

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 383 301**

51 Int. Cl.:

A61L 15/28 (2006.01)

A61L 15/32 (2006.01)

A61L 15/38 (2006.01)

A61L 15/40 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04803360 .9**

96 Fecha de presentación: **30.11.2004**

97 Número de publicación de la solicitud: **1696971**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **06.09.2006**

54 Título: **Apósitos para heridas terapéuticamente activos, su fabricación y su uso**

30 Prioridad:
26.12.2003 RU 2003138256

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
20.06.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
20.06.2012

73 Titular/es:
**SANGUIBIO TECH GMBH
ALFRED HERRHAUSEN STRASSE 44
58455 WITTEN, DE y
TESLENKO, ALEXANDER**

72 Inventor/es:
**TESLENKO, Alexander;
NIKONOW, Boris Alekseevich y
ANTONOW, Sergej Fedorovich**

74 Agente/Representante:
Carpintero López, Mario

ES 2 383 301 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

Apósitos para heridas terapéuticamente activos, su fabricación y su uso

Objeto de la invención

5 La invención se refiere a apósitos para heridas terapéuticamente activos basados en polisacárido, especialmente quitosano, y proteína, especialmente colágeno/gelatina, con propiedades mejoradas, a su fabricación, especialmente con aplicación de ácidos policarboxílicos, así como preferiblemente aminoácidos polifuncionales, y diálisis polimérica conjunta, así como a su uso, sobre todo en el sector médico.

Estado de la técnica

10 El número de pacientes con heridas de mala curación crónicas aumenta con una tendencia creciente a pesar de los enormes avances en la medicina. En el tratamiento local de heridas ya se conocen distintos preparados químico-farmacéuticos en diferentes formas de administración como pomadas, geles, tiritas, películas, polvos y otros. Como muestra claramente sólo la variedad de preparados cicatrizantes, hoy en día no hay ningún preparado universal. Tratamiento local de heridas significa mantener alejados de una herida factores perjudiciales y fomentar mecanismos promotores de la curación. Para el desarrollo de un producto médico de este tipo son importantes los siguientes parámetros: acción antibacteriana, acción cicatrizante y no por último lugar una buena manipulación, por ejemplo, fácil capacidad de desprendimiento de la herida, etc.

15 Independientemente del tipo de herida y del grado de pérdida de tejido, cada proceso de cicatrización transcurre en tres fases que se solapan y que no pueden separarse las unas de las otras: inflamación, proliferación y modulación. El sistema inmunitario tiene una importancia central en la cicatrización. Células inmunocompetentes se integran dentro de las células mesenquimatosas del nuevo tejido granular y controlan una compleja red de células de la matriz extracelular y mediadores celulares.

20 Las sustancias biológicamente activas y farmacológicas son proporciones esenciales en el eficiente tratamiento de heridas. Las heridas que se encuentra en la primera fase de cicatrización son dolorosas y difíciles de soportar por un paciente. Los procesos de inflamación responsables de los dolores dependen de toda una serie de factores, entre otros, radicales de oxígeno activo, los llamados ROS (radicales hidroxilo e iones superóxido). Por este motivo se parte de que cuando se reduce el nivel de concentración de radicales en la herida, al mismo tiempo se reduce la intensidad del dolor. Se sabe que el quitosano puede capturar radicales libres (Park P.J., y col. J. Agric. Food Chem. 2003, 51 (16): 4624-7; Je JY, y col. Food Chem. Toxicol. 2004, 42 (3): 381-7). Sin embargo, la eficiencia no es suficiente. Un refuerzo considerable del proceso de neutralización de ROS se consigue mediante la adición de superóxido dismutasa (SOD) y catalasa al apósito para heridas. La dismutasa descompone el anión superóxido y la catalasa el peróxido de hidrógeno: ambos pertenecen a las sustancias reactivas del oxígeno perjudiciales. Según el estado de la técnica, hasta la fecha no hay ningún apósito para heridas que contenga SOD y catalasa.

25 Además, se sabe que los retinoides o la vitamina A desempeñan una función importante en la epitelización y la contracción de la herida. Se conoce la aplicación de retinoides en el tratamiento de distintas enfermedades de la piel. Se demostró que los retinoides desempeñan una función importante en la biosíntesis y el catabolismo del colágeno. Impiden la expresión de la colagenasa y elevan la expresión de inhibidores de metaloproteasas en fibroblastos humanos (Bizot-Foulon V. y col. Cell Biol. Int. 1995, 19 (2): 129-35). Al mismo tiempo, se sabe que una alta dosis de retinoides conduce a efectos no deseados en la piel (eritema-descamación y dermatitis).

30 Una inclusión de retinoides en liposomas puede reforzar claramente la biocompatibilidad y al mismo tiempo impedir una rápida inactivación (Bizot-Foulon V. y col. Int. J. Cosmetic Sci. 1998, 20 (2): 343-354). Sin embargo, hasta la fecha no se han descrito apósitos para heridas con sustancias de este tipo.

35 Las heridas crónicas como pie diabético, decúbito o causadas por insuficiencia venosa y arterial se encuentran bajo deficiencia de oxígeno (hipoxia). El nivel de la presión parcial del oxígeno en la herida es un parámetro decisivo para una amputación del órgano. Se sabe que el aminoácido arginina puede evitar el riesgo de una vasculopatía (documento US 5359007, 2002). En heridas diabéticas generadas experimentalmente en animales se mostró que la arginina mejora la cicatrización o eleva la velocidad de biosíntesis del colágeno (Shi H.P., y col. Wound Repair Regener. 2003, 11(3): 198-203).

40 Así, por ejemplo, el aminoácido taurina presenta actividad antioxidante (Franconi F. y col. Neurochem. Res. 2004, 29(1): 143-150), estimula la proliferación celular y la biosíntesis del colágeno. La taurina puede atrapar monocloraminas que se han formado por neutralización de hipocloruros y de esta manera mejorar el proceso de cicatrización (Kato S., y col. Aliment. Pharmacol. Therap., 2002, 16 (2): 35-43). Por tanto, la arginina, la taurina y otros aminoácidos polifuncionales son sin duda de gran importancia en el desarrollo de apósitos para heridas farmacológicamente activos. Además, desempeñan una función importante en la herida como unidades estructurales

para la biosíntesis del colágeno y otras proteínas y glicoproteínas.

Los apósitos para heridas son esenciales en el cuidado de heridas moderno. Un apósito para heridas eficiente, como matriz de tejido provisional, cumplirá toda una serie de funciones: además de la protección contra influencias ambientales negativas (por ejemplo, infecciones bacterianas) como material de cobertura, buen intercambio de agua y gas, buena capacidad de absorción para agua y toxinas (por ejemplo, endotoxinas o mediadores de la inflamación), un apósito para heridas servirá además en la medida de lo posible de esqueleto (como sustitución a una matriz extracelular natural) para el nuevo crecimiento celular e influirá éste al menos positivamente debido a la propia actividad biológica o principios activos biológicos presentes. Además, podrán servir de preparación de liberación prolongada para los preparados terapéuticos ya anteriormente mencionados.

Los apósitos para heridas hidrófilos tienen un interés especial como materiales porosos (documentos US 4 572 906, 1986; US 4 570 696, 1986; US 4 659 700, 1987; US 4 956 350, 1990; US 5 169 630, 1992; US 5 324 508, 1994; US 5 871 985, 1999; US 6 509 039, 2003; US 6 608 040, 2003, RU 2007180, 1994; RU 2028158, 1996, RU 2193895, 2002) y especialmente como esponjas y membranas.

En estos materiales (membranas y láminas) es problemático que sólo estén presentes pequeños poros que son demasiado pequeños para la migración de células (fibroblastos, queratinocitos y otras) y que, finalmente, no hacen posible el crecimiento tridimensional de tejido granular. Además, debido a la baja porosidad, el material no puede adsorber grandes cantidades de exudado de la herida.

A diferencia de esto, las esponjas porosas tienen mejores propiedades (documentos US 5 116 824, 1992; US 2002161440, 2002; DE 101 17234 A1, 2002).

El colágeno endógeno desempeña una función importante especialmente en un proceso de cicatrización. Después de la escisión por colagenasa, los productos de descomposición del colágeno liberados pueden causar tanto la migración como también la activación de células de inflamación, por ejemplo, macrófagos, y, por tanto, ya influir en el proceso de cicatrización en un estadio temprano. Por este motivo, los apósitos para heridas y las esponjas hemostáticas basadas en colágeno y gelatina están muy extendidos: Drop Collagen® (Master Aid), AngioSeal® (Wright Medical Biomaterial Products), Nobakoll® (NOBA), PolyPly® (Royce Medical), Matrix Collagene® (Collagen Matrix, Inc.), Suprasorb C® (Lohmann & Rauscher GmbH). Sin embargo, sólo se mantiene la función principal de la propiedad física pasiva, concretamente la cobertura de heridas y la adsorción de exudado.

Por tanto, también se desarrollaron apósitos para heridas con sustancias terapéuticamente activas. Aquí se conocen aquellas basadas en colágeno B (documento SU 561564, 1965), quitina, gelatina y formaldehído (documento CN1097980, 1995), gelatina-formaldehído con antibiótico (documento RU 2033149, 1995), celulosa con quitosano (documento WO 02/052028), colágeno y quitosano (documento PCT 8504413, 1986), colágeno y quitosano con antibiótico (documento RU 96124444, 1998). Pero la desventaja de aquellos apósitos para heridas es la baja eficiencia en la cicatrización, que se provoca por una adhesión de la herida y en el caso de esponjas de colágeno debido al insuficiente suministro de oxígeno a la herida.

Pero también se sabe que el colágeno con estructura fibrilar nativa presenta la mejor biocompatibilidad en el proceso de cicatrización (documento US 4378017, 1983). Las estructuras cuaternarias de biopolímeros, incluidas proteínas, se estabilizan mediante una envuelta de hidrato a grupos polares de polímeros. Si no se produce una interacción de este tipo entre el agua y los grupos polares de biopolímeros, en la eliminación del agua (proceso de secado) se perjudica la estructura del biopolímero. Algunas sustancias de bajo peso molecular, llamadas agentes cosmotrópicos, pueden estabilizar la envuelta de hidrato presente y de esta manera mantener las estructuras macromoleculares durante el proceso de secado y después. Experimentalmente se buscan estabilizadores de este tipo y su aplicación (Crowe L.M. y col. Interaction of sugar with membranes: Biochim. et Biophys. Acta, 1988, 947, 367-384. Carpenter J. F. y col. The mechanism of cryoprotection of proteins by solutes; Cryobiology 1988, 25, 244-255). Tradicionalmente, en la liofilización de proteínas se usan mono- y oligosacáridos. Se mostró que éstos no son precisamente adecuados en la fabricación de esponjas según la invención.

La eficiencia de apósitos para heridas y membranas de este tipo basados en colágeno y gelatina se mejoró considerablemente mediante la mezcla de polímeros biocompatibles, por ejemplo: oxi-celulosa: Promogran® (Johnson & Johnson), ácido alginico: Fibracol® (Johnson & Johnson) o mucopolisacáridos: Catix® (Lescander, Inc.) y otros.

A este respecto, el quitosano no tóxico y biocompatible es especialmente interesante debido a sus propiedades especiales: el polisacárido catiónico quitosano forma complejos iónicos con moléculas aniónicas y polímeros. Se utiliza, entre otros, en la inmovilización de una serie de sustancias terapéuticas y biológicamente activas, por ejemplo, la inmovilización de proteínas, microorganismos o para la unión de endotoxinas bacterianas (Davidova VN y col., Biochemistry (SU), 2000, 65 (9), 1082-90).

El polisacárido heterogéneo quitosano está constituido por N-acetil-D-glucosamina y D-glucosamina y tiene similitud química con glicosaminoglicanos de la piel. De éstos resultan una serie de propiedades biológicas interesantes del quitosano (por ejemplo, activación de macrófagos, inmunestimulación y otras, en Khor E. "Chitin. Fulfilling a Biomaterials Promise. Elsevier, Ámsterdam, 2001).

5 Se ha demostrado en numerosas investigaciones que no la quitina/quitosano, sino sus productos de disociación, concretamente los quito-oligosacáridos (COS), muestran actividad biológica /Muzzarelli R.A.A. (ed) Chitosan per os, from dietary supplement to drug carrier AtecEdizioni. 2000./. Según el estado de conocimiento más reciente, la actividad enzimática de enzimas hidrolíticas como quitinasa, lisozima o hexoaminidasa desempeña una función decisiva en el marco de la fisiología humana. Los macrófagos también pueden producir una gran cantidad de estas
10 enzimas en el cuerpo humano /Muzzarelli R.A.A. Human enzymatic activities related to the therapeutic administration of chitin derivatives. CMLS. Cellular Molec. Life Sci. 1997, 53: 131-140.

Como se ha mencionado, las propiedades únicas del quitosano junto con otros polímeros, por ejemplo, gelatina o colágeno, son de gran importancia en el desarrollo de apósitos para heridas farmacéuticamente activos y bioprótesis. En los círculos especializados se conocen, además de los materiales ya mencionados, los siguientes materiales:
15 esponjas de quitosano/colágeno y quitosano/gelatina (documentos US 4659700, 1987; US 5166187, 1992; 5116824, 1992; US 5836970, 1998; US 5871985, 1999; US 2002161440, 2002; US 6565878, 2003). En este contexto son de mencionar sobre todo las siguientes patentes sobre apósitos para heridas basados en quitosano-colágeno: documentos US 5116824, 1992; US 5166187, 1992, US 5836970, 1998; US 2002161440, 2002; US 6565878,2003; RU 8608 B, 1998. En las patentes citadas, el quitosano se disuelve en ácido acético, que se neutraliza en el
20 posterior desarrollo. Una desventaja considerable de este proceso consiste en que después de la eliminación del agua se forman disoluciones heterogéneas a partir de las cuales se forman esponjas con morfología no deseada, concretamente con baja porosidad, con forma de poro y tamaño de poro no óptimos para el crecimiento celular. Sin embargo, esto perjudica la eficiencia de la aplicación práctica. Así, la captación de agua para aquellos materiales sólo asciende a del 1000 al 2000% del propio peso. Una desventaja de las tecnologías descritas en las patentes
25 anteriormente citadas consiste en que se produce una alta proporción de desechos (hasta el 70%).

Así, mediante la liofilización se observa la contracción de esponjas, unida a una pérdida de estructuras porosas. Además, se obtiene una superficie no plana para los apósitos para heridas, de manera que sólo cubren óptimamente muy malamente la herida. También se comprobó que los restos de ácido acético en el apósito para heridas pueden irritar la herida. Por tanto, para eliminar el exceso de ácido acético, las disoluciones de polímero se dializan
30 intensamente hasta seis días. Pero incluso después de este tratamiento todavía eran detectables restos de ácido acético.

En el documento DE 197 12 699 A1 se describen género de mallas, tejido, materiales no tejidos y compresas de múltiples guatas que presentan sustancias activas para el cuidado de heridas, polisacáridos como quitosanos, así como lisados de proteínas en una cantidad del 2%. Los productos de este tipo no están reticulados y, por tanto,
35 necesitan un soporte.

Objetivo de la presente invención

A partir de este conocimiento, el objetivo de la presente invención es desarrollar nuevos apósitos para heridas farmacológicamente activos basados en polisacárido y proteína que presenten propiedades terapéuticas mejoradas. Especialmente contendrán sustancias activas como, por ejemplo, SOD, otras enzimas y citocinas, aminoácidos
40 polifuncionales, o también, por ejemplo, retinol encapsulado liposómico, y podrán incorporar coadyuvantes. La estabilidad de las proteínas y la porosidad de apósitos para heridas se conseguirán por el hecho de que se alcance una capacidad de captación de agua mejorada y una alta eficiencia, es decir, se vencerán las desventajas previamente mencionadas. El apósito para heridas actuará además sobre distintos tipos de heridas y fases de cicatrización, por tanto, en este aspecto presentará una cierta universalidad.

45 Solución del objetivo

Según la invención, en un nuevo procedimiento se fabrica un apósito para heridas basado en un polisacárido estructural, especialmente quitosano, y proteínas estructurales, especialmente colágeno y/o gelatina, que se caracteriza por una proporción de proteínas seleccionadas de colágeno, gelatina, derivados o mezclas de los mismos, quitosano o derivados del mismo, así como ácidos policarboxílicos/ácidos carboxílicos y aminoácidos
50 polifuncionales/aminoácidos, así como dado el caso una proporción de sustancias activas y que como resto contiene coadyuvantes y/o aditivos. El apósito para heridas está además reticulado. Sorprendentemente, mediante la presente pueden vencerse las desventajas anteriormente descritas, y sobre todo con la renuncia al ácido monocarboxílico ácido acético, como se explica a continuación.

A este respecto documentan

los Ejemplos 1 a 9 la fabricación y propiedades de apósitos según la invención, también en comparación con productos conocidos.

Los Ejemplos 10 y 11 se ocupan de la eficacia mejorada de los apósitos según la invención.

- 5 La Figura 1 muestra la formación de fibrillas de una mezcla de colágeno-quitosano preparada según el estado de la técnica (documento RU 8608, ácido acético);

la Figura 2 muestra la formación mejorada de fibrillas de una mezcla de colágeno-quitosano preparada según la invención con ácidos policarboxílicos.

La Figura 3 muestra la mejora adicional de los apósitos para heridas por la influencia de coadyuvantes.

10 **Breve explicación de los dibujos**

En la Fig. 1 y 2 se representa la formación de fibrillas de una mezcla de colágeno-quitosano, y concretamente una vez según el documento RU 8608 (ácido acético), Fig. 1, y una vez con ácidos policarboxílicos (invención), Fig. 2. En la Fig. 3 se muestra la acción prolongada de la superóxido dismutasa en un apósito para heridas sin y uno con poli(alcohol vinílico) (PVA).

15 **Explicación más detallada de la invención**

- El apósito para heridas dispone especialmente de una proporción de 19 a 56% de proteínas estructurales seleccionadas de colágeno, gelatina, derivados o mezclas de los mismos, 18 a 58% de polisacáridos estructurales seleccionados de quitosano o derivados del mismo, 0,5 a 10% de ácidos policarboxílicos/ácidos carboxílicos, 0,1 a 15% de aminoácidos polifuncionales/aminoácidos, 0 a 10% de sustancias activas y 0 a 30% de aditivos y/o coadyuvantes, además de 0,1 a 5% de reticulantes. Tiene además sobre todo una capacidad de captación de agua de más del 2000%, sobre todo del 2500 al 10000%, preferiblemente del 3000 al 7000%. Tiene una estructura porosa (esponja). En configuraciones especialmente ventajosas presenta un peso específico de 0,01 a 0,06 g/cm³.
- 20

A este respecto se prefiere muy especialmente quitosano con un peso molecular medio superior a 200 a 500 kDa, colágeno de tipo I y III y gelatina de tipo A o B.

- 25 Por ácidos policarboxílicos se entiende según la presente invención aquellos ácidos carboxílicos que contienen adicionalmente a un grupo carboxilo uno o varios grupos funcionales (hidroxi, carboxi, amino, entre otros).

Como ácidos policarboxílicos son adecuados, sobre todo, ácido láctico, ácido málico, ácido succínico, ácido pirrolidoncarboxílico, ácido malónico, ácido fumárico, ácido ascórbico, ácido glutámico, ácido salicílico, entre otros, o mezclas de los mismos. Se prefiere especialmente ácido láctico, ácido succínico y otros de las clases del ciclo del citrato.

30

Como aminoácidos polifuncionales se consideran preferiblemente arginina, metionina, prolina, ácido glutámico, alanina, taurina, glicina, cisteína, N-acetilcisteína o mezclas de los mismos.

- Como sustancia activa se elige especialmente superóxido dismutasa y/o catalasa de distinto origen, sobre todo en una concentración del 0,001 al 1,0% con respecto a la base de polímero. Alternativamente o adicionalmente, como sustancia farmacológicamente activa puede estar contenida β -carotina de distinto origen, especialmente en forma liposómica, utilizándose la β -carotina preferiblemente en una concentración del 0,001 al 0,5% con respecto a la base de polímero.
- 35

Como aditivos son sobre todo adecuados sustancias antibacterianas como especialmente clorhexidina, Polysept, polihexanida o derivados adecuados de los mismos. Éstos pueden utilizarse preferiblemente en una concentración del 0,01 al 0,6% con respecto a la base de polímero. Los coadyuvantes se seleccionan en una forma de realización preferida de plastificantes como glicerina, o de sustancias de alto peso molecular que garantizan la adhesión a la superficie de la herida o de sustancias que influyen en la eliminación de sustancias farmacéuticamente activas, o de mezclas de los mismos. Son especialmente adecuadas cantidades de coadyuvantes del 10 - 30%. En una forma de realización ventajosa, como coadyuvantes se usan glicerina y otros polioles, especialmente poli(alcohol vinílico) y polivinilpirrolidona.

40

45

Como reticulante se elige especialmente un reticulante bifuncional, preferiblemente en una cantidad del 0,1 al 5%, sobre todo glutaraldehído.

Los apósitos para heridas según la invención se fabrican según un nuevo procedimiento con el que puede aumentarse considerablemente el rendimiento de productos (esponjas) de estructura adecuada.

El proceso de fabricación se realiza de la siguiente forma:

1. En lugar de ácido acético se usan ácidos policarboxílicos, incluidos los ácidos que pertenecen al ciclo del citrato, es decir, con actividad biológica (Tab. 1 a 4).

Especialmente se prefiere además que

5 2. En lugar de una neutralización se realice un proceso de diálisis que conduzca a la formación de estructuras de proteínas óptimas (por ejemplo, fibras de colágeno).

10 3. Además, sorprendentemente pueden utilizarse aminoácidos polifuncionales. Éstos conducen, por una parte, a una estabilización de las estructuras cuaternarias de compuestos de proteínas. Desempeñan una función importante como crioprotectores y formadores de poros. Por otra parte, muestran actividad biológica propia y, por tanto, aceleran el proceso de cicatrización. Esto es a diferencia de la exposición según estado de la técnica en la que se propusieron mono- y disacáridos como estabilizadores habituales. Se mostró que éstos no eran precisamente adecuados en la fabricación de esponjas según la invención. Sorprendentemente también puede renunciarse a estas sustancias, evitándose también su acción no deseada sobre la herida.

15 4. Además, sorprendentemente pueden utilizarse SOD, otras enzimas, β -carotina, otras provitaminas y otras sustancias farmacológicamente activas.

5. Además, sorprendentemente pueden utilizarse antisépticos y coadyuvantes.

20 El proceso de fabricación según la invención consiste en que el polisacárido estructural, especialmente quitosano, y la proteína estructural, especialmente colágeno, gelatina o mezclas de colágeno-gelatina, respectivamente separados con ácidos policarboxílicos, que pueden ser iguales o distintos, se disuelven en agua y luego se mezclan entre sí y se dializan. A continuación se incorporan preferiblemente crioprotectores y formadores de estructura seleccionados de aminoácidos polifuncionales, y aditivos, y el gel formado en esto se liofiliza.

Los ácidos policarboxílicos se utilizan preferiblemente en una relación de 1 : 4 a 2 : 1 en base a peso seco y los aminoácidos en una concentración del 0,1 - 15% (véase la Tab. 3).

25 Como ácidos policarboxílicos con el objetivo de la biocompatibilidad óptima se utilizan sobre todo los siguientes ácidos: ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico o sus mezclas como componentes del ciclo del citrato. Las mezclas de polisacárido, especialmente disoluciones de quitosano y proteína, especialmente colágeno (gelatina), se mezclan y se maduran especialmente al menos 12 horas y a continuación se dializan.

30 El proceso de diálisis se interrumpe al alcanzarse un valor de pH de 5,2 - 6,5 en función de la composición. El proceso de diálisis tiene una gran influencia sobre la disponibilidad de sustancias farmacéuticamente activas (por ejemplo, SOD) del apósito para heridas acabado en la herida (véase la Tab. 5.). Así, se prefiere que la relación de disolución de polímero con respecto a agua ascienda a al menos 1:20, y especialmente a 1:50 a 1:200, durante un periodo de tiempo de 16 a 24 horas. La relación de volumen de disoluciones de polímero con respecto a agua en la diálisis puede ascender en una configuración de manera muy especialmente preferida de la invención a 1:100 (véase la Tab. 5).

Aminoácidos polifuncionales pueden estar contenidos en el apósito para heridas como crioprotectores, formadores de poros y como sustancias biológicamente activas con una concentración óptima de respectivamente el 0,1 al 15%.

40 Como principios activos pueden utilizarse sobre todo SOD y catalasa, contenidos con una cantidad óptima de 0,1 a 0,25 mg/cm², que reducen el proceso de inflamación en la herida y los dolores asociados al mismo. La aplicación de retinoides conduce a la aceleración del proceso de cicatrización y a una aceleración de la epitelización. Fase de granulación.

45 Como aditivos se usan sustancias antibacterianas, por ejemplo, bigluconato de clorhexidina y/o Polysept (hasta el 0,6%), coadyuvantes del grupo de los polialcoholes, por ejemplo, glicerina (10-30%), sustancias de alto peso molecular para mejorar la adhesión sobre la herida y para influir en la eliminación de sustancias farmacéuticamente activas, por ejemplo, poli(alcohol vinílico) y/o polivinilpirrolidona (4-10%) (Tab. 4).

Para la fabricación de apósitos para heridas se usarán sustancias de partida certificadas que no contengan constituyentes tóxicos o infecciosos, por ejemplo, virus o priones. Puede usarse colágeno certificado de tipo I, III de la empresa Belkosin (Rusia) y gelatina según la Farmacopea (PB Gelatins, Gelita Europe, Rousselot a Sobel Company) y quitosano (Sonat and Bioprogress (Rusia), Hydagen® (Cognis AG), quitosano (Protan, Inc.).

50

- Es ventajoso seleccionar el material de partida, especialmente para el quitosano. El quitosano se obtiene a partir de quitina por desacetilación y despolimerización. Para fines médicos se usa quitina con un grado de desacetilación superior al 85%. El quitosano es heterogéneo en lo referente a su peso molecular, que puede variar entre 20 y 1000 kDa dependiendo del proceso de fabricación. Los inventores han mostrado que quitosano con una masa molecular inferior a 100 kDa muestra acción citotóxica en el cultivo de fibroblastos sobre películas de quitosano. No conduce a la muerte celular, sino a la incapacidad de la formación de una monocapa sobre la superficie del quitosano. Los fibroblastos cultivados tienen una morfología poco habitual. El quitosano de bajo peso molecular puede penetrar en este caso en las células y reaccionar con las proteínas del citoesqueleto o citoplasma.
- Por otra parte, tanto el quitosano con una masa molecular superior a 250 kDa como también la glucosamina y los quito-oligosacáridos con una masa molecular inferior a 10 kDa no presentan acción citotóxica.
- También se mostró una dependencia similar en la flora intestinal. El quitosano de bajo peso molecular presenta propiedades bacteriostáticas y en varios casos bactericidas.
- Según la invención, para un apósito para heridas biocompatible se usará preferiblemente quitosano con una masa molecular superior a 200 kDa.
- El quitosano de bajo peso molecular se elimina luego mediante la diálisis aplicada según la invención (electrodiálisis). Adicionalmente, un exceso de ácidos policarboxílicos y otras impurezas de bajo peso molecular se eliminan de las sustancias de partida mediante diálisis. En lo referente al colágeno se encontró que mediante la diálisis según la invención se forma una estructura de colágeno fibrilar. En el caso de la gelatina, la diálisis conduce sorprendentemente a una elevación del peso de las estructuras en espiral (elevación de la actividad óptica).
- La realización de la diálisis se realiza correspondientemente a la composición de la mezcla de polímeros. El valor de pH se encontrará especialmente entre 5,5 y 6,5. Para alcanzar éste, para una mezcla de gelatina-quitosano se necesita una única diálisis por poco tiempo. Para una disolución de colágeno-quitosano puede necesitarse una mayor cantidad de agua.
- Según la invención, en la diálisis se usa una mezcla de disoluciones de polímeros. De esta manera se obtiene sorprendentemente una mejora de la estructura de esponja porosa. La diálisis de disoluciones de polímeros separadas con respectivamente un polímero conduce por el contrario a una estructura de poros heterogénea y a una superficie no homogénea del apósito para heridas.
- Según el documento RU 8608 B, 1998, se sabe que la diálisis contra agua de una mezcla de colágeno-quitosano en ácido acético conduce a una autogeneración de fibrillas de colágeno que se influye fuertemente positivamente por la presencia de quitosano en la disolución. Sorprendentemente, este efecto se refuerza considerablemente por la utilización según la invención de ácidos policarboxílicos que no son ácido acético. En las Fig. 1 y 2 se representa la formación de fibrillas de una mezcla de colágeno-quitosano, y concretamente una vez según el documento RU 8608 (ácido acético), Fig. 1, y una vez con ácido policarboxílico (invención), Fig. 2. A este respecto puede apreciarse claramente que el intercambio de ácido acético con ácido policarboxílico refuerza la formación de fibrillas, apreciable por la densidad electrónica claramente mayor de la estructura fibrilar.
- En formas de realización preferidas tiene lugar una auto-organización especialmente eficiente de las fibrillas de colágeno mediante diálisis en una relación de disolución de polímero con respecto a agua de aproximadamente 1 con respecto a 100 y una duración de 16 a 24 horas.
- Como coadyuvantes pueden utilizarse compuestos de bajo peso molecular como glicerina y especialmente polímeros de alto peso molecular (poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidona y otros). A este respecto se mostró que las estructuras de apósito para heridas todavía se influyen sorprendentemente todavía más positivamente y, por tanto, también su eficiencia en la aplicación (por ejemplo, adhesión a la superficie de la herida). Además, pueden prolongar la acción de preparados farmacéuticos. En la Fig. 3 se muestra la acción prolongada de superóxido dismutasa en el apósito para heridas sin y con poli(alcohol vinílico) (PVA).
- Para elevar la estabilidad de los apósitos para heridas en comparación con enzimas presentes en la herida y para elevar el tiempo de utilización se usan reticulantes que están constituidos por las clases de los agentes mono- o bifuncionales, o que se basan en procedimientos físicos. La aplicación de sustancias reticulantes de quitosano se ha descrito detalladamente en la bibliografía. Como reticulante eficiente se usa preferiblemente glutaraldehído (GA). El motivo para esta elección se basa en conocimientos conocidos de que en la fabricación de apósitos para heridas la concentración residual de GA se encuentra por encima de su acción citotóxica, concretamente menos de 0,004 ppm (Beyer KI y col. Chitosan-Collagen-Sponges. Estimation of the residual concentration of crosslinking agent. Pág. 327-328. en Proc. 4th World Meeting ADRITELF, Florencia, 2002). Se mostró que especialmente en la aplicación de GA en una concentración del 0,01% al 0,03% y valor de pH de 5,2 a 6,2 puede formarse una matriz de quitosano reticulada tridimensional. En esta matriz se encuentran fibrillas de colágeno o moléculas de gelatina libres.

Según la invención, la fabricación de apósitos para heridas farmacéuticamente activos está especialmente constituida por las siguientes etapas:

- Las cantidades necesarias de quitosano y colágeno (gelatina) se disuelven en agua junto con ácidos policarboxílicos que son iguales o distintos (respectivamente separadas).
- 5 • Las mezclas de polímeros formadas se dializan conjuntamente.
- A continuación de esto le sigue la adición de aminoácidos polifuncionales, preparados farmacológicos y coadyuvantes y/o aditivos.
- Se añaden reticulantes a la disolución formada.
- El gel formado se congela a -20 a -60°C y por último lugar se liofiliza.
- 10 • El material de esponja se confecciona y se esteriliza.

En los siguientes Ejemplos 1 a 9 se representan formas de realización preferidas del procedimiento según la invención.

Aplicación

- 15 Los apósitos para heridas según la invención se aplican cortando el producto seco en cuerpos moldeados adecuados y aplicándolo sobre las heridas.

Biocompatibilidad y acción farmacológica de los apósitos para heridas según la invención (estudios preclínicos)

- 20 Los estudios preclínicos para los apósitos para heridas según la invención no han mostrado acción tóxica, irritante o sensibilizante. Los apósitos para heridas son apirógenos y según sus parámetros higiénico-sanitarios y toxicológicos cumplen los requisitos de seguridad requeridos a productos médicos que tienen contacto con heridas humanas.

Experimentalmente, en ratas con quemaduras artificialmente generadas se mostró una mejor acción curativa con ayuda de apósitos para heridas según la invención que con apósitos para heridas basados en alginato.

Además, también se mostró una acción antibacteriana de los apósitos para heridas según la invención.

Estudios clínicos

- 25 Los apósitos para heridas según la invención se realizaron en estudios aleatorizados, controlados, cegados, multicentro en pacientes con distintas etiologías de heridas.

- 30 Los apósitos para heridas se dispusieron sobre la herida y se fijaron con gasa u otros agentes de fijación. Durante la captación del exudado de la herida se produce una lenta difusión de sustancias biológicamente y farmacológicamente activas contenidas en el apósito para heridas a la herida. Mediante el contacto con la herida, el quitosano estimula procesos reparadores y acelera la cicatrización.

Las sustancias biológicamente activas y las fibrillas de colágeno estimulan la actividad celular, por ejemplo, la reacción inmunitaria. Lentamente se integran partes del apósito para heridas en la herida y el resto se rechaza después de la epitelización satisfactoria.

- 35 En el caso de heridas infectadas y fuertemente exudantes, los apósitos para heridas se cambiaron diariamente. En apósitos para heridas bien granulados, el apósito para heridas puede permanecer sobre la herida hasta la curación completa.

Los estudios clínicos han mostrado una alta eficiencia en la curación de heridas infectadas y crónicas, quemaduras y heridas quirúrgicas en las siguientes fases de cicatrización:

- Fase de inflamación y limpieza
- 40 • Fase de granulación
- Fase de epitelización

Debido a estos datos, el apósito para heridas según la invención es un apósito para heridas universal que puede utilizarse en todas las fases de cicatrización. El tiempo de cicatrización se acorta al menos el 20% en comparación

con procedimientos habituales.

5 La descripción detallada de la aplicación práctica de los apósitos para heridas según la invención se cita en los Ejemplos 10-11. Los apósitos según la invención son especialmente adecuados en el tratamiento de heridas postraumáticas y quirúrgicas, además de para acelerar la curación de quemaduras de primer a tercer grado, especialmente también en la curación de heridas infectadas o crónicas de distinta etiología.

Ejemplos

Esta invención no está limitada a los ejemplos representados y puede utilizarse ampliamente.

Ejemplo 1

10 A 150 ml de disolución acuosa de ácido glutámico al 1% y ácido málico al 1% se añadieron 3 g de colágeno liofilizado. Al mismo tiempo, 3 g de quitosano se disolvieron en 150 ml de ácido succínico al 1%. Ambas disoluciones se mezclaron y en el transcurso de 20 horas se dializaron contra agua hasta un valor de pH de 5,2. A esta disolución se añadieron 0,04 g de SOD, 0,03 g de catalasa y 0,06 ml de disolución de bigluconato de clorhexidina al 20% y 20 ml de disolución de arginina al 3%. Luego se añadieron 5 ml de disolución de glutaraldehído al 1,25% y a continuación se liofilizó el gel formado.

15 El apósito para heridas se fabricó paralelamente a esta preparación según el documento RU 8608 B, 1998.

En 150 ml de ácido acético 3 N se disolvieron 3 g de colágeno liofilizado. En 150 ml de ácido acético al 2% se disolvieron 3 g de quitosano.

20 Ambas disoluciones se mezclaron y en el transcurso de 20 horas se dializaron contra agua hasta un valor de pH de 5,2. A esta disolución se añadieron 0,04 g de SOD y 0,06 ml de disolución de bigluconato de clorhexidina al 20% y 20 ml de disolución de arginina al 3%. Luego se añadieron 5 ml de disolución de glutaraldehído al 1,25% y a continuación se liofilizó el gel formado.

Las cubetas con los materiales congelados se trataron en un liofilizador a -35°C con una velocidad de congelación de 4°C ,10°C y 20°C por hora y a continuación se secaron.

En todos los casos se formaron materiales porosos con las características representadas en la Tab. 1 y 2.

25 **Tabla 1:** Comparación del nuevo apósito para heridas según los procedimientos de fabricación según la invención con un tipo comparativo.

Apósito para heridas	Velocidad de congelación °C/hora	Esponjas con estructuras inadecuadas, en %
(Tipo comparativo)	4	33
	10	72
	20	100
Según la invención	4	0
	10	0
	20	2

Tabla 2: Comparación de apósitos para heridas (del Ejemplo 1) con estructura porosa homogénea (procedimiento según la invención) y no homogénea (tipo comparativo).

Parámetro	Unidad de medida	Apósitos para heridas con estructura porosa homogénea	Apósitos para heridas con estructura porosa no homogénea
1. Apariencia	-	Estructura porosa seca, inodora, beis claro	Estructura porosa seca, inodora, beis claro
2. Elasticidad	-	La esponja puede enrollarse	La esponja se rompe al enrollarla
3. Dimensiones	mm	75 x 50 x 10 (± 2)	60 x 40 x 8 (± 5)
4. Cantidad de SOD liberada en el transcurso de 24 horas	%, en peso seco	7,4 \pm 0,3	0,06 \pm 0,04
5. Peso específico	g/cm ³	0,014 \pm 0,002	0,034 \pm 0,015
6. Valor de pH del extracto acuoso	pH	5,8 \pm 0,2	5,8 \pm 0,2
8. Humedad residual	%	15,3 \pm 0,5	38,2 \pm 4,5
9. Capacidad de adsorción (agua)	% con respecto al peso seco	7100 \pm 500	1700 \pm 1100
10. Permeabilidad a los gases del apósito para heridas	mg/cm ² /hora	4,5 \pm 0,5	< 0,1

Ejemplo 2

- 5 En el Ejemplo 2 se muestra la influencia de la composición y concentraciones de ácidos policarboxílicos y aminoácidos sobre las propiedades de apósitos para heridas. La fabricación de apósitos para heridas se realizó como se representa en el Ejemplo 1.

Tabla 3: Influencia de las condiciones de fabricación sobre las propiedades de los apósitos para heridas

Nº	Ácido carboxílico (APC)	Aminoácido (AA)	Relación de quitosano/ APC en la disolución de partida	Relación de APC/AA en el apósito para heridas	Desecho%	Propiedades	
						Fragilidad (dureza)	Porosidad
1	Ácido succínico	Glicina (8,5%)	1:8	1:0,85	100	alta	grande
2	Ácido succínico	Glicina (7,3%)	1:4	1:1,8	<12	alta	grande
3	Ácido succínico	Glicina (7,3%)	1:2	1:3,3	<2	baja	grande
4	Ácido glutámico	Glicina (7,3%)	1:2	1:3,3	17	baja	media
5	Ácido malónico	Glicina (7,3%)	1:2	1:3,3	6	baja	grande
6	ASM	Glicina (15%)	1:2	1:7,5	100	alta	grande
7	ASM	Glicina (7,2%)	1:2	1:3,3	0	baja	grande
8	ASM	Glicina (3,2%)	1:2	1:1,5	<2%	baja	media
9	ASM	Glicina (2,0%)	1:2	1:0,9	>70%	alta	pequeña
10	Ácido succínico	Glicina (7,2%)	1:1	1:6	<2%	baja	grande
11	Ácido succínico	Glutamina (7,2%)	1:1	1:6	<5%	baja	grande
12	Ácido succínico	Alanina (6,6%)	1:1	1:6	<3%	baja	grande
13	Ácido succínico	Glicina (15%)	1:0,5	1:15	<10%	baja	media
14	Ácido succínico.	Glicina (7,2%)	1:1	1:3,6	0%	baja	media
ASM: ácido succínico y ácido málico en la relación en peso 1:1							

Tabla 4: Composición (en % en peso) de apósitos para heridas con distintas relaciones de ácidos carboxílicos y aminoácidos.

Composición % en peso	Nº correspondiente a la Tabla 3						
	1	2	3	4	5	6	7
Quitosano	57,0	36,4	44,3	44,3	36,8	35,8	18,0
Colágeno	19,0	36,4	44,3	44,3	36,8	35,8	56,0
Ácido succínico*	10,0	4,1	2,2				
Ácido glutámico*				2,2			
Ácido malónico*					2,2		
Mezcla de ácidos*						2,0	2,2
Glutaraldehído	5,0	0,7	1,0	1,0	0,6	0,6	0,7
SOD	0,5	0,1	0,9	0,9	0,9	0,8	0,9
Gebitan							
Glicerina		15,0			15,4	10	15,0
Glicina	8,5	7,3	7,3	7,3	7,3	15,0	7,2
Glutamina							
Alanina							
Poli(alcohol vinílico)							

* - Los restos de ácidos carboxílicos en los apósitos para heridas se calcularon según calibraciones correspondientes para ácidos en disoluciones

5

Tabla 4: (Continuación) Composición (en % en peso) de apósitos para heridas con distintas relaciones de ácidos carboxílicos y aminoácidos.

Composición % en peso	Nº correspondiente a la Tabla 3						
	8	9	10	11	12	13	14
Quitosano	58,4	42,5	36,1	35,0	30,5	41,3	31,0
Colágeno	35,4	42,5	36,1	35,0	30,5	41,3	31,0
Ácido succínico*			1,2	1,2	1,1	1,0	2,1
Ácido glutámico*							
Ácido malónico*							
Mezcla de ácidos*	2,2	2,2					2,0
Glutaraldehído	0,7	0,8	0,6	0,7	0,6	0,5	0,9
SOD	0,1	10	0,9	0,9	0,7	0,3	0,6
Gebitan						0,6	0,2
Glicerina			17,9	20,0	30,0		20
Glicina	3,2	2,0	7,2			15	7,2
Glutamina				7,2			
Alanina					6,6		
Poli(alcohol vinílico)							5,0

Ejemplo 3

10 A 150 ml de disolución de ácido succínico al 2% se añadieron 3 g de colágeno liofilizado. Al mismo tiempo, en 150 ml de ácido succínico al 1% se disolvieron 3 g de quitosano. Ambas disoluciones se mezclaron y en el transcurso de 20 horas se dializaron contra agua hasta un valor de pH de 5,2. A esta disolución se añadieron 0,04 g de SOD o 0,03 g de catalasa y 20 ml de disolución de prolina al 2%.

15 La disolución formada se dividió en dos partes iguales. En una parte se añadieron 2,5 ml de disolución de glutaraldehído al 1,25%. En la otra parte se añadieron 0,3 g de poli(alcohol vinílico) en 20 ml de agua. Luego se añadieron 2,5 ml de disolución de glutaraldehído al 1,25%. Los materiales formados se congelaron a -35°C y se liofilizaron. En los apósitos para heridas acabados se detectó SOD en una concentración del 0,6% del peso seco o 0,1 mg por cm². La densidad específica ascendió a 0,014 +/- 0,001 g por cm³. La capacidad de adsorción para agua ascendió a 7100 +/- 500%. Los apósitos para heridas que contuvieron poli(alcohol vinílico) tuvieron poros homogéneos y algo más pequeños. La eliminación de SOD se determinó según la determinación de la actividad de SOD mediante el retardo de la oxidación de quercitina (Glazer A.N. y col. Methods Enzymol. 1990, 186,161-168). Los apósitos para heridas que contienen poli(alcohol vinílico) han mostrado una eliminación retardada de SOD en la rehidratación en agua (Fig. 3).

20

Ejemplo 4

En 300 ml de ácido málico al 2% se disolvieron 3 g de cada uno de quitosano y colágeno. El posterior tratamiento tiene lugar como se ha descrito en el Ejemplo 1. Luego se añadieron a la disolución de polímero 15 ml de liposomas que contenían carotina. La β -carotina liposómica se preparó como se describe en el siguiente párrafo:

5 A 10 ml de cloroformo se añadieron 1,2 g de fosfolípidos (Nattermann Phospholipid GmbH) y 0,3 g de β -carotina. A la disolución formada se añadieron 8,4 g de poli(alcohol vinílico). La suspensión formada se agitó vigorosamente y se vertió en una cubeta. El cloroformo se eliminó en una estufa a vacío. El producto seco se trituró y después se añadió a 150 ml de tampón fosfato a pH 6,8 a 7,4 y se agitó vigorosamente durante un periodo de tiempo de 30 minutos. De esta manera se formaron liposomas de múltiples capas. Se trabajó con ultrasonidos (150 -200 W) para reducir el tamaño de los liposomas y al mismo tiempo esterilizarlos.

10 Los liposomas que contenían 0,2% de β -carotina y 2% de fosfolípidos se añadieron a la disolución de colágeno-quitosano. Para esto se añadieron 0,02 ml de bigluconato de clorhexidina al 20% y 0,006 ml de Polysept y hasta el 30% de sustancias plastificantes, por ejemplo, glicerina. La reticulación y la liofilización se realizaron como se ha representado en el Ejemplo 1. El producto acabado se cortó, se envasó y se etiquetó. A continuación se realizó una esterilización por rayos gamma con una dosis de 1,5 Mrad.

15 Los apósitos para heridas que contienen carotina se utilizan la mayoría de las veces para la curación de heridas crónicas. En todos los estudios realizados se comprobó una acción estimulante sobre los procesos de epitelización.

Ejemplo 5

20 3 g de gelatina se dejaron hinchar en 150 ml de ácido láctico al 0,1% y a continuación se disolvieron a 70°C. En 130 ml de agua se disolvieron 3 g de quitosano con una masa molecular de 350 kDa y grado de desacetilación de más del 85% y 0,7 g de ácido succínico hasta la disolución completa del quitosano. Ambas disoluciones se mezclaron y a continuación se dializaron contra agua en la relación 1 con respecto a 100. A esta disolución se añadieron 20 ml de disolución de taurina al 20%. La reticulación y posterior liofilización se realizaron similarmente como en el Ejemplo 1. Las esponjas obtenidas tienen una densidad específica de 0,012 a 0,016 g/cm³. La capacidad de sorción para agua asciende a del 4000 al 6000%.

Ejemplo 6

A 900 ml de agua desionizada apirógena se añadieron 10 g de quitosano y 5 g de ácido láctico. La disolución se agitó hasta la disolución completa del quitosano.

30 A 900 ml de agua desionizada apirógena se añadieron 0,9 g de ácido pirrolidonicarboxílico y 10 g de gelatina y se disolvieron por calentamiento a 70°C.

Ambas disoluciones se mezclaron entre sí y se dializaron. A continuación se añadieron 40 ml de disolución de glicina al 20%. La reticulación y la liofilización se realizaron como se ha representado en el Ejemplo 1.

Las esponjas obtenidas tienen una densidad específica de 0,020 a 0,022 g/cm³. La capacidad de sorción para agua asciende a del 4000 al 5000%.

35 El producto acabado se cortó, se envasó y se etiquetó. A continuación se realizó una esterilización por rayos gamma con una dosis de 1,5 Mrad.

Ejemplo 7

Se disolvieron 10 g de quitosano en 500 ml de agua desionizada que contenía 10 g de ácido succínico.

Se disolvieron 10 g de colágeno en 500 ml de agua desionizada que contenía 10 g de ácido succínico.

40 Ambas disoluciones se mezclaron y a continuación se dializaron contra agua en una relación de 1 con respecto a 100.

45 Se dejaron hinchar 2 g de gelatina en 100 ml de agua y a continuación se disolvieron a 70°C. La disolución obtenida se esterilizó en autoclave a 0,5 bar (50 kPa) durante 45 minutos a 125°C. La gelatina esterilizada en autoclave se mezcló luego con disolución de quitosano-colágeno. Los aminoácidos y péptidos formados por la termohidrólisis pueden estabilizar las estructuras poliméricas del apósito para heridas.

A esta disolución se añadieron 0,1 ml de bigluconato de clorhexidina. La reticulación y la liofilización se realizaron como se ha representado en el Ejemplo 1.

Las esponjas obtenidas tienen una densidad específica de 0,012 a 0,016 g/cm³. La capacidad de sorción para agua asciende a del 5000 al 8000%.

El producto acabado se cortó, se envasó y se etiquetó. A continuación se realizó una esterilización por rayos gamma con una dosis de 1,5 Mrad.

5 Ejemplo 8

Se disolvieron 10 g de quitosano en 500 ml de agua desionizada que contenía 10 g de ácido succínico.

Se disolvieron 10 g de colágeno en 500 ml de agua desionizada que contenía 10 g de ácido succínico.

Ambas disoluciones se mezclaron y a continuación se dializaron contra agua a distintas relaciones de agua con respecto a disolución de polímero.

10 A esta disolución se añadieron 0,05 g de SOD y 80 ml de disolución de glicina al 2%. La reticulación y la liofilización se realizaron como se ha representado en el Ejemplo 1.

En la Tabla 5 están representadas las características de los productos fabricados.

Tabla 5: Influencia de la diálisis sobre las propiedades de apósitos para heridas.

Nº	Relación de disolución-agua	Duración de la diálisis, horas	Valor de pH de la disolución de partida	Valor de pH después de la diálisis	Valor de pH del extracto de agua	Actividad de SOD en % con respecto a SOD nativo
1	1:20	20	4,2	4,5	4,6	42 ± 10
2	1:50	20	4,2	4,7	4,9	68 ± 10
3	1:100	20	4,2	5,2	5,6	87 ± 10
4	1:100	10	4,2	4,7	4,8	63 ± 10
5	1:200	20	4,2	5,4	6,0	90 ± 10

15 La actividad de SOD se determinó mediante la inhibición de la reacción de quercitina. La mayor actividad de SOD la mostraron apósitos para heridas que se fabricaron mediante diálisis en una relación 1 : 100 y 1: 200 y 20 horas de duración.

Ejemplo 9

Las disoluciones de polímeros se prepararon como se ha representado en el Ejemplo 8.

20 Los apósitos para heridas se fabricaron con dos procedimientos distintos.

En un procedimiento se mezclaron disoluciones de quitosano y de colágeno y a continuación se dializaron.

En el otro procedimiento, disoluciones de quitosano y de colágeno se dializaron inicialmente por separado y luego se mezclaron.

25 A continuación, a las disoluciones obtenidas se añadieron 0,1 ml de bigluconato de clorhexidina, 40 ml de arginina al 2% y 2 g de glicerina.

La reticulación y la liofilización se realizaron como se ha representado en el Ejemplo 1.

Los apósitos para heridas formados eran de apariencia distinta. Los apósitos para heridas según el primer procedimiento eran elásticos y con buena porosidad, mientras que los apósitos para heridas según el segundo procedimiento eran no elásticos, polidispersos y con estructura superficial ondulada.

30 Prueba clínica del apósito para heridas según la invención.

Ejemplo 10

Para la prueba clínica se usaron apósitos para heridas estériles fabricados como en el Ejemplo 1.

Los estudios clínicos se realizaron en 29 pacientes de 26 a 92 años de edad para el tratamiento de heridas de distinta etiología (heridas crónicas, decúbito, heridas postraumáticas) que se encontraban en la fase de granulación.

35 Antes de la aplicación de los apósitos para heridas, las heridas se limpiaron conforme a la práctica habitual.

- 5 El envase de los apósitos para heridas se abrió con tijeras estériles. Los apósitos para heridas se cortaron entonces correspondientemente al tamaño de la herida con un exceso de 0,5 cm. El apósito para heridas recortado se presionó fijamente contra la base de la herida y adicionalmente se fijó con un agente de fijación habitual. Debido a la captación de exudado de la herida, los apósitos para heridas estaban blandos y mostraron una buena adhesión a la herida. En el tratamiento de heridas crónicas con apósitos para heridas que contenían superóxido dismutasa se observó un desarrollo normal del proceso de cicatrización:
- La base de la herida se limpió de restos de fibrina y se llenó con tejido granular de grano fino rosa.
- En la fase de epitelización, el apósito para heridas se mantuvo sobre la herida hasta la curación completa. Después de la eliminación del vendaje, la superficie de la herida epitelizada estuvo sin hiperqueratosis (sin cicatrices grandes).
- 10 En el tratamiento de heridas postraumáticas (después de autoplastia), los apósitos para heridas se aplicaron inmediatamente después de la formación de la herida. A este respecto se observó una acción hemostática. Los apósitos para heridas se mantuvieron sobre la herida hasta la epitelización completa.
- 15 En comparación con el control se observó un proceso de cicatrización acelerado. Se produjo una epitelización completa en quemaduras y heridas postraumáticas cuatro a cinco días antes. En la curación de heridas crónicas se detectó una reducción del 50% de la superficie y profundidad de la herida en promedio 10 - 15 días antes en comparación con el control (Tab. 6).
- En la aplicación de apósitos para heridas según la invención, la frecuencia de cambio de los apósitos para heridas se redujo aproximadamente el 30%. Esto también fue acogido positivamente por los pacientes.
- 20 Basándose en las observaciones clínicas se mostró una acción estimulante sobre procesos reparadores en la herida, especialmente en pacientes mayores con un proceso de curación retardado. No se observó ninguna infección o empeoramiento del proceso de curación.
- En la aplicación de apósitos para heridas según la invención, los pacientes no manifestaron molestias en relación con dolor, picazón o quemazón.
- 25 Además, se demostró una acción antihipóxica efectiva en los apósitos para heridas según la invención. Esta acción antihipóxica se basa probablemente en la presencia de ácido succínico y arginina que pueden normalizar el proceso respiratorio independientemente del aporte de oxígeno al tejido.
- En el control se observó un gran número de efectos secundarios desagradables (dolor, quemazón y picazón), especialmente en los primeros minutos después del tratamiento. Además, también se percibió como molesto el desagradable olor a ácido acético.

Tabla 6:

La eficiencia de la cicatrización después de la aplicación de apósitos para heridas según la invención y prototipos en pacientes con heridas crónicas y posttraumáticas.									
Diagnóstico	Número de pacientes	Apósito para heridas	Resultados						
			Adhesión a la superficie	Frecuencia de cambio del apósitos para heridas	Primera granulación	Tolerancia del apósito para heridas	Fin de la epitelización	Efectos secundarios	
A	19	Según la invención	+++	Cada 2-3 días	En el día 3 - 5	Dolor 0 Quemazón 1 Picazón 0	En el día 8 - 9	Ninguno	
		Comparación	++	Cada 2-3 días	En el día 4 - 7	Dolor 2 Quemazón 2 Picazón 0	En el día 12 - 15	Dermatitis alérgica - 1	
B	12	Según la invención	++	Cada 2 días	En el día 5 - 6	Dolor 0 Quemazón 0 Picazón 0	Reducción del 50% de la herida en el día 30 - 35	Ninguno	
		Comparación	++	Cada 2 días	En el día 8 - 10	Dolor 3 Quemazón 2 Picazón 3	En el día 40	Dermatitis alérgica - 3	

A- Heridas posttraumáticas (entre otras, después de dermatoplastia autóloga), **B-** Heridas crónicas por CVI

Ejemplo 11

Curación de heridas infectadas con apósitos para heridas del Ejemplo 3

- 5 Los estudios clínicos se realizaron en doce pacientes de 17 a 28 años de edad con heridas de mala curación que se habían producido debido a procesos supurativos e inflamatorios (gangrena, flebitis, entre otros). Como control se utilizaron apósitos para heridas del Ejemplo 1 basados en ácido acético. Después de la eliminación del pus y de tejido necrótico, los apósitos para heridas se aplicaron como en el Ejemplo 11 con cambio diario de los apósitos para heridas.
- 10 Las observaciones clínicas se realizaron en los primeros 10 a 15 días. Ya después de 5 a 7 días de uso de los apósitos para heridas según la invención, la base de la herida se limpió de restos de fibrina y se llenó con tejido granular de grano fino rosa.
- En los siguientes 4 a 5 días se redujo considerablemente la superficie de la herida y los defectos de tejido se llenaron con tejido granular fresco.
- En ocho pacientes se observó una epitelización en islas y bordes temprana aproximadamente tres días antes que en el control.
- 15 El análisis de los resultados, entre otras observaciones citológicas, ha mostrado que la aplicación de apósitos para heridas según la invención ha conducido a una estimulación de la reacción leucocitaria (aproximadamente 35% más que el control) y a la aceleración de los procesos de granulación y epitelización. No se observaron efectos secundarios negativos ni reacciones.

REIVINDICACIONES

- 1.- Apósito para heridas, caracterizado porque presenta de 19 a 56% de una o varias proteínas estructurales seleccionadas de colágeno, gelatina, derivados o mezclas de los mismos, 18 a 58% de uno o varios polisacáridos estructurales seleccionados de quitosano, derivados de quitosano o mezclas de los mismos, 0,5 a 10% de ácidos policarboxílicos/ácidos carboxílicos, que contienen adicionalmente a un grupo carboxilo uno o varios grupos funcionales seleccionados de carboxi, hidroxilo, amino, seleccionados de ácido láctico, ácido málico, ácido succínico, ácido malónico, ácido fumárico, ácido ascórbico, ácido glutámico, ácido salicílico, ácido pirrolidioncarboxílico o mezclas de los mismos, 0,1 a 15% de aminoácidos polifuncionales/aminoácidos seleccionados de arginina, metionina, prolina, taurina, glicina, alanina, cisteína, N-acetilcisteína o mezclas de los mismos, 0 a 10% de sustancias activas, 0 a 30% de coadyuvantes y/o aditivos y 0,2 a 5% de reticulantes.
- 2.- Apósito para heridas según la reivindicación 1, caracterizado porque los ácidos policarboxílicos/ácidos carboxílicos se seleccionan de ácido succínico, ácido glutámico, ácido malónico, ácido málico, ácido pirrolidioncarboxílico, ácido láctico.
- 3.- Apósito para heridas según la reivindicación 1 ó 2, caracterizado porque los aminoácidos polifuncionales/aminoácidos se seleccionan de glicina, glutamina, alanina, arginina, prolina, taurina.
- 4.- Procedimiento para la fabricación de un apósito para heridas que contiene 19 a 56% de una o varias proteínas estructurales seleccionadas de colágeno, gelatina, derivados o mezclas de los mismos, 18 a 58% de uno o varios polisacáridos estructurales seleccionados de quitosano, derivados de quitosano o mezclas, 0,5 a 10% de ácidos policarboxílicos/ácidos carboxílicos que contienen adicionalmente a un grupo carboxilo uno o varios grupos funcionales seleccionados de carboxi, hidroxilo, amino, seleccionados de ácido láctico, ácido málico, ácido succínico, ácido malónico, ácido fumárico, ácido ascórbico, ácido glutámico, ácido salicílico, ácido pirrolidioncarboxílico o mezclas de los mismos, 0,1 a 15% de aminoácidos polifuncionales/aminoácidos seleccionados de arginina, metionina, prolina, taurina, glicina, alanina, cisteína, N-acetilcisteína o mezclas de los mismos, 0 a 10% de sustancias activas, 0,2 a 5% de reticulantes, 0 a 30% de coadyuvantes y/o aditivos, caracterizado porque a una disolución acuosa de polisacárido se añade(n) el (los) ácido(s) policarboxílico(s)/ácido(s) carboxílico(s) y a una disolución acuosa de una proteína estructural se añade(n) el mismo (los mismos) ácido(s) policarboxílico(s)/ácido(s) carboxílico(s) u otros, a continuación se dializan ambas disoluciones de polímeros conjuntamente y entonces se añaden aminoácido(s) polifuncional(es)/aminoácido(s), y dado el caso principios activos, reticulantes, aditivos y/o coadyuvantes a la mezcla de reacción dializada.
- 5.- Procedimiento según la reivindicación 4, caracterizado porque como proteínas estructurales se usa colágeno de distinto origen.
- 6.- Procedimiento según la reivindicación 5, caracterizado porque como proteínas estructurales se usa gelatina de tipo A y tipo B.
- 7.- Procedimiento según la reivindicación 6, caracterizado porque se usa gelatina de alto peso molecular con un valor Bloom superior a 200.
- 8.- Procedimiento según una de las reivindicaciones 4 a 7, caracterizado porque como polisacárido se usa quitosano, sus derivados o mezclas solubles en agua.
- 9.- Procedimiento según una de las reivindicaciones 4 a 8, caracterizado porque se usa quitosano con una masa molecular superior a 200 kDa.
- 10.- Procedimiento según una de las reivindicaciones 4 a 9, caracterizado porque como ácido policarboxílico/ácido carboxílico se usan ácido málico, ácido succínico, ácido malónico, ácido glutámico, ácido pirrolidioncarboxílico o mezclas de los mismos.
- 11.- Procedimiento según la reivindicación 4, caracterizado porque se usan ácidos policarboxílicos/ácidos carboxílicos con respecto a sustancias de alto peso molecular en una relación 1 : 4 a 2 : 1.
- 12.- Procedimiento según la reivindicación 4 a 11, caracterizado porque las disoluciones de polisacáridos estructurales, especialmente quitosano, y proteínas estructurales se mezclan entre sí al menos 12 horas antes de la diálisis.
- 13.- Procedimiento según la reivindicación 4 a 12, caracterizado porque la diálisis contra agua se desarrolla con una relación de volumen de disolución de polímero con respecto a agua de al menos 1:100 en el transcurso de más de 16 horas.
- 14.- Procedimiento según la reivindicación 4 a 13, caracterizado porque los aminoácidos polifuncionales/aminoácidos

se añaden a las disoluciones dializadas.

15.- Procedimiento según la reivindicación 14, caracterizado porque como aminoácidos se usan arginina, prolina, taurina, glicina, alanina, glutamina o mezclas de los mismos.

5 16.- Procedimiento según la reivindicación 4, caracterizado porque como reticulante bifuncional se usa glutaraldehído.

17.- Procedimiento según la reivindicación 4 a 16, caracterizado porque como sustancias farmacológicamente activas se usa superóxido dismutasa y/o catalasa de distinto origen.

18.- Procedimiento según la reivindicación 17, caracterizado porque se usa superóxido dismutasa y/o catalasa en una concentración del 0,001 al 0,1% con respecto a la base de polímero.

10 19.- Procedimiento según la reivindicación 4 a 17, caracterizado porque como sustancia farmacológicamente activa se usa β -carotina de distinto origen.

20.- Procedimiento según la reivindicación 19, caracterizado porque como sustancia farmacológicamente activa se usa β -carotina en forma liposómica.

15 21.- Procedimiento según la reivindicación 19 ó 20, caracterizado porque la β -carotina se usa en una concentración del 0,001 al 0,05% con respecto a la base de polímero.

22.- Procedimiento según las reivindicaciones 4 a 21, caracterizado porque como coadyuvantes se usan sustancias antibacterianas seleccionadas de clorhexidina, Polysept, polihexanida, plastificantes, sustancias de alto peso molecular que garantizan la adhesión a la superficie de la herida y/o coadyuvantes que influyen en la eliminación de sustancias farmacéuticamente activas.

20 23.- Procedimiento según la reivindicación 22, caracterizado porque se usan sustancias antibacterianas en una concentración del 0,01 al 0,6% con respecto a la base de polímero.

24.- Procedimiento según la reivindicación 22 ó 23, caracterizado porque los aditivos/coadyuvantes se añaden al dializado en una concentración del 10 - 30%.

25 25.- Procedimiento según la reivindicación 24, caracterizado porque como coadyuvantes se usan poli(alcohol vinílico) y polivinilpirrolidona.

26.- Uso de un apósito para heridas según la reivindicación 1 a 3 o que puede fabricarse según la reivindicación 4 a 25 para la preparación de un agente para la curación acelerada de heridas postraumáticas y quirúrgicas.

27.- Uso de un apósito para heridas según la reivindicación 1 a 3 o que puede fabricarse según la reivindicación 4 a 25 para la preparación de un agente para la curación acelerada de quemaduras de primer a tercer grado.

30 28.- Uso de un apósito para heridas según la reivindicación 1 a 3 o que puede fabricarse según la reivindicación 4 a 25 para la preparación de un agente para la curación acelerada de heridas infectadas o crónicas de distinta etiología.

29.- Uso de un apósito para heridas según la reivindicación 1 a 3 o que puede fabricarse según la reivindicación 4 a 25 para la preparación de un agente para la curación acelerada de heridas postraumáticas y quirúrgicas, infectadas, crónicas o de quemaduras.

35

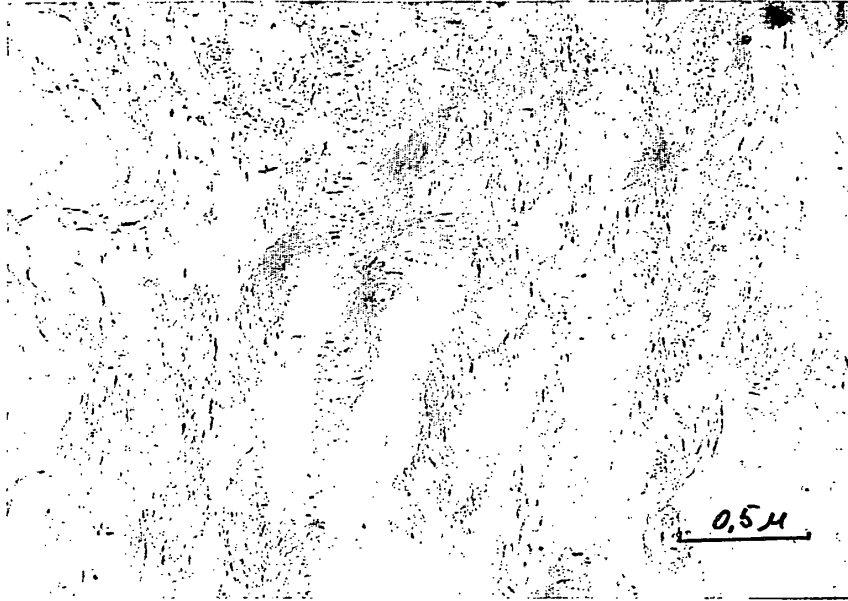


Fig. 1

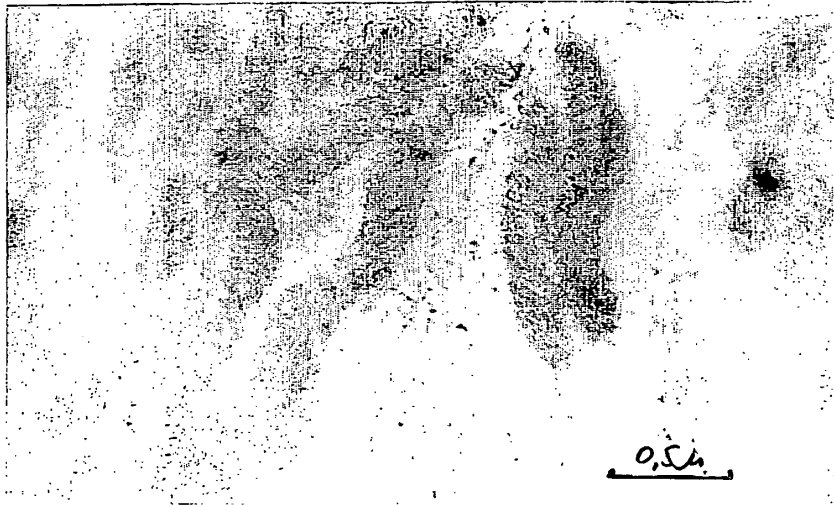


Fig. 2

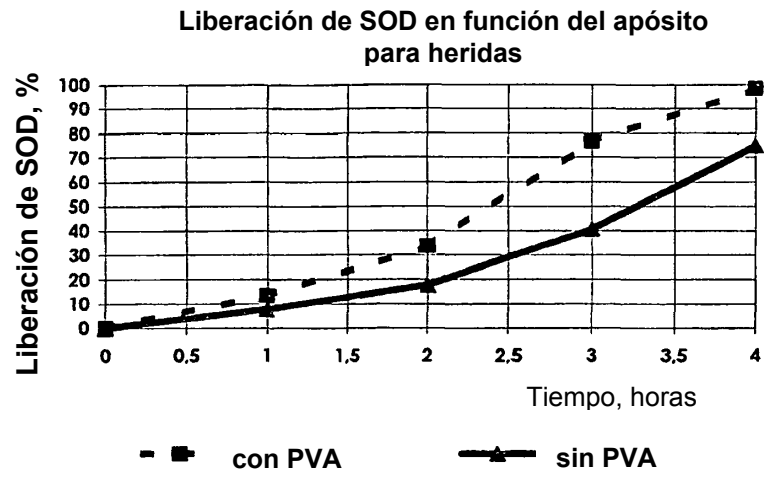


Fig. 3