

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 819 189**

51 Int. Cl.:

B29L 31/00	(2006.01) D01F 6/62	(2006.01)
B29C 71/00	(2006.01) B29K 67/00	(2006.01)
D01F 6/84	(2006.01) A61F 2/00	(2006.01)
A61L 27/18	(2006.01) B29C 48/05	(2009.01)
A61L 27/48	(2006.01) B29C 48/00	(2009.01)
D02G 3/02	(2006.01)	
D01D 5/088	(2006.01)	
D01D 5/098	(2006.01)	
A61L 31/06	(2006.01)	
D01D 5/16	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.04.2004 E 14185659 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.07.2020 EP 2860292**

54 Título: **Tejidos y fibras médicos de polihidroxicanoato**

30 Prioridad:

08.05.2003 US 469469 P
02.01.2004 US 534065 P
19.02.2004 US 545771 P
16.04.2004 US 563096 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.04.2021

73 Titular/es:

TEPHA, INC. (100.0%)
99 Hayden Avenue, Suite 360
Lexington MA 02421, US

72 Inventor/es:

MARTIN, DAVID P;
RIZK, SAID;
AHUJA, AJAY y
WILLIAMS, SIMON F

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 819 189 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

Tejidos y fibras médicos de polihidroxialcanoato

5 **Antecedentes de la invención**

La presente invención se refiere, en general, a dispositivos médicos basados en tejidos y fibras derivados de poli-4-hidroxi-butilato y sus copolímeros.

10 El poli-4-hidroxi-butilato (disponible en Tepha, Inc., Cambridge, MA como PHA4400) es un termoplástico flexible y fuerte que se produce mediante un proceso de fermentación (véase la Patente de Estados Unidos N° 6.548.569 de Williams et al.). A pesar de su ruta biosintética, la estructura del poliéster es relativamente sencilla (Figura 1). El polímero pertenece a una clase más grande de materiales denominados polihidroxialcanoatos (PHA) que se producen por numerosos microorganismos Steinbüchel, A. Polyhydroxyalkanoic acids, *Biomaterials*, 123-213 (1991);
 15 Steinbüchel A., et al. Diversity of Bacterial Polyhydroxyalkanoic Acids, *FEMS Microbiol. Lett.* 128:219-228 (1995); y Doi, Y. *Microbial Polyesters* (1990). En la naturaleza estos poliésteres se producen como gránulos de almacenamiento dentro de las células y sirven para regular el metabolismo de la energía. También son de interés comercial debido a sus propiedades termoplásticas y relativa facilidad de producción. Actualmente se conocen diversas rutas biosintéticas para producir poli-4-hidroxi-butilato, como se muestra en la Figura 2. La síntesis química
 20 de poli-4-hidroxi-butilato se ha intentado, pero ha sido imposible producir el polímero con un peso molecular suficientemente alto necesario para la mayoría de aplicaciones Hori, Y., et al. *Chemical Synthesis of High Molecular Weight poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate)*, *Polymer* 36: 4703-4705 (1995).

Tepha, Inc. (Cambridge, MA) produce PHA4400 y copolímeros relacionados para uso médico y ha presentado un
 25 Archivo Maestro de Dispositivo con la Administración de Fármacos y Alimentos de Estados Unidos (FDA) para PHA4400. Los copolímeros relacionados incluyen poli-4-hidroxi-butilato copolimerizado con 3-hidroxi-butilato o ácido glicólico (U.S.S.N. 60/379,583 de Martin y Skraly, Patente de Estados Unidos N° 6.316.262 de Huisman et al., y Patente de Estados Unidos N° 6.323.010 de Skraly et al.). Tepha también ha presentado un Archivo Maestro de Dispositivo con la FDA de Estados Unidos para copolímeros que contienen 3-hidroxi-butilato y 4-hidroxi-butilato. Los
 30 métodos para controlar el peso molecular de los polímeros de PHA se ha desvelado en la Patente de Estados Unidos N° 5.811.272 de Snell et al., y los métodos para purificar polímeros de PHA para uso médico se han desvelado en la Patente de Estados Unidos N° 6.245.537 de Williams et al. Los PHA con tasas de degradación *in vivo* de menos de un año se han desvelado en la Patente de Estados Unidos N° 6.548.569 de Williams et al. y PCT WO 99/32536 de Martin et al. El uso de PHA como estructuras de andamiaje modificadas técnicamente de tejidos
 35 también se ha desvelado en la Patente de Estados Unidos N° 6.514.515 de Williams y otras aplicaciones de los PHA se han revisado en Williams, S. F., et al. *Applications of PHAs in Medicine and Pharmacy*, in *Biopolymers, Polyesters*, III Vol. 4: 91-127 (2002).

40 En la práctica de la cirugía existe actualmente una necesidad de fibras absorbibles y mallas quirúrgicas con rendimiento mejorado. Por ejemplo, hay actualmente necesidad de una fibra monofilamentosa absorbible con una retención de resistencia prolongada que puede usarse como un material de sutura. Tal producto sería potencialmente útil en el tratamiento de pacientes con diabetes, obesidad, deficiencias nutricionales, sistemas inmunes comprometidos u otras afecciones tales como cánceres o infección que comprometan la curación de
 45 heridas.

Existe también una necesidad de mallas quirúrgicas mejoradas. Por ejemplo, una malla para hernia absorbible con una retención de resistencia prolongada podría tener muchas ventajas sobre las mallas sintéticas no absorbibles usadas actualmente en operaciones de hernia (Klinge, U., et al., *Functional Assessment and Tissue Response of Short- and Long-term Absorbable Surgical Meshes*, *Biomaterials* 22: 1415-1424 (2001)). Los implantes a largo plazo de estas mallas no absorbibles no se consideran ideales por que puede conducir a complicaciones tales como adherencias (formación de fístula), dolor y restricción de las capacidades físicas (Klinge et al., 2001). Si se implanta en sitios quirúrgicos que están contaminados o que tienen el potencial de contaminarse, será necesario retirar un 50-90 % de estos implantes no absorbibles (Dayton et al. 1986). Estos implantes tampoco son ideales para su uso en pacientes pediátricos donde podrían impedir el crecimiento (Klinge et al., 2001). Hasta la fecha, se ha encontrado
 50 que el uso de mallas quirúrgicas sintéticas absorbibles en reparación de hernia da como resultado casi invariablemente grandes hernias incisionales que requieren operaciones de revisión debido a la retención de resistencia relativamente corta de estos materiales (Klinge et al., 2001). Sin embargo, se cree que una malla para hernia absorbible con una retención de resistencia prolongada podría resolver este problema, proporcionando un cierre mecánicamente estable, reduciría la frecuencia de adherencias y riesgos de infección, y sería adecuada para su uso en pacientes pediátricos.
 60

Además de la necesidad de mallas mejoradas para reparación de hernia, también existe la necesidad de mallas y parches mejorados para otros procedimientos. En la reparación pericárdica existe una necesidad de un material quirúrgico que evitará las adherencias entre el esternón y el corazón después de la cirugía a corazón abierto. Hay
 65 también necesidades similares para evitar las adherencias en procedimientos espinales y ginecológicos que podrían abordarse con mallas y parches quirúrgicos mejorados.

Los parches de biomaterial derivados de tejido animal y humano actualmente se usan ampliamente en cirugía cosmética, cirugía cardiovascular, cirugía general (incluyendo reparación de hernias) y en procedimientos urológicos y ginecológicos para el tratamiento de afecciones que incluyen prolapso vaginal e incontinencia urinaria. Sin embargo, se informa que hay una preocupación creciente sobre el uso de biomateriales derivados de animales y seres humanos debido a los riesgos asociados con la transmisión de enfermedades. Las mallas y parches absorbibles sintéticos que pueden ofrecer mayores riesgos de transmisión de enfermedad están actualmente limitados, pueden ser inflamatorios y no proporcionan una retención de resistencia prolongada. De esta manera, actualmente existe una necesidad de desarrollar nuevas mallas absorbibles para estos procedimientos también. Idealmente, estos productos deberían tener una retención de resistencia prolongada, inducir una respuesta inflamatoria mínima que resuelva y proporcione un refuerzo o cierre mecánicamente estable, ofrezcan propiedades anti-adhesión (cuando sea necesario), y minimicen los riesgos de transmisión de enfermedades después de la absorción de fibras en una estructura de tejido natural sano.

Hay necesidad también de desarrollar fibras absorbibles con una retención de resistencia prolongada que podrían usarse como materiales de sutura o en mallas quirúrgicas. Estas últimas, al ofrecer estabilidad mecánica a largo plazo, podría usarse también en otros procedimientos tales como reconstrucción del suelo pélvico, reparación pericárdica, parches cardiovasculares, soporte cardíaco (como un calcetín que se ajusta sobre el corazón para proporcionar refuerzo), rescate de órganos, elevación del intestino delgado durante la radiación del colon en pacientes con cáncer colorrectal, dispositivos de retención para injertos óseos o de cartílago, regeneración guiada de tejidos, injerto vascular, sustitución dural, reparación guiada de nervios, así como procedimientos que necesitan membranas anti-adhesión y estructuras de andamiaje de tejidos modificados técnicamente. Las fibras absorbibles fuertes podrían encontrar también otros usos, por ejemplo en el ligamento sintético y dispositivos o estructuras de andamiaje para tendón. Otros usos incluyen combinaciones con otras fibras sintéticas y naturales, mallas y parches. Por ejemplo, las fibras y dispositivos absorbibles tales como mallas y tubos derivados de fibras podrían combinarse con un tejido autólogo, tejido alogénico y/o tejidos génicos para proporcionar refuerzo, endurecimiento y/o rigidización del tejido. Tales combinaciones podrían facilitar el implante de los tejidos autólogos, alogénicos y/o xenogénicos así como proporcionar propiedades mecánicas y biológicas mejoradas. Podrían usarse dispositivos combinados, por ejemplo, en reparación de hernias, mastopexia/reconstrucción de mama, reparación del manguito de los rotadores, injerto vascular/fístulas, colgajos de tejido, parches pericárdicos, implantes de tejido en válvula cardíaca, interposición del intestino y parchado de la duramadre.

Por lo tanto, es un objetivo de la presente invención proporcionar fibras absorbibles, mallas quirúrgicas y dispositivos médicos con una o más de las siguientes características: retención *in vivo* de resistencia prolongada, propiedades anti-adhesión, reacción inflamatoria mínima tras el implante, riesgo mínimo a la transmisión de enfermedades o a potenciar la infección, remodelado *in vivo* a un tejido natural sano.

También se desvelan métodos para fabricar los artículos y dispositivos con retención de resistencia prolongada.

También es otro objetivo más de la presente invención proporcionar fibras multifilamento absorbibles y métodos para fabricar estos filamentos en mallas quirúrgicas.

Aún más, otro objetivo de la presente invención es combinar las fibras y mallas con tejidos autólogos, alogénicos y/o xenogénicos para proporcionar propiedades mecánicas, biológicas y de manipulación mejoradas de los tejidos autólogos, alogénicos y/o xenogénicos.

Sumario de la invención

La invención es tal como se define por las reivindicaciones adjuntas.

Se han desarrollado fibras de poliéster absorbibles, trenzas y mallas quirúrgicas con retención de resistencia prolongada. Estos dispositivos se derivan de copolímeros u homopolímeros biocompatibles de 4-hidroxitirato.

Estos dispositivos proporcionan un amplio intervalo de propiedades de retención de resistencia *in vivo* que están actualmente disponibles y ofrecen beneficios adicionales tales como propiedades anti-adhesión, riesgos reducidos de infección u otros problemas postoperatorios resultantes de la absorción y eventual eliminación del dispositivo y coste competitivo. Los dispositivos también son particularmente adecuados para su uso en poblaciones pediátricas donde su absorción no debería impedir el crecimiento, y proporciona en todas las poblaciones de pacientes curación de heridas con estabilidad mecánica a largo plazo. Los dispositivos pueden combinarse adicionalmente con tejidos autólogos, alogénicos y/o xenogénicos para proporcionar implantes con propiedades mecánicas, biológicas y de manipulación mejoradas.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es la estructura química de poli-4-hidroxitirato (P4HB, poli-4-hidroxitirato). La Figura 2 muestra algunas de las rutas biosintéticas conocidas para la producción de P4HB. Las enzimas de la

ruta son: 1. Semialdehído succínico deshidrogenasa, 2. 4-hidroxibutirato deshidrogenasa, 3. diol oxidorreductasa, 4. aldehído deshidrogenasa, 5. Coenzima A transferasa y 6. PHA sintetasa.

La Figura 3 es un gráfico de los datos de retención de resistencia de fibras de PHA4400 (*in vitro* e *in vivo*) comparado con la fibra de control PDS (*in vivo*).

5 La Figura 4 es un gráfico que compara las propiedades de tracción mecánica de PHA4400 y las suturas de monofilamento disponibles en el mercado.

La Figura 5 es un gráfico de la degradación de muestras de PHA4400 (P4HB) *in vivo* comparadas con los controles *in vitro*. El Pm para las suturas de control implantadas (*in vivo*) y tampón (*in vitro*) se representa frente al tiempo.

10 La Figura 6 es un gráfico de la relación de masa y longitud de las suturas de PHA4400 (*in vitro* e *in vivo*) representada como una función del tiempo de degradación.

Descripción detallada de la invención

15 Se han desarrollado fibras y mallas absorbibles con una retención de resistencia prolongada.

I. Definición

20 La retención de resistencia se refiere a la cantidad de tiempo que un material mantiene una propiedad mecánica particular después del implante en un ser humano o animal. Por ejemplo, si la resistencia a la tracción de una fibra absorbible disminuye a la mitad en 3 meses cuando se implanta en un animal, la retención de resistencia de la fibra a los 3 meses sería del 50 %.

25 Biocompatible se refiere a la respuesta biológica al material o dispositivo que es apropiado para la aplicación *in vivo* pretendida del dispositivo. Cualquier metabolito de estos materiales debería ser también biocompatible.

30 Poli-4-hidroxibutirato se refiere a un homopolímero que comprende unidades 4-hidroxibutirato. Puede denominarse P4HB, PHA4400 o biomaterial TephafLEX™ y es fabricado por Tepha Inc., Cambridge, MA. Los copolímeros de poli-4-hidroxibutirato se refieren a cualquier polímero que comprenda 4-hidroxibutirato con una o más unidades de hidroxilácido diferentes.

II. Fuente de poli-4-hidroxibutirato y copolímeros de la misma

35 Tepha, Inc. de Cambridge, MA produce poli-4-hidroxibutirato y copolímeros de la misma usando métodos de fermentación transgénicos.

III. Fibras de poli-4-hidroxibutirato con retención de resistencia prolongada

40 Alrededor de 1984, una división de Johnson and Johnson (Ethicon) introdujo por primer lugar una sutura absorbible sintética de monofilamento conocida como PDS™ fabricada de polidioxanona. Esta sutura retiene aproximadamente 50 % de su resistencia hasta 6 semanas después del implante, y es completamente absorbida en el cuerpo en 6 meses. Davis y Geck, posteriormente introdujeron una sutura de monofilamento basada en un copolímero de glicolida y trimetil carbonato que se comercializa con el nombre comercial de Maxon™. Esta sutura tiene una retención de resistencia similar a PDS™. Se introdujeron otras dos suturas de monofilamento más recientemente.

45 Los copolímeros segmentados basados en Monocryl™ de glicolida y caprolactona y Biosyn™ basado en un terpolímero de glicolida, *p*-dioxanona y carbonato de trimetileno. Se informa que Monocryl™ tiene una resistencia a la rotura del 20-30 % después de 2-3 semanas, y que se absorberá completamente después de 3-4 meses. Biosyn™ tiene un perfil de absorción similar a Monocryl™. A pesar de la innovación continuada en el desarrollo de suturas de monofilamentos sintéticas hay aún una necesidad de una sutura absorbible sintética con una retención de resistencia prolongada para pacientes que requieren soporte para heridas a largo plazo, por ejemplo una sutura de monofilamento con una retención de resistencia del 50 % a los 3-6 meses (después del implante). También hay opciones limitadas para mallas absorbibles sintéticas con una retención de resistencia prolongada.

55 La Patente de Estados Unidos Nº 6.548.569 de Williams et al. desvela que el poli-4-hidroxibutirato tiene una velocidad de absorción más lenta *in vivo* que muchos materiales usados como suturas absorbibles, y proporciona datos de absorción para películas de poli-4-hidroxibutirato no orientado y muestras porosas. Sin embargo, no desvela la retención de resistencia de las fibras de poli-4-hidroxibutirato después del implante.

60 El documento WO 00/056376 se refiere a dispositivos médicos y aplicaciones de polímeros de polihidroxicarbonato. El documento WO 03/064531 se refiere a bioabsorbibles de alta resistencia que contienen ácido poliglicólico. El documento EP 0 894 505 A2 describe una endoprótesis autoexpansible bioabsorbible.

65 Se ha descubierto ahora que las fibras orientadas de PHA4400 y copolímeros de las mismas pueden prepararse con resistencias a la tracción comparables a las fibras de sutura absorbible sintéticas existentes (tales como PDS™), pero tiene una retención de resistencia prolongada *in vivo* de más del 20-30 % a los 3-6 meses. En comparación, una sutura de PDS de control tiene una pequeña resistencia a la tracción restante después de 12-15 semanas.

Se ha descubierto también que las fibras de poli-4-hidroxitirato orientadas pueden usarse para preparar mallas y tubos quirúrgicos con retención de resistencia prolongada. Estas fibras y dispositivos textiles pueden combinarse adicionalmente con tejidos autólogos, alogénicos y/o xenogénicos para conferir propiedades mejoradas a estos tejidos implantables. Las propiedades que pueden mejorarse mediante esta combinación incluyen propiedades mecánicas tales como resistencia a la tracción y módulo, por ejemplo para reforzar los tejidos para hacerlos más fuertes, más rígidos, más duraderos y más fáciles de implantar.

Se dan ejemplos no limitantes en este documento para describir los métodos para preparar las fibras, mallas y dispositivos compuestos con tejidos autólogos, alogénicos y/o xenogénicos y para ilustrar la retención de resistencia de las fibras después del implante.

Ejemplo 1: extrusión en estado fundido de PRA4400 para producir fibras de monofilamento

Se molió PHA4400 (Tepha, Inc., Cambridge, MA) (Pm 575 K) en pequeños trozos usando un molino de corte Fritsch (Pulversette 15, tamiz inferior 10 mm) y se secó al vacío durante una noche antes del procesamiento en estado fundido. Las fibras de monofilamento de PHA4400 se extruyeron en estado fundido usando una extrusora de un solo tornillo de 1,91 cm (3/4") AJA (Alex James Associates, Greer, SC) (L:D 24:1, compresión 3:1) equipada con una bomba dosificadora tipo Zenith (0,16 cc/rev) y un troquel con una hilera de un solo orificio (0,66 mm (0,026"), L:D 2:1). Las 4 zonas de calentamiento de la extrusora se ajustaron a 140°, 190°, 200° y 205 °C. La extrusora incluía una zona de caída de 4,57 m (15 pies), una zona de inactivación con aire de 1,22 m (48") (10 °C), un rodillo de guía, tres bobinadoras y una recogedora. La fibra se orientó en línea con extrusión estirándola en un proceso multietapa para proporcionar una fibra con alta resistencia a la tracción y una extensión reducida a rotura. La fibra se estiró en línea a relaciones de estirado de 6 a 11 X. Un producto acabado de hilado (Goulston, Lurol PT-6A) se disolvió en isopropanol al 10 % vol/vol y se aplicó como un lubricante a la fibra antes de que el primer rodillo actuara y protegió la fibra durante el procesamiento aguas abajo. Se produjeron una serie de fibras de diferentes tamaños variando las condiciones de extrusión (velocidad de la bomba dosificadora) y condiciones de estirado (relación de estirado). Las propiedades mecánicas de tracción de las fibras extraídas en estado fundido se determinaron usando una máquina de ensayo mecánico universal y los resultados se muestran en la Tabla 1. Como es evidente, la resistencia a la tracción de la fibra de PHA4400 orientada es comparable a los 450-560 MPa presentados para la fibra de sutura comercial PDS™, Chu, C.C., et al. Wound Closure Biomaterials and Devices, CRC Press (1997). El peso molecular promedio en peso (Pm) de las fibras se determinó por cromatografía de permeación en gel (GPC) y también se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Propiedades de monofilamento de PHA4400 extruido en estado fundido.

Muestra	Relación de Estirado	Diámetro (mm)	Carga a rotura (g)	Resistencia a la Tracción (MPa)	Alargamiento a Rotura (%)	Pm** (K)
1	5,95	125	533	426	107	338
2	5,95	113	274	268	126	293
3	5,95	82	68	126	34	278
4	5,95	128	389	297	134	302
5	6,00	134	426	296	118	313
6	10,75	120	569	494	32	348
7	10,75	120	446	387	29	356
10*	10,75	217	1304	346	70	395
11*	5,95	190	1291	447	135	396

*Nota: las muestras 10 y 11 se hilaron a través de una hilera más grande (1,14 mm (0,045"), L:D 2:1).
 **Nota: el Pm del polímero de partida era 575 K.

Ejemplo 2: retención de resistencia y biocompatibilidad de fibras de monofilamento de PHA4400.

Se realizó un estudio de implante para determinar la retención de resistencia de fibras de PHA4400 en un modelo de conejo. Se seleccionó la muestra 10 (mostrada en la Tabla 1) para estos estudios por que la fibra tenía un alargamiento a rotura del 70 % y una resistencia a la tracción de 346 MPa (60.000 psi) que es comparable con las suturas absorbibles de monofilamento comerciales. Antes del implante la fibra se esterilizó usando óxido de etileno frío gaseoso (40 °C, presión de óxido de etileno de 13,7 INHGA, humedad de 1,7 INHGA, tiempo de permanencia 4 h y tiempo de aireación 10 h). Se observó una pequeña cantidad de contracción de fibra (2 %) como resultado del proceso de esterilización. Se usó un material de sutura absorbible de monofilamento comercial, PDS™ como un control.

En condiciones estériles, las suturas esterilizadas se colocaron perpendiculares a la línea media dorsal del conejo. Después de realizar una pequeña incisión, se introdujo un hemostato grande a través de la incisión en el tejido subcutáneo y se tuneló aproximadamente 22,86 cm (9 pulgadas) en la hipodermis. Las fibras de sutura de PHA4400 y control (3/0 PDS™) se roscaron individualmente a través de áreas de implante creadas quirúrgicamente separadas

y se dejaron en su sitio. Las incisiones se cerraron con pegamento para tejido. Se implantó un total de cuatro ensayos y cuatro muestras de control en cada conejo. Los animales se mantuvieron durante un periodo de 1, 4, 8, 12, 16 y 26 semanas (2 conejos por punto temporal) y se observaron diariamente para asegurar una curación apropiada de los sitios de implante. Al final de los puntos temporales apropiados, los animales se pesaron y se sometieron a eutanasia mediante barbiturato inyectable. Las secciones de tejido que contenían las suturas implantadas se escindieron de los animales. Se fijaron en formalina una muestra de ensayo y un control, y se retiraron para análisis histológico del tejido circundante a los implantes de sutura. Las tres muestras restantes de cada grupo se limpiaron de tejido, se envolvieron en una gasa empapada en solución salina estéril y se devolvieron en el día del explante para análisis adicional. Las muestras de sutura se limpiaron adicionalmente de tejido residual y se secaron.

En paralelo con el estudio de degradación *in vivo*, se realizó un estudio de degradación *in vitro* para generar datos comparativos. Las fibras de monofilamento de PHA4400 esterilizadas, idénticas a aquellas usadas en el estudio de implante, se incubaron en solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco (pH 7,4, 37 °C) que contenían azida sódica (0,05 %) como un conservante. Se cerraron seis suturas de PHA4400 de control por punto temporal en bolsas de muestra de polietileno estériles y se retiraron al mismo tiempo que cada una de las muestras de implante. Las muestras *in vivo* e *in vitro* se procesaron de forma idéntica.

Retención de resistencia

Las muestras de sutura explantadas se sometieron a un ensayo de tracción de acuerdo con el procedimiento de ASTM D2256-97. Los resultados de este ensayo de tracción se muestran en la Figura 3. Como puede verse, las suturas de control PHA4400 y PDS™ tenían una resistencia a la tracción inicial muy comparables (413,7 MPa (60.000 psi)). Como era de esperar, las suturas de control de PDS™ mantuvieron un 50 % de su resistencia a la tracción inicial, hasta aproximadamente la 6ª semana. En contraste, las suturas de PHA4400 implantadas retenían aproximadamente un 30 % de su resistencia a la tracción en la semana 26. En la Figura 4 se muestran una comparación de las propiedades mecánicas de tracción de PHA4400 y suturas de monofilamento disponibles en el mercado.

A diferencia de la sutura implantada, la sutura de control *in vitro* de PHA4400 mostró una pérdida más gradual de resistencia durante todo el estudio de degradación de 26 semanas, reteniendo el 80 % de su resistencia original. Este resultado demuestra la estabilidad mecánica del material polimérico a la simple hidrólisis.

Peso molecular y pérdida de masa

Además de la retención de resistencia de las fibras de sutura de PHA4400, el Pm de las muestras de PHA4400 se analizó por GPC. Como se muestra en la Figura 5, el Pm de las suturas de PHA4400 implantadas y de control disminuyó gradualmente durante el transcurso del estudio de degradación a aproximadamente un 43 % de su Pm original a las 26 semanas. Adicionalmente, no parece haber una diferencia significativa entre el Pm de las suturas de PHA4400 de control implantadas e *in vitro*. Este resultado muestra que la estabilidad hidrolítica de la muestra implantada es muy similar al control *in vitro*.

Para determinar la pérdida de masa de las muestras con el tiempo, la masa y longitud de las suturas de PHA4400 (*in vitro* e *in vivo*) se determinaron y representaron como una función del tiempo de degradación. La relación de masa a longitud de las muestras de PHA4400 (implantadas y control de tampón) se representa frente al tiempo de degradación y se muestra en la Figura 6. Se determinó la relación masa/longitud en lugar de solo la masa de la muestra, por que esta relación está normaliza para las muestras que se cortaron durante el implante o que se rompieron durante la recogida. Como puede verse en la figura, las suturas implantadas parecen perder masa más rápidamente que los controles *in vitro*. Estos datos muestran que las muestras implantadas perdían masa más rápidamente que las muestras de control *in vitro* y sugiere que está ocurriendo degradación de la superficie *in vivo*.

Reacción de tejidos

El tejido que rodea las suturas de control implantadas de PHA4400 y PDS™ se analizó para la reacción del tejido a los artículos implantados en el punto temporal de 26 semanas. Las muestras de tejido fijadas con formalina (PHA4400 y control de PDS™) de cada animal de ensayo fueron seccionadas y clasificadas por un veterinario certificado para lo siguiente: inflamación, fibrosis, hemorragia, necrosis, degeneración, residuos extraños y tamaño relativo del área implicada.

La evaluación histopatológica indicó que el hallazgo en los sitios de control de PDS™ y PHA4400 eran similares y que no había indicaciones significativas de un efecto tóxico local en cualquiera de los sitios de control o de ensayo.

Ejemplo 3: malla tricotada de fibras de monofilamento de PHA4400 con retención de resistencia prolongada.

Se produjo una malla tricotada de urdimbre de PHA4400 a partir de un monofilamento orientado de 100 µm de diámetro de fibra de PHA4400 producida como se describe en el Ejemplo 1. Un tipo de construcción de urdimbre

5 tricotada es deseable como un implante por que puede ser cortado por el cirujano y no se desenredará fácilmente. La malla se fabricó usando fibra de monofilamento de PHA4400 de 100 μm , resistencia a la tracción 634,3 MPa (92.000 psi) y alargamiento a rotura del 77 %. La construcción del tejido fue la siguiente: tejido Mach N° 30 Raschel Knit, calibre 36, 150 extremos, 16 columnas, 40 puntadas por pulgada usando 18 agujas por pulgada. Las especificaciones para el tejido acabado fueron: peso: 58 g/m² (1,72 onza/yarda cuadrada), Espesor: 0,29 mm.

Ejemplo 4: extrusión de fibras de sutura de un copolímero de glicolato y 4-hidroxibutirato (PHA4422).

10 Se extruyó PHA4422 que contenía un 5 % de comonomero de ácido glicólico (Pm 305.000 por GPC) en estado fundido en una fibra y se convirtió en una sutura de la siguiente manera. El polímero se preparó por molienda del polímero a granel en partículas de un tamaño de aproximadamente 1 mm usando un molino de corte de laboratorio P-15 (Fritsch, Alemania) y se secó en un desecador al vacío. El polímero se extruyó usando una extrusora de un solo tornillo AJA de 1,59 cm (5/8") (Alex James and Associates) con una hilera de un solo orificio (1,02 mm (0,040"), L/D 2:1). La extrusora tenía zonas de temperatura diferente que se ajustaron a 120, 154, 155, 160 y 160 °C desde la entrada hasta la salida, con una bomba de engranajes en la salida. El tiempo de residencia total en la extrusora se estimó en 9 minutos. Después de la extrusión había una zona de caída de 3,05 m (10 pies) a través del aire antes de un baño de agua de inactivación (5 °C). Después del baño de inactivación se usaron tres bobinadoras para recoger la fibra. Una primera bobinadora se ajustó a una velocidad de 2,5 metro por minuto. La longitud del baño era de aproximadamente 0,91-1,22 m (3-4 pies) y el tiempo de residencia para la fibra en el baño se estimó que era aproximadamente 30 segundos. La cristalización de la fibra ocurrió antes de la primera bobinadora. Dos bobinadoras adicionales (17,5 y 19,5 metros/minuto) extendieron la fibra aproximadamente 8 veces (estirado 8X). Se usó una unidad de recogida solo con una ligera tensión. Variar la velocidad de extrusión del polímero mientras se mantenía la orientación descendente y las velocidades de captación produjo fibras similares de diferentes diámetros. Inicialmente, la extrusora se ajustó a una velocidad de bomba de engranajes de 7 y después se ralentizó sucesivamente dando como resultado fibras de aproximadamente 375, 275 y 200 μm de diámetro, véase la Tabla 2.

Se fijaron agujas de sutura a cada una de las fibras de diferente diámetro, y las suturas se envasaron para su esterilización. Se determinó la resistencia a la tracción (lineal y discontinua) para muestras representativas de las suturas, véase la Tabla 2.

30

Tabla 2: Caracterización física de suturas preparadas por extrusión en estado fundido de PHA4422 (comonomero de ácido glicólico al 5 %, Pm 300 K).

Diámetro de fibra (μm)	Tamaño aproximado correspondiente USP	Resistencia a la Tracción por tirón lineal [N (lbf)]	Alargamiento por tirón lineal (%)	Resistencia a la Tracción por tirón discontinuo (lbf)	Alargamiento por tirón discontinuo [cm (pulgadas)]
375 +/-6	0	40,92 +/- 7,12 (9,2 +/- 1,6)	128 +/-33	4,6 +/-0,4	129,5 +/- 10,67 (51 +/- 4,2)
256 +/-2	2/0	23,58 +/- 1,33 (5,3 +/- 0,3)	65 +/-13	3,8 +/-0,8	124,5 +/- 4,20 (49 +/- 18)
199 +/-5	4/0	13,34 +/- 1,33 (3,0 +/- 0,3)	130 +/- 24	1,6 +/-0,3	111,8 +/- 38,10 (44 +/- 15)

Ejemplo 5: fibra de monofilamento con un pico de tensión de tracción mayor de 70 kg/mm².

35

El hilado en estado fundido del polímero poli-4-hidroxibutirato "PHA4400" ha sido extremadamente difícil de conseguir debido a la inestabilidad del flujo en estado fundido y la pegajosidad de la fibra resultante. El fundido que sale del troquel de la hilera presentaba una fluctuación de diámetro periódico y estructura helicoidal. Estas irregularidades de flujo se conocen como fractura en estado fundido o "turbulencia elástica" y se generan mientras el fundido entra y pasa a través del orificio de la hilera. La razón para tales irregularidades de flujo es una viscosidad muy alta del fundido viscoelástico y una función elástica muy alta en el punto de salida del capilar de la hilera.

40

La baja temperatura de transición vítrea de aproximadamente menos 50 °C, y la baja tendencia a cristalizar de este polímero explican la pegajosidad de las fibras. Además de esto, la orientación, que se generó durante el hilado en estado fundido, se relajó después de un tiempo muy corto, de manera que las fibras ofrecían una baja tenacidad para un estirado adicional.

45

Este ejemplo ilustra nuestra capacidad de superar los problemas de procesamiento anteriores y producir una fibra de alta resistencia. El polímero de PHA4400 se secó a menos del 0,01 % de humedad. Los gránulos secados de PHA4400 se alimentaron a un cilindro de la extrusora bajo una capa de nitrógeno. La temperatura de las zonas de del cilindro se mantuvieron a 100 °C alimentación, 150 °C transición y 200 °C dosificación. El polímero fundido pasó a través de un bloque calentado a una bomba de dosificación, después se extruyó desde un troquel con una hilera de un solo orificio. El bloque, la bomba de dosificación y el troquel se mantuvieron a una temperatura de 220 °C. La presión de descarga de la bomba se mantuvo por debajo de 6,90 MPa (81000 psi) mediante el control de las temperaturas y la velocidad de la bomba dosificadora. El filamento extruido hilado estaba libre de todas las

55

irregularidades del fundido. Se permitió un tiempo de permanencia para que el extruido cristalizara, después del cual era posible un estirado multietapa adicional para aumentar la orientación del cristal y ganar resistencia. La fibra después se trató con calor y se laminó en un carrete de bobinado. Las propiedades de la fibra resultante se muestran en la Tabla 3.

5

Tabla 3: Caracterización física de las fibras preparadas por hilado en estado fundido de PHA4400

Diam. Mínimo Fibra micrómetros	Diam. Máximo Fibra micrómetros	Carga Pico kgf	Resistencia a Rotura mínima kgf/mm ²	Resistencia a Rotura Mínima PSI	Resistencia a Rotura Mínima MPa
0,070	0,089	0,46	73,98	1,05E+05	726
0,129	0,178	1,80	72,37	1,03E+05	710
0,256	0,305	5,50	75,32	1,07E+05	739
0,421	0,470	13,00	74,97	1,07E+05	735
0,523	0,622	22,70	74,74	1,06E+05	733

"Diam" significa Diámetro

Ejemplo 6: fibras de monofilamento con una retención de resistencia *in vivo* prolongada.

10 Los monofilamentos de PHA4400 preparados como en el Ejemplo 5 se esterilizaron usando gas de óxido de etileno frío (40 °C, presión de óxido de etileno de 13,7 INHGA, humedad de 1,7 INHGA, tiempo de permanencia 4 h y tiempo de aireación 10 h).

15 En condiciones estériles, las fibras de monofilamento esterilizadas se colocaron perpendiculares a la línea media dorsal del conejo. Después de realizar una pequeña incisión, se introdujo un hemostato grande a través de la incisión en el tejido subcutáneo y se tuneló aproximadamente 22,86 cm (9 pulgadas) en la hipodermis. Las fibras de PHA4400 se roscaron individualmente a través de áreas de implante creadas quirúrgicamente diferentes y se dejaron en su sitio. Se implantó un total de cuatro muestras de ensayo y cuatro de control en cada conejo. Los animales se mantuvieron durante un periodo de 2 semanas (2 conejos) y se observaron diariamente para asegurar un curado apropiado de los sitios de implante. Al final de los puntos temporales apropiados, los animales se pesaron y se sometieron a eutanasia. Las secciones de tejido que contenían las suturas implantadas se escindieron de los animales. Las muestras se limpiaron de tejido, se envolvieron en una gasa empapada en solución salina estéril y se devolvieron el día del explante para análisis adicional. Las muestras de sutura se limpiaron adicionalmente de tejido residual y se secaron. La resistencia a la tracción se determinó en una máquina de ensayo universal. La carga de rotura a la tracción de la fibra explantada después de 2 semanas de implantación se encontró que era de una carga pico de 37,81 N (8,5 lbf), que es el 87 % de la de la fibra de partida (43,59 (9,8 lbf)). De esta manera, estas fibras demostraron una mayor retención de resistencia *in vivo* (87 % a las 2 semanas) en comparación con las fibras del Ejemplo 2, Figura 3 (50 % a las 2 semanas).

30 **Ejemplo 7: hilo multifilamento.**

El hilado de las fibras se realizó de la misma manera que en el ejemplo 5 excepto que el troquel tenía una hilera multiorificio (20 orificios x 0,17 mm (0,0065 pulgadas)). Se permitió un tiempo para que el hilo extruido cristalizara y se introdujo una corriente superenfriada de medio gaseoso/neblina líquida perpendicular al eje de la fibra. Se usó también un baño subcero y resultó ser un sustituto adecuado para el medio gaseoso. Los filamentos resultantes se procesaron adicionalmente a través de rodillos fríos y calentados y los filamentos pudieron orientarse y ajustarse con calor. Se obtuvo una tenacidad del hilo mayor de 3,5 gpd (gramos por denier) con un alargamiento del 30 %. En la Tabla 4 se muestran los datos representativos para los hilos multifilamento.

40

Tabla 4. Propiedades de tracción para hilos multifilamento de PHA4400.

Muestra	Denier por filamento	Carga Pico kg	Tensión a Rotura (%)	Tenacidad g/denier
1	33,8	2,43	97	3,6
2	27,1	1,69	114	3,1
3	23,7	1,92	58	4,1
4	16,2	1,12	113	3,4
5	12,8	0,99	107	3,9
6	10,3	0,71	74	3,5

Ejemplo 8: Tejido tricotado a partir de un hilo multifilamento.

45 Se tricotó un hilo multifilamento en un tubo usando una máquina de tricotado de urdimbre circular de alimentación única (Lamb Knitting Co., modelo ST3A/ZA). La anchura del tubo plano era de aproximadamente 9 mm. El hilo se tricotó muy bien, sin evidencia de rotura de fibra incluso sin la adición de un producto de acabado de hilado como un lubricante. Después de la limpieza y esterilización, el tubo tricotado parece muy adecuado para su uso como un tejido médico absorbible.

Ejemplo 9: estructura de soporte polimérico absorbible para implante de tejido biológico.

5 La fibra de PHA4400 tejida, tricotada o trenzada en tubos de soporte semirrígidos o el polímero PHA4400 extruido directamente en tubos de soporte puede prepararse con un diámetro interno muy parecido al del implante del sustrato biológico (por ejemplo tejido autólogo, alogénico y/o xenogénico). El implante biológico puede insertarse en el tubo de soporte y, opcionalmente, puede asegurarse en su sitio por ejemplo por sutura antes del implante. La adición del tubo de soporte proporciona una resistencia y módulo mejorados, y puede hacer el implante más fácil. Análogamente, las láminas de película extruida, material textil tejido, no tejido o tricotado pueden laminarse sobre un implante de tejido biológico y los extremos del tejido pueden unirse, suturarse o pegarse para mantener una construcción semirrígida sobre el implante biológico.

10

Se produjo un tubo tejido de fibra de PHA4400 monofilamento de 0,300 mm de diámetro extruido como se describe en el Ejemplo 5. Usando un equipo de tejeduría circular se produjo un tubo de 10 mm de diámetro interno. La construcción del tubo permitió la inserción de un sustrato biológico de implante y proporcionó una rigidez suficiente para colocar y suturar un implante biológico por lo demás flácido.

15

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una malla quirúrgica, material de sutura, dispositivo de ligamento sintético, dispositivo de tendón sintético o andamiaje que comprenden una fibra absorbible con retención de resistencia prolongada, en donde dicha fibra absorbible con retención de resistencia prolongada es una fibra orientada que comprende un copolímero o un homopolímero biocompatibles de 4-hidroxibutirato y mantiene a los 3-6 meses más del 20-30 % de su resistencia a la tracción tras la implantación en un ser humano o un animal.
- 10 2. La malla quirúrgica de la reivindicación 1, que es una malla reparadora de hernias.
3. Un dispositivo de combinación, que comprende la fibra absorbible con retención de resistencia prolongada tal como se define por la reivindicación 1 en combinación con otras fibras, mallas, parches sintéticos o naturales o tejidos autólogos, alogénicos y/o xenogénicos.
- 15 4. El dispositivo de combinación de la reivindicación 3, en donde el dispositivo es un dispositivo reparador de hernias.
- 20 5. El dispositivo de combinación de la reivindicación 3, en donde el dispositivo es un dispositivo para mastopexia/reconstrucción de mama.
6. La malla quirúrgica de la reivindicación 1, en donde la fibra absorbible con retención de resistencia prolongada es una fibra multifilamento.
- 25 7. La malla quirúrgica de la reivindicación 1 para su uso en la reconstrucción del suelo pélvico, reparación pericárdica, parche cardiovascular, soporte cardíaco, rescate de órganos, elevación del intestino delgado durante la radiación del colon en pacientes con cáncer colorrectal, dispositivos de retención para injertos de hueso o cartílago, regeneración de tejidos guiada, injerto vascular, sustitución dural, reparación de nervios guiada, en procedimientos que necesitan membranas antiadhesión o en estructuras de andamiaje de tejidos modificadas técnicamente.
- 30 8. El dispositivo de combinación de la reivindicación 3, para su uso en la reparación de hernias, mastopexia/reconstrucción de mama, reparación del manguito de los rotadores, injerto vascular/ffístulas, colgajos de tejidos, parcheado pericárdico, implantes de tejido en válvula cardíaca, interposición del intestino o parcheado de la duramadre.
- 35 9. La malla de reparación de hernias de la reivindicación 2 o el dispositivo de reparación de hernias de la reivindicación 4, para su uso en la reparación de hernias.
- 40 10. El dispositivo de mastopexia/reconstrucción de mama de la reivindicación 5 para su uso en mastopexia/reconstrucción de mama.
- 45 11. La malla quirúrgica, el material de sutura, el dispositivo de ligamento sintético, el dispositivo de tendón sintético o el andamiaje de la reivindicación 1, la malla quirúrgica de las reivindicaciones 2, 6 o 7, el dispositivo de combinación de las reivindicaciones 3, 4, 5 u 8, la malla de reparación de hernias de la reivindicación 9 o el dispositivo de mastopexia/reconstrucción de la reivindicación 10, en donde la fibra orientada comprende un homopolímero biocompatible de 4-hidroxibutirato.
- 50 12. La malla quirúrgica, el material de sutura, el dispositivo de ligamento sintético, el dispositivo de tendón sintético o el andamiaje de la reivindicación 1, la malla quirúrgica de las reivindicaciones 2, 6 o 7, el dispositivo de combinación de las reivindicaciones 3, 4, 5 u 8, la malla de reparación de hernias de la reivindicación 9, o el dispositivo de mastopexia/reconstrucción de mama de la reivindicación 10, en donde la fibra orientada comprende un copolímero biocompatible de 4-hidroxibutirato.

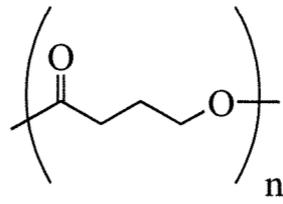


FIGURA 1

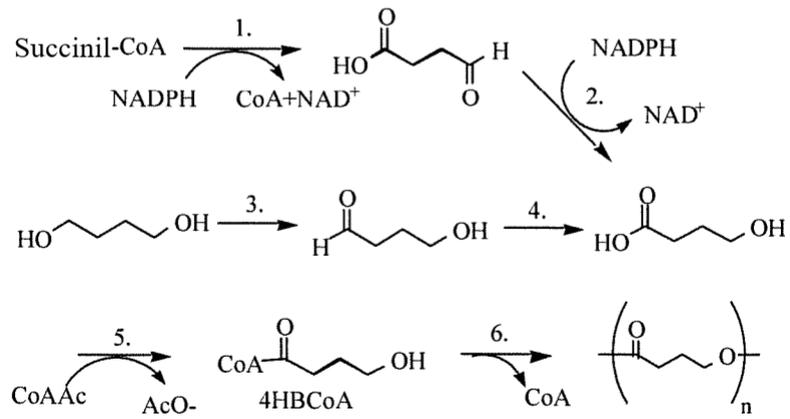


FIGURA 2

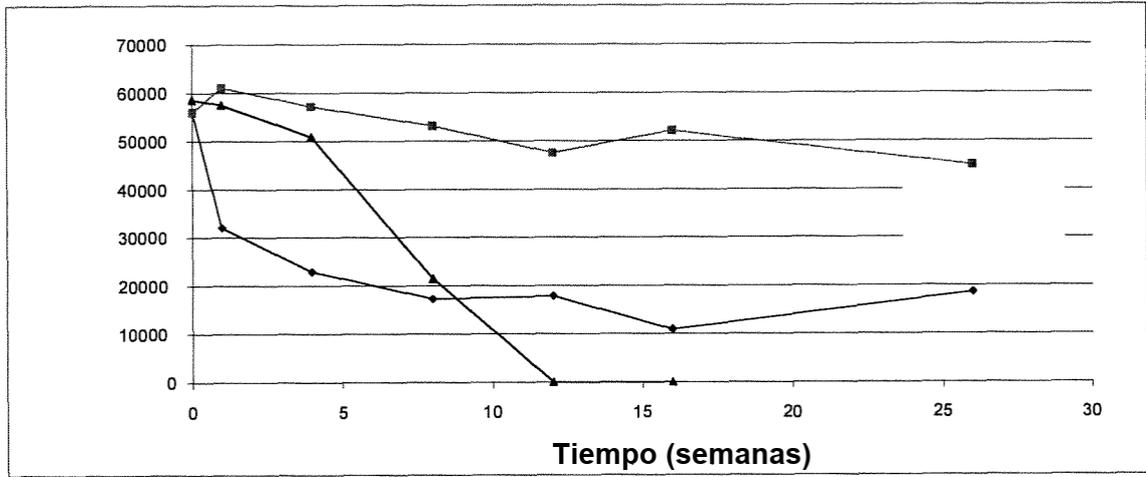


FIGURA 3

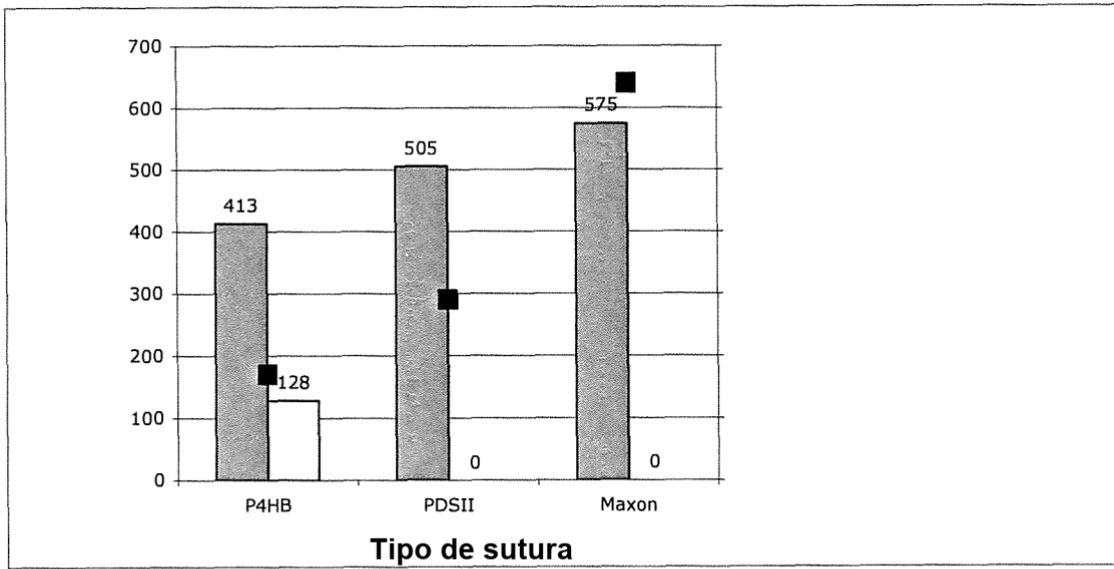


FIGURA 4

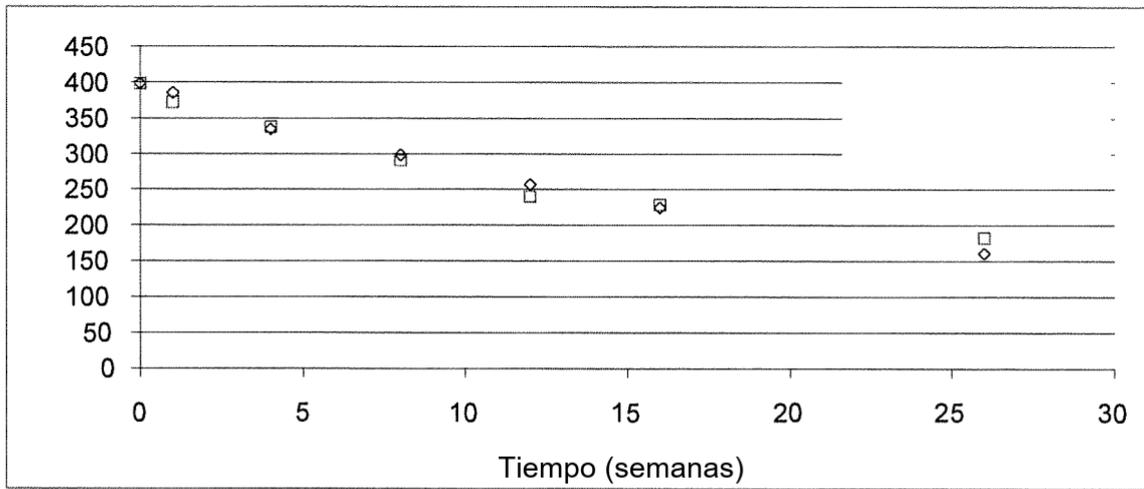


FIGURA 5

FIGURA 6

