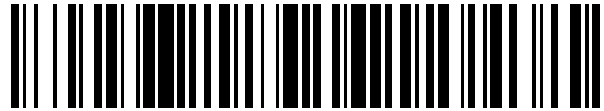


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 494 316**

51 Int. Cl.:

A61K 31/7028 (2006.01)
A61K 31/795 (2006.01)
A61L 15/44 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)
A61L 15/22 (2006.01)
A61F 13/00 (2006.01)
A61K 8/81 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.05.2008 E 08805836 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.05.2014 EP 2148686**

54 Título: **Ingrediente activo novedoso en cicatrización y uso del mismo**

30 Prioridad:

25.05.2007 FR 0755271

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

15.09.2014

73 Titular/es:

**LABORATOIRES URGO (100.0%)
42, RUE DE LONGVIC
21300 CHENOVE, FR**

72 Inventor/es:

LAURENSOU, CHRISTELLE

74 Agente/Representante:

GARCÍA-CABRERIZO Y DEL SANTO, Pedro

ES 2 494 316 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

Ingrediente activo novedoso en cicatrización y uso del mismo

5

Un objetivo de la presente invención, es esencialmente un uso novedoso de un compuesto que es un copolímero de una sal de ácido 2-metil-2-[(1-oxo-2-propenil)amino]-1-propansulfónico y de éster de 2-hidroxiethylpropenoato.

10

Más específicamente, la presente invención se refiere al uso de este compuesto como un agente para promover y/o acelerar la proliferación y/o diferenciación de fibroblastos, en particular para la preparación de una composición destinada para promover la curación, o en forma alternativa, para la preparación de una composición destinada para usarse *ex vivo* para generar células para injertos de piel.

15

La invención se refiere también a un apósito para el tratamiento de heridas que contiene este compuesto, solo o en combinación con otras sustancias activas.

20

Se sabe que heridas abiertas, que incluyen quemaduras, úlceras, úlceras neuropáticas, úlceras venosas o arteriales, úlceras del diabético, úlceras por decúbito, ampollas, heridas exudativas y lesiones dermoepidérmicas superficiales, que pueden ser crónicas o agudas, representan la vasta mayoría de las heridas.

25

Uno de los objetivos primarios para tratar la herida, cualquiera que sea la naturaleza u origen de la misma, es cerrar esta herida.

Además, se sabe que la curación de la herida es un fenómeno biológico natural, siendo capaces los tejidos de humanos y animales de reparar lesiones localizadas por medio de procesos de reparación y regeneración que son específicos de los mismos.

30

En general, la curación de la herida ocurre en tres fases: la fase de detersión, la fase de granulación y la fase de epitelización, cada una de estas fases siendo caracterizada por actividades celulares específicas que hacen que el proceso de reparación progrese de acuerdo con secuencias cronológicas precisas.

35

La fase de detersión se caracteriza por la aparición de fenómenos inflamatorios tempranos. Inmediatamente después del trauma, comienzan secreciones que se originan de vasos sanguíneos y linfáticos. Se induce la coagulación por la activación de la trombocinasa, que es liberada con la formación correlativa de fibrina. Después de aproximadamente 10 minutos, comienza la exudación, que proveerá defensa contra la infección y detersión de la herida. Aproximadamente 4 días después, la lesión comienza la fase proliferativa. El organismo comienza a reemplazar la pérdida de sustancia por un nuevo tejido. Para este propósito, los fibroblastos producen primeramente mucopolisacáridos que servirán como una matriz para el desarrollo de las fibras de colágena del tejido conectivo. Entre el sexto y décimo día, en promedio, ocurre la fase de diferenciación. Las fibras de colágena comienzan la maduración. La herida se retrae bajo la influencia de células particulares, los miofibroblastos. El tejido de granulación gradualmente llega a ser privado de agua, y contiene cada vez menos vasos, de esta manera llegando a ser más firme. Es convertido entonces en tejidos cicatrizales los cuales, a su vez, promoverán la retracción de la cicatriz.

40

45

Es durante el curso de la segunda fase de curación, conocida como fase de granulación, que los fibroblastos desempeñarán una función importante. La fase de granulación dura aproximadamente 3 semanas y, durante el proceso de curación normal, la epitelización está también en camino. Los fibroblastos se multiplican en la herida, como lo hacen las células precursoras de queratinocitos, a partir de los bordes de la herida, de los folículos pilosos y de las glándulas sudoríparas. Después de 3 días, los fibroblastos producen colágena, cuyas fibras llegan a ser orientadas de acuerdo con las fuerzas a las cuales son sometidas. Su proliferación es gobernada por un cierto número de factores. Como regla general, esta proliferación es interrumpida cuando el tejido de granulación ha reemplazado la pérdida de sustancia y cuando la proliferación de fibroblastos se ha elevado hasta el nivel de los bordes.

50

55

El fibroblasto es uno de los agentes principales en el proceso de curación. De hecho, alrededor del sexto día, más de la mitad de los fibroblastos presentes en la herida se transforman en miofibroblastos. Estas células se caracterizan por la presencia, en su citoplasma, de miofibrillas contráctiles que causan la contracción de la herida y, en consecuencia, una disminución en el área de superficie de la herida y aceleración del cierre de la misma.

60

Estas células tienen por lo tanto una función esencial en la contracción de la herida, la cual es un fenómeno importante del cierre espontáneo en heridas de cavidades. Más de 40% de los miofibroblastos (que contienen una proteína contráctil, la actina alfa del músculo liso) están presentes en el tejido de granulación. Cuando la herida ha sanado, estas

células mueren, aunque no se entiende por completo la señal que desencadena su desaparición.

El fibroblasto es también una célula clave de la fase proliferativa. El fibroblasto secretará colágena tipo III, y entonces subsiguientemente colágena tipo I, y sulfato de heparitina, los cuales son constituyentes fundamentales de la matriz extracelular dérmica, pero también ácido hialurónico, sulfato de condroitina, fibronectina y una colagenasa, resultando de esta manera en el cierre de la herida.

El proceso de curación, incluso para heridas o aberturas pequeñas, puede tardar un período de unas cuantas horas, unos cuantos días o unas cuantas semanas, o incluso más, bajo ciertas circunstancias, tal como en el caso de ulceración, en donde la herida puede persistir por períodos mucho más largos, es decir, meses o años.

Durante este período de curación, ya sea que dure un tiempo corto o largo, la herida puede estar sujeta a invasiones de cualquier tipo (organismos patógenos o sustancias extrañas), hasta que la regeneración de un nuevo tejido cierre la abertura por completo.

Para prevenir cualquier infección, la herida se trata normalmente para remover cualquier contaminante (polvo, restos, etc.), capaces de introducir una sustancia patógena en la región del área dañada. Debridación de los tejidos en esta área y desinfección se realizan subsiguientemente. En ciertos casos, un cierto número de suturas se insertan también para facilitar el cierre de la herida. Una vez que estos pasos se han llevado a cabo, la herida se mantiene en un ambiente favorable para la curación. Para hacer esto, se usan varios tipos de apósitos que previenen la intrusión de patógenos y/o la proliferación de los mismos.

Cuando se trate una herida, es por lo tanto importante promover el fenómeno de cierre de la herida para prevenir, por ejemplo, la invasión de la herida por microorganismos o sustancias extrañas y, en consecuencia, la infección de la herida. Como resultado, es necesario tener medios para inducir o promover el proceso de curación de la herida.

Para inducir o acelerar la curación de la herida, puede administrarse un cierto número de agentes activos. Estos agentes activos pueden actuar a varios niveles y en las varias fases de la curación. Difieren de acuerdo con la etapa y el tipo de herida que se va a tratar. Estos agentes activos pueden ser, por ejemplo, factores de crecimiento de fibroblastos y/o queratinocitos (tal como el factor básico de crecimiento de fibroblastos) o pseudofactores de crecimiento (tal como la manosa-6-fosfato), glucosaminoglucanos (tales como el ácido hialurónico, la colágena, etc.), hormonas (tales como estradiol, DHEA, etc.), polisacáridos (tal como dextrán), etc.

Se ha descubierto, enteramente en forma sorprendente e inesperadamente, que también es posible promover y/o acelerar la proliferación y/o diferenciación de fibroblastos y, en consecuencia, promover la curación por medio de un compuesto que es un copolímero de una sal de ácido 2-metil-2-[(1-oxo-2-propenil)amino]-1-propansulfónico y de éster de 2-hidroxiethylpropenoato.

De preferencia, la sal de ácido 2-metil-2-[(1-oxo-2-propenil)amino]-1-propansulfónico mencionada anteriormente es una sal de sodio.

Este copolímero es un producto que se conoce como tal en particular en el campo cosmético debido a sus propiedades de emulsificación-estabilización y a su buena capacidad espesante.

Dicho producto es vendido, por ejemplo, por la compañía SEPPIC bajo el nombre de fábrica Sepinov EMT 10[®].

De esta manera, de conformidad con un primer aspecto, un objetivo de la presente invención es el uso de un copolímero de una sal de ácido 2-metil-2-[(1-oxo-2-propenil)amino]-1-propansulfónico y de éster de 2-hidroxiethylpropenoato, en la preparación de una composición destinada para promover y/o acelerar la proliferación de fibroblastos *in vivo* o *ex vivo*, y en particular en la preparación de una composición destinada para promover la curación.

El copolímero mencionado anteriormente puede usarse *in vivo* o *ex vivo*.

Como un ejemplo de una aplicación *ex vivo*, puede hacerse mención del uso de este compuesto en la preparación de un medio de cultivo para promover la proliferación de fibroblastos. Este uso puede demostrar ser útil para injertos de hojas dérmicas o dermoepidérmicas autólogos. Esto es porque, en este tipo de injerto, se usan técnicas de cultivo de células para obtener un área de superficie suficiente de piel de una muestra pequeña tomada del paciente mismo. El uso del copolímero de conformidad con la presente invención hace posible acelerar la proliferación de fibroblastos, y puede demostrar por lo tanto ser útil en este tipo de tratamiento.

En el contexto de su aplicación *in vivo*, el copolímero mencionado anteriormente puede usarse en la preparación de una

composición que permitirá que sea aplicada directamente sobre la herida y el área circundante, o también sobre las membranas mucosas, en forma ventajosa por aplicación tópica. De preferencia, este copolímero es integrado en un apósito.

5 En general, el copolímero mencionado anteriormente puede usarse solo o en combinación con otras sustancias activas que hacen posible inducir o acelerar la curación, o que pueden tener una función favorable en el tratamiento de heridas tales como, por ejemplo, agentes antimicrobianos o mitigantes del dolor. Dicha combinación de agentes activos permite un tratamiento médico combinado de la herida. Entre las sustancias activas que pueden usarse en el contexto de la invención, puede hacerse mención, a manera de ejemplos, de agentes bactericidas o bacteriostáticos (cloramina, clorhexidina, sales de plata, sales de zinc, metronidazol, neomicina, etc.), agentes para promover la curación (hormonas, péptidos, etc.), enzimas para promover la detersión de heridas (pepsina, tripsina, etc.), inhibidores de proteasa o metaloproteasa, mitigantes del dolor o anestésicos locales (lidocaína, cincocaína) o fármacos antiinflamatorios no esteroidales (ibuprofeno, ketoprofeno, fenoprofeno, diclofenaco).

10 De preferencia, el copolímero mencionado anteriormente se usará en combinación con un sacárido sulfatado o una sal o complejo de sacárido sulfatado. Este sacárido sulfatado puede ser, por ejemplo, un octasulfato de sacarosa en la forma de un complejo o de una sal con un metal tal como Na, K, Ca, Mg, Ba, Al, Zn, Cu, Zr, Ti, Mn u Os, o con una base orgánica, tal como un aminoácido. Se han obtenido resultados particularmente ventajosos cuando el copolímero mencionado anteriormente se usa en combinación con octasulfato potásico de sacarosa, el cual es un ingrediente activo conocido por su acción en el proceso de curación.

15 Estudios de proliferación *in vitro* han hecho posible mostrar, inesperadamente, que un copolímero de una sal de ácido 2-metil-2-[(1-oxo-2-propenil)amino]-1-propan sulfónico y de éster de 2-hidroxietilpropenoato, exhibe una actividad sobre la proliferación de fibroblastos a una dosis muy baja. Específicamente, dicha actividad se ha observado cuando el copolímero está presente en el medio de cultivo a una concentración de 0.00064 mg/mL.

20 Se ha mostrado también que, en particular en forma ventajosa, el copolímero mencionado anteriormente exhibe también una actividad durante varios días. Pruebas llevadas a cabo *in vivo* han hecho posible detectar una actividad sobre la proliferación de fibroblastos 72 horas después de la incorporación de dicho copolímero en el medio de cultivo. Esto es particularmente ventajoso cuando el copolímero se incorpora en un apósito. Específicamente, el mismo apósito puede usarse por varios días mientras que al mismo tiempo se mantiene activo sin la necesidad de que sea cambiado.

25 En general, el copolímero usado en el contexto de la presente invención puede integrarse en cualquier tipo de composición tal como, en particular, una solución, una crema, un gel, una masa, en particular una masa elastomérica, o un apósito. El copolímero puede integrarse en una compresa. Se pretende que el término "compresa" signifique cualquier tipo de material absorbente usado normalmente en apósitos tales como, por ejemplo, materiales textiles que pueden ser no tejidos absorbentes (basados en no tejidos viscosos, por ejemplo), posiblemente combinados con no tejidos no absorbentes (tales como fibras de poliéster). Esto puede incluir también fibras superabsorbentes (tales como las fibras Lanseal® vendidas por Toyobo Co., Ltd.) o espumas de poliuretano.

30 En particular, este copolímero puede estar presente en la masa que constituye un apósito o sobre una capa separada del apósito o, en forma alternativa, en un recubrimiento que cubre la superficie del apósito, destinado para entrar en contacto con la herida para tratarla.

35 Se pretende en la presente que el término "apósito" abarque cualquier tipo de apósitos conocidos, y de preferencia apósitos de interfaz. Dichos apósitos son vendidos, por ejemplo, bajo los nombres de fábrica Tulle Gras® (por Solvay Pharma), Physiotulle® (por Coloplast) o también Urgotul® (por Laboratoires Urgo) y descritos en la patente EP 1 143 895. Estos apósitos de interfaz están generalmente en la forma de una malla o de una red recubierta con una masa, normalmente una masa elastomérica. Pueden constituirse también de una masa sin una malla o red, teniendo la forma de una hoja que puede tener o no agujeros pasantes, dependiendo del tipo de herida a la cual el apósito se aplica (una hoja que tenga agujeros pasantes se usará de preferencia sobre una herida exudativa cuando la masa tenga sólo una baja capacidad absorbente o ninguna capacidad absorbente, los agujeros permitiendo de esta manera la evacuación de los exudados de la herida).

40 La presente invención encuentra también aplicación en la preparación de apósitos basados en hidrogeles o en hidrocoloides, en los cuales el copolímero mencionado anteriormente es incorporado. Apósitos conocidos basados en hidrocoloides son vendidos, por ejemplo, bajo los nombres Algoplaque® (por Laboratoires Urgo), Duoderm® (por Convatec) y Comfee® (por Coloplast). Dichos apósitos se describen en las siguientes solicitudes de patente: FR 2 392 076, FR 2 495 473 y WO 98/10801, y EP 264 299.

45 El copolímero usado en el contexto de la presente invención puede incorporarse en un elemento absorbente tal como

una compresa o una espuma, por ejemplo, depositándolo sobre la superficie destinada para entrar en contacto con la herida, como se describe en la solicitud de patente WO 2006/007844.

5 La presente invención encuentra también aplicación en la preparación de apósitos de interfaz combinados con una capa absorbente tal como una espuma o una compresa, o de un hidrocoloide combinado con una espuma absorbente. Dichos apósitos son conocidos y son vendidos, por ejemplo, bajo los nombres de fábrica UrgotulDuo® y Cellosorb® (por Laboratoires Urgo). En dichos apósitos, el copolímero mencionado anteriormente puede incorporarse en la masa y/o en la capa absorbente.

10 Los apósitos de interfaz usados de preferencia en el contexto de la presente invención están constituidos de una masa elastomérica, es decir, constituidos de uno o más elastómeros seleccionados de copolímeros de bloque de poli(estireno-olefina-estireno), y uno o más compuestos seleccionados de plastificadores, resinas espesantes y, si es necesario, antioxidantes.

15 Dichas masas elastoméricas son bien conocidas por los expertos en la técnica y se describen, por ejemplo, en "Advances in Pressure Sensitive Adhesive Technology" editado por Donatas Satas en abril de 1995 en el capítulo 7 "Wound dressings" págs. 158 a 171.

20 Cuando se integra en un apósito, tal como un apósito de interfaz, el copolímero mencionado anteriormente puede usarse a una concentración de 1% a 5% en peso respecto al peso de la masa elastomérica. Se ha mostrado que dicha concentración es suficiente para activar la proliferación de fibroblastos y, en consecuencia, para promover la curación.

25 En general, el copolímero mencionado anteriormente estará presente en un apósito en una cantidad que puede estar entre 0.1% y 20% en peso respecto al peso de la masa en la cual es incorporado, y de preferencia entre 1% y 5% en peso.

De conformidad con un segundo aspecto, la presente invención pretende abarcar los apósitos descritos anteriormente que incorporan un copolímero de una sal de ácido 2-metil-2-[(1-oxo-2-propenil)amino]-1-propansulfónico y de éster de 2-hidroxietilpropenoato.

30 Para demostrar la actividad del copolímero mencionado anteriormente sobre fibroblastos, se llevó a cabo un estudio *in vitro*, usando dos tipos de experimentos:

35 1. El copolímero solo o en combinación con una sustancia activa (en el presente caso, octasulfato potásico de sacarosa) se añadió directamente al medio de cultivo de fibroblastos a varias concentraciones.

En este caso, varias diluciones del copolímero, solo o en combinación con el octasulfato potásico de sacarosa, se prepararon de esta manera y se añadieron al medio de cultivo.

Diluciones del copolímero Sepinov EMT 10 a 0.011 mg/mL, y de octasulfato potásico de sacarosa a 0.00064 mg/mL, se pusieron a prueba de esta manera en un medio de cultivo que comprendía fibroblastos.

40 2. El copolímero solo o en combinación con una sustancia activa (en el presente caso, octasulfato potásico de sacarosa) se integró en la matriz de un apósito de interfaz, y el apósito se aplicó entonces a las cavidades de cultivo que contenían a los fibroblastos.

45 En este caso, varios apósitos de interfaz que contenían al copolímero a varias concentraciones, en combinación o no en combinación con octasulfato potásico de sacarosa, se produjeron de conformidad con el método descrito a continuación.

A manera de comparación, un apósito de interfaz que no contenía ninguno de estos dos agentes activos, se produjo y se puso a prueba también.

Método para producir los apósitos puestos a prueba

50 a. Producción de masas elastoméricas

Se produjeron varias masas elastoméricas (ejemplos 1 a 5) usando los siguientes constituyentes, en las proporciones, en peso, mencionadas en el cuadro 1:

- Elastómero: copolímero de bloque de poli(estireno-etileno-butileno-estireno) (abreviado como SEBS); Kraton G 1654 y G 1651 vendidos por la compañía Kraton;
- 55 - plastificador: aceite mineral: Ondina 917 vendido por la compañía Shell;
- antioxidante: Irganox 1010 vendido por la compañía Ciba Specialty Chemicals;
- sustancia grasa: petrolato: petrolato Codex A vendido por Aiglon;
- hidrocoloide: carboximetilcelulosa de sodio: CMC Blanose 7H4XF vendida por la compañía Hercules;
- sustancia activa adicional: octasulfato potásico de sacarosa: vendido por la compañía Euticals;
- 60 - copolímero de una sal de ácido 2-metil-2-[(1-oxo-2-propenil)amino]-1-propansulfónico y de éster de 2-

ES 2 494 316 T3

hidroxietilpropenoato: Sepinov EMT 10 vendido por la compañía SEPPIC.

La masa basada en elastómero se preparó por mezclado en un mezclador de hoja en Z a una temperatura de punto de referencia de 155°C.

- 5 1. Los elastómeros de triple bloque de estireno-etilenbutileno-estireno se mezclan con la mitad del aceite mineral y con el antioxidante.
 2. A 30 minutos, se añade el petrolato a la mezcla.
 3. A 40 minutos, se añade el resto del aceite mineral.
 4. A 55 minutos, se añade a la mezcla la carboximetilcelulosa de sodio, en donde sea adecuado, los agentes activos.
- El mezclador se vacía a 70 minutos.

10 Se produjeron apósitos de interfaz constituidos de una malla recubierta con una masa elastomérica usando las masas elastoméricas mencionadas anteriormente.

15 Más específicamente, se usó aquí una malla formada de una marquissete termofraguada hecha de hilos de poliéster (terefalato de polietileno) de 33 decitex en las direcciones de la urdimbre y trama, teniendo células de malla cuadradas con una abertura de aproximadamente 0.8 a 1 mm² (malla 55 vendida por la compañía MDB Texinov).

20 Esta malla se recubrió con una capa de masa elastomérica fundida a 135 a 145°C, y entonces se removió el exceso por paso entre dos cilindros fijos que tenían un espacio de 200 µm entre los mismos. La tira obtenida de esta manera fue cortada y combinada entonces con una película de poliéster protectora de 23 µm de espesor, sobre cada uno de sus lados, formando de esta manera apósitos individuales empacados en bolsas impermeables, y esterilizados bajo radiación β a 25 kGy.

25

CUADRO 1

Constituyentes	Ejemplo 1	Ejemplo 2	Ejemplo 3	Ejemplo 4	Ejemplo 5
Aceite mineral (Ondina 917)	75	74	70	62.38	69.9
S-EB-S (Kraton G 1651)	4.9	4.9	4.9		
S-EB-S (Kraton G 1654)				6	6
Antioxidante (Irganox 1010)	0.1	0.1	0.1	0.12	0.1
Petrolato (petrolato Codex A)	5	5	5	5	5
Carboximetilcelulosa (CMC Blanoze 7H4XF)	15	15	15	14	14
Sepinov EMT 10		1	5	5	5
Octasulfato potásico de sacarosa				7.5	

El efecto del copolímero de sal de ácido 2-metil-2-[(1-oxo-2-propenil)amino]-1-propansulfónico y de éster de 2-hidroxiethylpropenoato sobre la proliferación de fibroblastos, se determinó de acuerdo con el siguiente protocolo.

Demostración de la actividad del copolímero mencionado anteriormente sobre la proliferación de fibroblastos:

5

Células usadas:

Tipo: Grupo de fibroblastos de dermis humana normal (NHDF) R9PF2

Cultivo: 37°C, CO₂ a 5%

Medio de cultivo:

10 DMEM (medio de Eagle modificado de Dulbecco, Invitrogen 21969035)

L-glutamina 2 mM (Invitrogen 25030024)

50 UI/mL de penicilina (Invitrogen 15070063)

Suero de ternera fetal a 10% (en v/v, Invitrogen 10270098).

15 Productos puestos a prueba:

Se pusieron a prueba apósitos que tenían el tamaño de las cavidades, preparados como se describió previamente usando las masas elastoméricas de los ejemplos 1 a 5, y también diluciones del copolímero Sepinov EMT 10 a 0.011 mg/mL, y de octasulfato potásico de sacarosa a 0.00064 mg/mL.

20 Efectos sobre la proliferación:

Los fibroblastos se sembraron en placas de 12 cavidades a baja densidad (60% de confluencia), y entonces las células se trataron con las diluciones, o piezas de apósitos se aplicaron a estas placas y se mantuvieron en su lugar por medio de un tapón (denominado "prueba"). Se usó un control sin apósito, sin dilución pero con tapón (denominado "control").

25 Las células se incubaron entonces por 24 horas, 48 horas y 72 horas. Para cada tiempo de incubación, se añadió timidina tritiada ([metil-3H]-timidina, Amersham TRK 686, 2.5 µCi/mL como concentración final) durante las últimas 24 horas de incubación, y entonces el ADN de las células de las capas de células se extrajo y se purificó, y se hizo el conteo de la radiactividad incorporada en el ADN usando un contador de escintilación.

Los resultados obtenidos se expresan como conteos por minuto (cpm), y entonces como porcentaje respecto al control, de acuerdo con la siguiente fórmula:

30

$$\%_{\text{control}} = (\text{cpm}_{\text{prueba}} / \text{cpm}_{\text{control}}) \times 100$$

en donde:

cpm_{prueba}: número de conteos por minuto obtenidos con la prueba

cpm_{control}: número de conteos por minuto obtenidos con el control.

Todos los experimentos se llevaron a cabo por triplicado.

35

Los resultados obtenidos se dan en los cuadros 2 a 4 siguientes.

CUADRO 2

Resultados del estudio de la proliferación de NHDF después de la incorporación de timidina tritiada a 24 horas

40

Tratamiento	% _{control}
Control	100
Apósito de conformidad con el ejemplo 1	130
Apósito de conformidad con el ejemplo 2	196

45

CUADRO 3

Resultados del estudio de la proliferación de NHDF después de la incorporación de timidina tritiada a 48 horas

50

Tratamiento	% _{control}
Control	100
Apósito del ejemplo 1	181
Apósito del ejemplo 2	260
Apósito del ejemplo 3	506
Apósito del ejemplo 4	456
Apósito del ejemplo 5	243
Octasulfato potásico de sacarosa a 0.011 mg/mL	106
Sepinov EMT 10 a 0.00064 mg/mL	125
Octasulfato potásico de sacarosa a 0.011 mg/mL y Sepinov EMT 10 a 0.00064 mg/mL	152

CUADRO 4

Resultados del estudio de la proliferación de NHDF después de la incorporación de timidina tritiada a 72 horas

	Tratamiento	% _{control}
5	Control	100
	Apósito de conformidad con el ejemplo 1	150
	Apósito de conformidad con el ejemplo 2	120
	Apósito de conformidad con el ejemplo 3	493
	Apósito de conformidad con el ejemplo 4	292
10	Sepinov EMT 10 a 0.00064 mg/mL	147

15 Estos experimentos *in vitro* hacen posible de esta manera demostrar la función del copolímero Sepinov EMT 10 sobre la proliferación de fibroblastos, y también la actividad combinada de este copolímero y de octasulfato potásico de sacarosa sobre estas mismas células.

El efecto obtenido es particularmente ventajoso cuando el copolímero Sepinov EMT 10 se integra en una masa elastomérica a una concentración de 5% de la masa total, siendo ésta después de 48 horas y 72 horas de la puesta en contacto con el medio de cultivo de células.

20 El copolímero usado solo o como una dilución en el medio de cultivo de células a una concentración muy baja (0.00064 mg/mL), promovió significativamente también la proliferación de fibroblastos.

También fue posible observar que, en forma sorprendente, cuando el copolímero Sepinov EMT 10 se usa en combinación con octasulfato potásico de sacarosa, ocurre un efecto de sinergia sobre la proliferación de fibroblastos. Esta sinergia se observó en particular cuando el octasulfato potásico de sacarosa se añade al medio de cultivo a una concentración de 0.011 mg/mL y el copolímero Sepinov EMT 10 a una concentración de 0.00064 mg/mL.

25 El copolímero usado de conformidad con la presente invención es por lo tanto particularmente ventajoso para el tratamiento de heridas, y en particular para promover la curación, especialmente cuando se incorpora en un apósito.

REIVINDICACIONES

- 5 1.- El uso de un copolímero de una sal de ácido 2-metil-2-[(1-oxo-2-propenil)amino]-1-propansulfónico y de éster de hidroxietilpropenoato, en la preparación de una composición destinada para promover y/o acelerar la proliferación de fibroblastos *in vivo* o *ex vivo*.
- 10 2.- El uso como se reclama en la reivindicación 1, en la preparación de una composición destinada para promover la curación.
- 3.- El uso como se reclama en la reivindicación 1 ó 2, en donde dicho copolímero se combina con una o más sustancias activas.
- 15 4.- El uso como se reclama en una de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicho copolímero se combina con un sacárido sulfatado, de preferencia octasulfato potásico de sacarosa.
- 20 5.- El uso como se reclama en una de las reivindicaciones 1 a 4, en donde dicha sal de ácido 2-metil-2-[(1-oxo-2-propenil)amino]-1-propansulfónico es una sal de sodio.
- 6.- Un apósito para el tratamiento de heridas, que contiene un copolímero de una sal de ácido 2-metil-2-[(1-oxo-2-propenil)amino]-1-propansulfónico y de éster de 2-hidroxietilpropenoato.
- 25 7.- El apósito de conformidad con la reivindicación 6, caracterizado además porque el copolímero mencionado anteriormente se combina con una o más sustancias activas.
- 8.- El apósito de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado además porque la sustancia activa mencionada anteriormente es un sacárido sulfatado, de preferencia octasulfato potásico de sacarosa.
- 30 9.- El apósito de conformidad con una de las reivindicaciones 6 a 8, caracterizado además porque el copolímero mencionado anteriormente está presente en el elemento absorbente que constituye el apósito.
- 35 10.- El apósito de conformidad con una de las reivindicaciones 6 a 9, caracterizado además porque el copolímero mencionado anteriormente está presente en una masa, de preferencia una masa elastomérica, que constituye dicho apósito.
- 40 11.- El apósito de conformidad con la reivindicación 10, caracterizado además porque el copolímero mencionado anteriormente está presente en una cantidad entre 0.1% y 20% en peso, y de preferencia entre 1% y 5% en peso, respecto al peso de la masa en la cual es incorporado.
- 12.- El apósito de conformidad con una de las reivindicaciones 6 a 11, caracterizado además porque la sal de ácido 2-metil-2-[(1-oxo-2-propenil)amino]-1-propansulfónico mencionada anteriormente es una sal de sodio.