poro) al volumen de poro entre 100 Å y 1.000 Å (diámetro de poro) del sorbente es menor que 3:1, y en donde la molécula no deseable es una toxina que tiene un peso molecular que es igual o menor a 50.000 Daltons; o
c) en donde el sorbente tiene una estructura de poro tal que el volumen total de poros del tamaño de poro en el intervalo de 50 Å a 40.000 Å es mayor de 0,5 cc/g a 5,0 cc/g de sorbente seco; en donde la proporción de

- volumen de poro entre 50Å y 40.000Å (diámetro de poro) al volumen de poro entre 1.000Å a 10.000Å (diámetro de poro) del sorbente es menor que 2:1; o
- 5 d) en donde el sorbente tiene una estructura de poro tal que el volumen total de poros del tamaño de poro en el intervalo de 50 Å a 40.000 Å es mayor de 0,5 cc/g a 5,0 cc/g de sorbente seco; en donde la proporción de volumen de poro entre 50Å y 40.000Å (diámetro de poro) al volumen de poro entre 1.000Å y 10.000Å (diámetro de poro) del sorbente es menor que 2:1, y en donde la molécula no deseable es una toxina que tiene un peso molecular en el intervalo de 100 Daltons a 450.000 Daltons; o
- 10 e) en donde el sorbente tiene una estructura de poro tal que el volumen total de poros del tamaño de poro en el intervalo de 50 Å a 40.000 Å es mayor de 0,5 cc/g a 5,0 cc/g de sorbente seco; en donde la proporción de volumen de poro entre 50Å y 40.000Å (diámetro de poro) al volumen de poro entre 10.000Å y 40.000Å (diámetro de poro) del sorbente es menor que 3:1; o
- 15 f) en donde el sorbente tiene una estructura de poro tal que el volumen total de poros del tamaño de poro en el intervalo de 50 Å a 40.000 Å es mayor de 0,5 cc/g a 5,0 cc/g de sorbente seco; en donde la proporción de volumen de poro entre 50Å y 40.000Å (diámetro de poro) al volumen de poro entre 10.000Å y 40.000Å (diámetro de poro) del sorbente es menor que 3:1, y en donde la molécula no deseable es una toxina que tiene un peso molecular que es igual o menor a 1.000.000 de Daltons.
8. El método de la reivindicación 1, en el que dicho sorbente se produce usando por lo menos uno de suspensión, sembrado, dispersión, precipitación, multietapa, emulsificación de membrana/microcanal y polimerizaciones microfluídicas.
- 20 9. El método de la reivindicación 1, en el que dicho divinilbenceno se selecciona de divinilbenceno al 63% y divinilbenceno al 80%.
- 25 10. El método de la reivindicación 1, en el que el uso de un solvente orgánico y/o un porógeno polimérico como el porógeno o formador de poros, y la separación de fases resultante inducida durante la polimerización produce polímeros porosos.
- 30 11. El método de la reivindicación 1, en el que dicho sorbente comprende una superficie hemocompatible que comprende hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, poli(metacrilato de hidroxietilo), poli(acrilato de hidroxietilo), poli(metacrilato de hidroxipropilo), poli(acrilato de hidroxipropilo), poli(metacrilato de dimetilaminoetilo), poli(acrilato de dimetilaminoetilo) poli(metacrilato de dimetilaminoetilo), poli(acrilato de dietilaminoetilo), poli(alcohol vinílico), poli(N-vinilpirrolidina), sales de poli(ácido metacrílico), sales de poli(ácido acrílico) o copolímeros de mezclas de los mismos, en donde dicha superficie hemocompatible está unida químicamente al material polimérico reticulado.
- 35 12. El método de la reivindicación 1 o 5, en el que dicho polímero se modifica con ligandos que se unen específica o no específicamente a biomoléculas reactivas.
- 40 13. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-12,
- a) en el que dicho sorbente está contenido en un recipiente de sangre con dicha sangre o productos sanguíneos; o
- b) en donde dicho sorbente está contenido en un cartucho que puede usarse en el momento de la recolección a medida que la sangre se coloca en la bolsa para su almacenamiento o en el punto de uso durante la transfusión; o
- 45 c) en el que dicho sorbente está en un recipiente adecuado para contener sangre y en contacto directo con sangre y productos sanguíneos pero es incapaz de escapar del recipiente; o
- d) en el que dicho sorbente está en un recipiente adecuado para contener sangre y separado de la sangre por una membrana o barrera permeable que permite que el fluido, pero no las células, interactúe con el polímero; o
- 50 e) en el que dicho sorbente es estructuralmente una parte integral del material del recipiente dispersado homogéneamente a través de las paredes del recipiente, o sellado discretamente en múltiples áreas del recipiente proporcionando zonas de contacto directo con la sangre o los productos sanguíneos, o recubierto, depositado o unido a las paredes interiores del recipiente en contacto directo con la sangre o los productos
- 55 sanguíneos.
14. El método de la reivindicación 1, en el que el sorbente tiene una densidad esquelética que es sustancialmente la misma que la densidad de la sangre o del producto sanguíneo.
- 60 15. Una perla polimérica sorbente para sorber impurezas de la sangre que comprende la composición definida en cualquiera de las reivindicaciones 6 y 7.
- 65 16. La perla polimérica sorbente de la reivindicación 15, en la que el sorbente tiene una densidad esquelética que es sustancialmente la misma que la densidad de la sangre o del producto sanguíneo.

17. El método de la reivindicación 8, en donde dicho método de polimerización de semillas que incluye sembrado de polímeros utiliza una combinación de monómeros 100% heteroátomos y monómeros no heteroátomos.

5 18. El método de la reivindicación 14 donde dichos polímeros de semilla están compuestos por una mezcla de monómero heteroátomo y monómero no heteroátomo.

10 19. El método de la reivindicación 14, en el que dichas perlas se colocan en un recipiente donde, debido a una densidad similar a los productos sanguíneos, dicha perla permanece dispersa naturalmente por la sangre o el producto sanguíneo, permitiendo que las moléculas no deseables en la sangre sean sorbidas por las perlas sin la necesidad de mezclar o agitar el recipiente.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65



FIG. 1

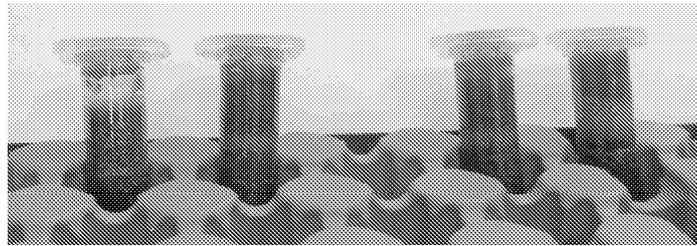
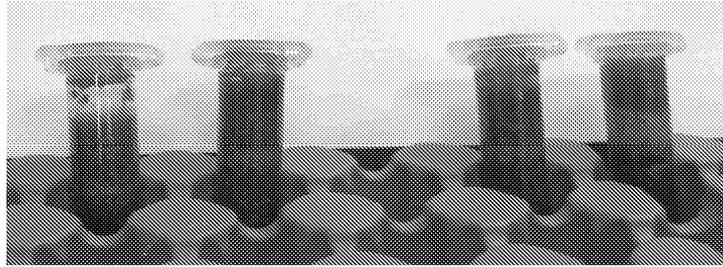


FIG. 2

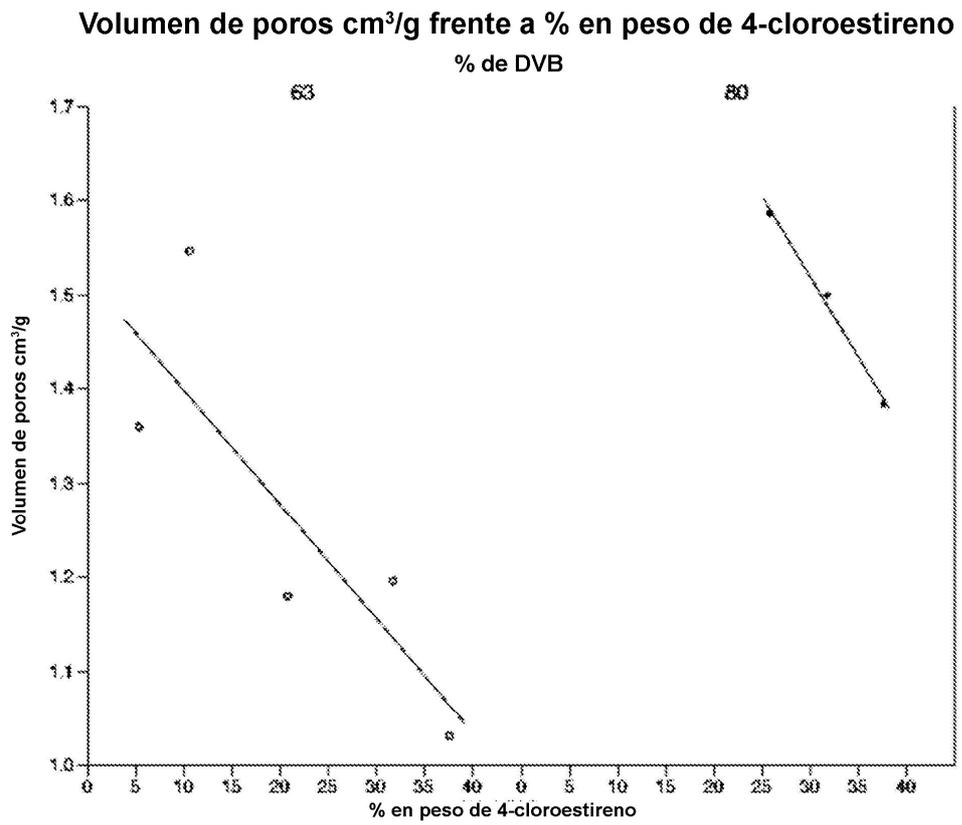


FIG. 3

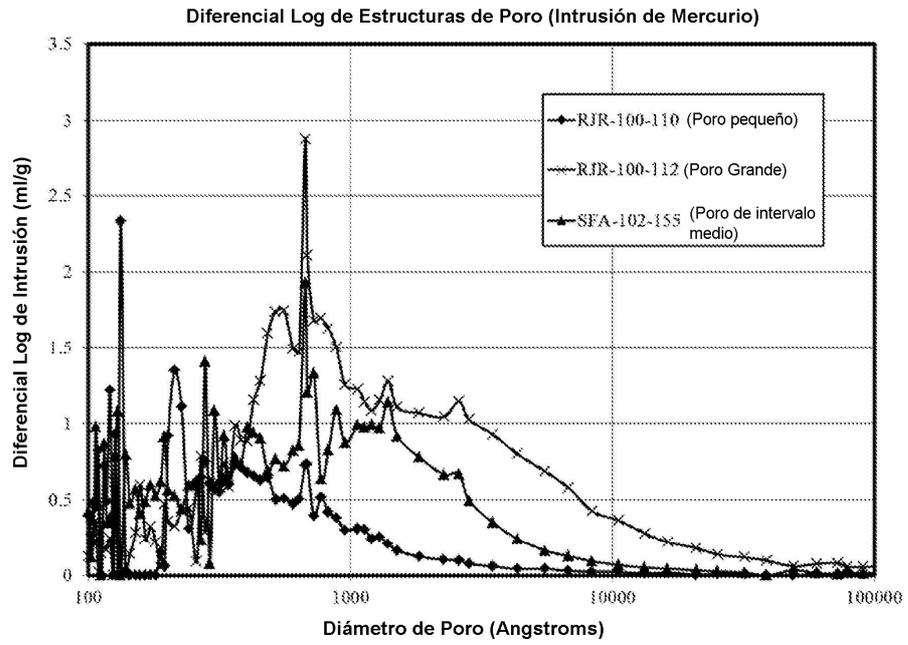


FIG. 4

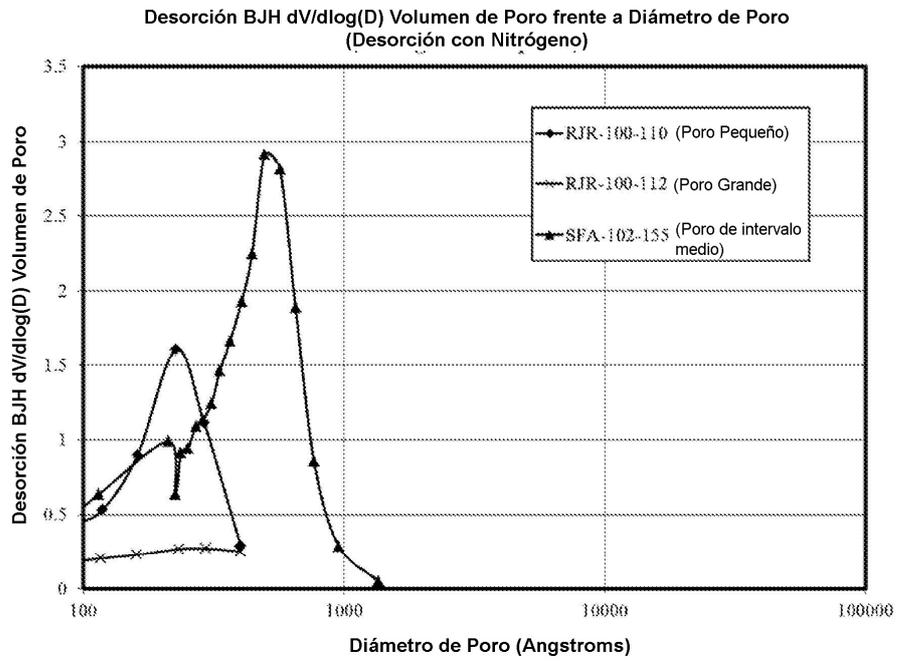


FIG. 5

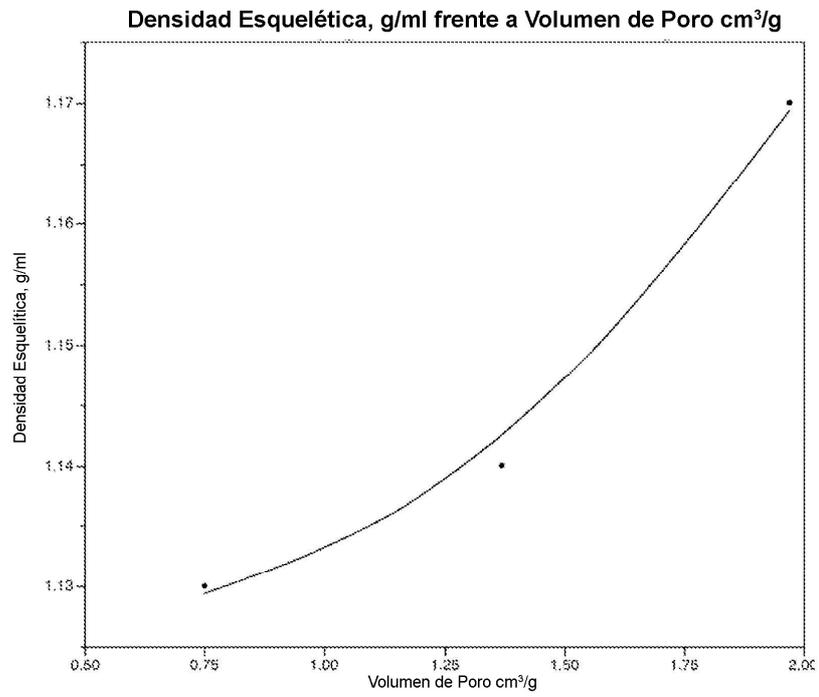


FIG. 6

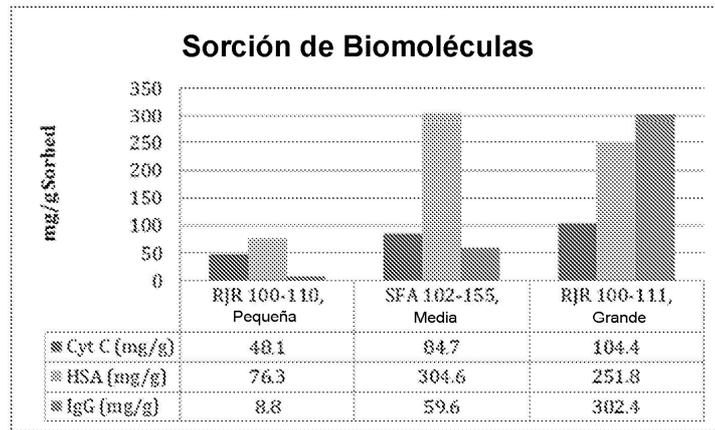


FIG. 7