

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 610 881**

51 Int. Cl.:

A61L 26/00	(2006.01)
A61L 31/04	(2006.01)
A61L 31/14	(2006.01)
A61L 31/16	(2006.01)
A61K 9/00	(2006.01)
A61K 9/06	(2006.01)
A61K 47/36	(2006.01)
A61K 31/717	(2006.01)
A61K 31/718	(2006.01)
A61K 31/722	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.04.2009 PCT/US2009/041591**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **29.10.2009 WO09132227**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.04.2009 E 09734267 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.11.2016 EP 2310002**

54 Título: **Gel protector basado en quitosano y polisacárido oxidado**

30 Prioridad:

24.04.2008 US 47590 P

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

03.05.2017

73 Titular/es:

**MEDTRONIC, INC (100.0%)
710 Medtronic Parkway Northeast
Minneapolis, MN 55432, US**

72 Inventor/es:

**TIJSMA, EDZE, JAN;
GONZALEZ, MARIA, NIEVES;
TENBROEK, ERICA, M. y
SCHAFFHAUSEN, NANCY**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 610 881 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

Gel protector basado en quitosano y polisacárido oxidado

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a polisacáridos y a materiales para su uso en o sobre tejido y estructuras en los oídos, nariz y garganta.

10 **Antecedentes**

Para la reparación quirúrgica o administración de fármacos se han usado determinados materiales de polisacárido. Los documentos referentes a tales materiales incluyen las patentes de EE.UU. N.º 6.514.522 (Domb) y 7.053.068 B2 (Prinz), las publicaciones de solicitud de patente de EE.UU. N.º US 2005/0176620 A1 (Prestwych et al.) y US 2005/0238702 A1 (Ishihara et al.), la solicitud de patente canadiense N.º 2 348 842 A1 (Bernkop-Schnürch), las solicitudes PCT publicadas N.º WO 98/31712 A2 (B.F. Goodrich Co.), los documentos WO 01/00246 A2 (Bentley et al.) y WO 03/020771 A1 (Mucobiomer Biotechnologische Forschungs-und Entwicklungs GmbH), Mi et al., Synthesis and Characterization of a Novel Chitosan-Based Network Prepared Using Naturally-Occurring Crosslinker, J Polym Sci, Part A: Polym Chem, 38, 2804-2814 (2000), Mi et al., Synthesis and characterization of biodegradable TPP/genipin co-crosslinked chitosan gel beads, Polymer, 44, 6521-30 (2003), Roldo et al., Mucoadhesive thiolated chitosans as platforms for oral controlled drug delivery: synthesis and in vitro evaluation, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 57, 115-121 (2004), Krauland et al., Viscoelastic Properties of a New in situ Gelling Thiolated Chitosan Conjugate, Drug Development And Industrial Pharmacy, 31, 885-893 (2005), Bernkop-Schnürch, Thiomers: A new generation of mucoadhesive polymers, Advanced Drug Delivery Reviews, 57, 1569-1582 (2005), Bernkop-Schnürch et al., Thiomers: Preparation and in vitro evaluation of a mucoadhesive nanoparticulate drug delivery system, International Journal of Pharmaceutics, 317, 76-81 (2006) y Weng et al., Rheological Characterization of in Situ Crosslinkable Hydrogels Formulated from Oxidized Dextran and N-Carboxyethyl Chitosan, Biomacromolecules, 8, 1109-1115 (2007). El documento US 2008/075657 describe la colocación de hidrogeles dentro de discos intervertebrales.

30

Sumario de la invención

La presente invención proporciona una capa de fluido para su uso en un método de retorno de una superficie de tejido mucoso lesionada, inflamada o quirúrgicamente reparada en el oído, nariz o garganta, a un estado normal, comprendiendo la capa quitosano y un polisacárido oxidado que contiene grupos aldehído con capacidad de promover la rápida reticulación del quitosano en cantidades suficientes para formar una capa de gel protector *in situ*. La capa de gel protector ayuda a retornar la superficie de tejido lesionada, inflamada o quirúrgicamente reparada, a un estado normal, por ejemplo, mediante uno o más mecanismos de curación tales como modulación de una respuesta inflamatoria, fagocitosis, remodelación de la mucosa, reciliación u otra restauración completa o parcial de la función normal.

40

La capa de fluido es para su uso en un método que comprende:

- a) aplicar a tal tejido la capa de fluido que contiene la mezcla de quitosano y un polisacárido oxidado, y
b) dejar que la mezcla forme una capa de gel protector *in situ*.

45

La capa de fluido desvelada se aplica deseablemente por pulverización, y está envasada en un dispensador pulverizador multicomponente.

50 **Breve descripción del dibujo**

La **Fig. 1** es una vista esquemática que muestra el método desvelado;
la **Fig. 2** es una vista en perspectiva de un instrumento dispensador que puede usarse en el método desvelado;
la **Fig. 3** es una gráfica que muestra las propiedades antimicrobianas de dos capas de gel reticuladas *in situ* formadas a partir de quitosano y polisacárido oxidado, y de un control de caldo de triptona y soja;
la **Fig. 4** es una gráfica que muestra la actividad antimicrobiana en función del tiempo para tres capas de gel reticuladas *in situ* formadas a partir de quitosano y polisacárido oxidado, y para un control de caldo de triptona y soja;
la **Fig. 5** es una gráfica que muestra el comportamiento de liberación de fármaco para tres capas de gel reticuladas *in situ*; y
la **Fig. 6** es una gráfica que muestra la degradación de una capa de gel reticulada *in situ*.

60

Los símbolos de referencia similares en las diversas figuras del dibujo indican elementos similares. Los elementos en el dibujo no están a escala.

65

Descripción detallada

La siguiente descripción detallada describe ciertas realizaciones y no debe tomarse en un sentido limitante. Todos los pesos, cantidades y relaciones en el presente documento son en peso, a menos que se indique específicamente de otro modo. Los términos mostrados a continuación tienen los siguientes significados:

El término "adhesión" se refiere a pegar conjuntamente una estructura del cuerpo o material protésico con tejido, a pegar conjuntamente tejido con tejido con el que está en contacto íntimo durante periodos prolongados, o a la formación de tejido que conecta estructuras del cuerpo, materiales protésicos o tejidos entre sí a través de un espacio normalmente abierto.

El término "antimicrobiano" se refiere a una capacidad para producir más de un 90 % de reducción numérica (concretamente, al menos una reducción del orden de 1 log) en una población de uno o más de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* o *Moraxella catarrhalis*.

Los términos "unido" y "adherido", cuando se usa en referencia a una biopelícula bacteriana y una superficie, significan que la biopelícula se establece sobre y al menos recubre o cubre parcialmente la superficie, y tiene alguna resistencia a la eliminación de la superficie. Como la naturaleza de esta relación es compleja y poco entendida, no está previsto mecanismo de unión particular o adherencia por tal uso.

El término "biopelícula bacteriana" significa una comunidad de bacterias unida a una superficie, estando los organismos en la comunidad contenidos dentro de una matriz de polisacárido extracelular (EPS) producida por las bacterias.

El término "biocompatible", cuando se usa en referencia a una sustancia, significa que la sustancia no presenta efectos perjudiciales o inapropiados significativos en el cuerpo.

El término "biodegradable", cuando se usa en referencia a una sustancia, significa que la sustancia se degradará o erosionará *in vivo* para formar especies químicas o físicas más pequeñas. Tal proceso de degradación puede ser enzimático, químico o físico.

El término "biorresorbible", cuando se usa en referencia a una sustancia, significa que la sustancia es capaz de ser absorbida por el cuerpo.

El término "cohesivo", cuando se usa en referencia a un líquido o gel, significa que el líquido o gel, cuando se pone sobre una superficie de nivel, tenderá a (pero no necesita en todos los casos) pegarse a la misma y a formar una masa unitaria.

El término "desmenuzado", cuando se usa en referencia a un material en partículas, significa que las partículas han sido fracturadas y reducidas en tamaño cortando, moliendo, pulverizando, triturando u otro proceso de fracturación de partículas empleando fuerza externamente aplicada.

El término "conforme", cuando se usa en referencia a una composición aplicada a tejido u otra estructura del cuerpo, significa que la composición puede formar una capa sustancialmente continua sobre un área a la que se ha aplicado la composición.

Los términos "desprender", "quitar" y "alterar", cuando se usan en referencia a una biopelícula bacteriana unida o adherida a una superficie, significan que al menos una cantidad significativa de la biopelícula inicialmente presente sobre la superficie ya no está unida o adherida a la superficie. No está previsto mecanismo particular de desprendimiento, eliminación o alteración por tal uso.

El término "fluido", cuando se usa en referencia a una sustancia, significa que la sustancia es un líquido que tiene un módulo de pérdida (G'') superior a su módulo de almacenamiento (G') y una tangente de pérdida ($\tan \delta$) superior a 1.

El término "gel", cuando se usa en referencia a una sustancia, significa que la sustancia es deformable (concretamente, no es un sólido), G'' es inferior a G' y $\tan \delta$ es inferior a 1.

El término "gelificación", cuando se usa con respecto a la formación de una capa de gel, significa el tiempo al cual G'' es igual a G' y $\tan \delta$ es igual a 1.

El término "hemostático" significa un dispositivo o material que detiene el flujo sanguíneo.

El término "hidrogel", cuando se usa en referencia a un gel, significa que el gel es hidrófilo y contiene agua.

El término "hidratado", cuando se usa en referencia a un dispositivo o sustancia, significa que el dispositivo o sustancia contiene agua químicamente unida distribuida manera uniforme. Un dispositivo o sustancia

"completamente hidratado" es capaz de absorber agua de hidratación adicional. Un dispositivo o sustancia "parcialmente hidratado" es capaz de absorber agua de hidratación adicional.

El término "oído interno" significa los canales semicirculares y la cóclea.

El término "oído medio" significa la región definida por la membrana timpánica, las estructuras interiores tales como la cadena osicular, el revestimiento circundante y las estructuras colindantes tales como el mastoide.

El término "mucoadhesivo", cuando se usa en referencia a un dispositivo o sustancia, significa que el dispositivo o sustancia se adherirá al moco que cubre el epitelio.

El término "cavidades nasales o de los senos" se refiere a los diversos tejidos que definen las vías y cámaras normalmente llenas de aire dentro de la nariz y los senos que incluyen, pero no se limitan a, los orificios nasales o narinas, la concha nasal o cornetes, los senos frontales, etmoides, esfenoides y maxilares, ostia de los senos y la nasofaringe.

El término "polisacárido" incluye derivados de polisacáridos y polisacáridos modificados, además de derivados de especies de polisacárido individuales y especies de polisacárido individuales modificados. Por ejemplo, el término "carboximetilcelulosa" incluye derivados de carboximetilcelulosa y carboximetilcelulosas modificadas, el término "quitosano" incluye derivados de quitosano y quitosanos modificados, y el término "almidón" incluye derivados de almidón y almidones modificados.

El término "protector", cuando se usa en referencia a una capa de una composición encima de tejido, significa que la capa puede ayudar a regresar una superficie de tejido lesionada, inflamada o quirúrgicamente reparada a un estado normal, por ejemplo, mediante uno o más mecanismos de curación tales como modulación de una respuesta inflamatoria, fagocitosis, remodelación de la mucosa, reciliación u otra restauración completa o parcial de la función normal.

El término "tiempo de residencia", cuando se usa en referencia a una capa de gel protector encima de tejido, significa el periodo de tiempo durante el cual la capa de gel o porción de la misma queda en su lugar *in vivo* bajo observación macroscópica.

El término "solvatar" significa formar una solución o dispersión que contiene un disolvente u otro vehículo dentro del que se disuelve o suspende un soluto.

El término "sustancialmente libre de colágeno" significa que contiene una cantidad suficientemente baja de colágeno como para no plantear un posible riesgo de transmisión de o infección con encefalopatía esponjiforme bovina (EEB) o enfermedad de Creutzfeldt-Jakob de variante (vCJD).

El término "delgada", cuando se usa en referencia a una capa protectora encima de tejido, significa que tiene un espesor promedio inferior a aproximadamente dos milímetros.

Con referencia a la **Fig. 1**, el método desvelado puede realizarse, por ejemplo, en las cavidades nasales o de los senos **100** de un paciente, que incluyen los senos maxilares **110a**, **110b** y los senos frontales **112a**, **112b**, a los que puede accederse por las narinas **114a**, **114b**. Debe observarse que las características externas del paciente, que incluyen las narinas **114a**, **114b**, se muestran en líneas discontinuas. Cuando el paciente sufre, por ejemplo, rinosinusitis crónica, uno o más sitios de tratamiento tales como el sitio de tratamiento **116** asociado a una superficie del seno maxilar **110a** puede ser médica o, si necesita, quirúrgicamente tratado. El sitio de tratamiento **116** incluye epitelio ciliado del seno maxilar **110a** y puede incluir una capa asociada de bacterias que habitan en una biopelícula asociada (no mostrada en la **Fig. 1**). El sitio de tratamiento no necesita ser tejido natural y puede en su lugar ser una estructura artificial (no mostrada en la **Fig. 1**) tal como un relleno sinusal o prótesis endovascular que también puede cubrirse al menos en parte con una capa de biopelícula bacteriana. Si está presente, la biopelícula puede eliminarse usando un sistema de solvatación (por ejemplo, el sistema de solvatación descrito en la publicación de solicitud de patente de EE.UU. N.º US 2007/0264310 A1) que puede aplicarse al sitio de tratamiento **116** usando un introductor **120** con un tubo de administración articulable **122** que contiene un conducto de irrigación (oculto en la **Fig. 1**) a través del cual el sistema de solvatación puede circular a una boquilla **124** en el extremo distal del introductor **122** y de allí al sitio de tratamiento. El sistema de solvatación y los residuos de la biopelícula pueden eliminarse del sitio de tratamiento mediante un conducto de aspiración (oculto en la **Fig. 1**). La composición desvelada que comprende quitosano y polisacárido oxidado puede asimismo aplicarse al sitio de tratamiento usando el mismo conducto de irrigación o uno diferente en el introductor **120**. Aquellos expertos en la materia apreciarán que la composición desvelada (y si se usa, el sistema de solvatación) puede aplicarse al sitio de tratamiento usando otros métodos o dispositivos. Otros métodos a modo de ejemplo incluyen pulverización eléctrica u otra aplicación de pulverización, lavado, nebulizado, limpieza con mopa, aplicación por mecha, goteo y trepanación, y otros dispositivos a modo de ejemplo incluyen boquillas de pulverización (por ejemplo, boquillas de pulverización de un solo componente o de múltiples componentes) y jeringas (por ejemplo, jeringas de vidrio o de plástico de un solo cilindro o de múltiples cilindros y peras de goma). El método de tratamiento también puede realizarse en otras partes del cuerpo como se

describe en el presente documento.

La **Fig. 2** muestra un instrumento **200** a modo de ejemplo que puede usarse en el método de tratamiento desvelado. El instrumento **200** incluye un asa **202** y un introductor **222** cuyo extremo distal **224** (citado generalmente) incluye una boquilla de pulverización, conductos de irrigación y aspiración (no numerados por separado en la **Fig. 2**). El instrumento **200** puede incluir opcionalmente adicionalmente un primer conjunto de activador **226** (citado generalmente) y un segundo conjunto de activador **228** (citado generalmente). Una rueda de control **230** en el primer conjunto de activador **226** puede ser operable por un usuario para efectuar la flexión del introductor **222**, y una rueda de control **232** en el segundo conjunto de activador **228** puede ser operable por un usuario para efectuar el movimiento o giro con respecto al introductor **222** de líquido pulverizado desde el extremo distal **224** del introductor **222**. El asa **202** sirve generalmente como carcasa para diversos otros componentes del instrumento **200** y como soporte para el introductor **222**. El asa **202** puede tener una forma similar a la sujeción de una pistola, que define una porción de sujeción **234** y una nariz **236**. La porción de sujeción **234** está dimensionada y formada para ser agarrada por la mano de un usuario, mientras que la nariz **236** está adaptada para conexión para el introductor **222**. El accionador **238** y un sensor y válvula asociados (no mostrados en la **Fig. 2**) pueden usarse para controlar el flujo de gel rehidratado desvelado (y si se usa, el sistema de solvatación desvelado) mediante el tubo de irrigación **240** y de aquí mediante la boquilla de pulverización en el extremo distal **224** y sobre el sitio de tratamiento deseado. El accionador **238** puede proporcionarse con un intervalo multidireccional de movimiento y asociado a uno o más sensores y válvulas adicionales (no mostrados en la **Fig. 2**) para controlar la eliminación de un sitio de tratamiento del sistema de solvatación, residuo de biopelícula y otros residuos mediante el conducto de aspiración en el extremo distal **224** y de ahí al tubo de aspiración **242**. El accionador **238** también puede usarse para controlar el flujo del gel rehidratado desvelado mediante una luz separada en el tubo de irrigación **240** y de ahí mediante la boquilla de pulverización en el extremo distal **224** y sobre el sitio de tratamiento deseado.

La composición aplicada que comprende quitosano y polisacárido oxidado puede llenar el sitio de tratamiento (por ejemplo, una cavidad nasal o de los senos), en cuyo caso la capa desvelada de tal composición puede ser muy gruesa y no estar expuesta al aire u otros gases cercanos, y con diferentes espesores a través de la capa. La composición desvelada también puede aplicarse como una película delgada u otro recubrimiento conforme, en cuyo caso la capa desvelada puede ser relativamente delgada y estar expuesta al aire u otros gases cercanos, y con un espesor sustancialmente uniforme en toda la capa. Después de la gelificación, la capa de gel protector puede ser viscosa, elástica o viscoelástica. La capa de gel protector se adhiere deseablemente a los tejidos mucosos en el sitio de tratamiento y resiste al desprendimiento u otra alteración hasta que tenga lugar la degradación natural o resorción de la capa de gel, por ejemplo, después de un tiempo de residencia *in vivo* de un día a algunos (por ejemplo, 2, 3 o 4) días, semanas o meses. Mientras tanto, la recolonización o reinfección bacteriana puede ser significativamente reducida o prevenida, y puede tener lugar curación y reciliación mejorada. La capa de gel protector puede proporcionar diversas ventajas terapéuticas que incluyen, pero no se limitan a, repelencia de la adhesión bacteriana, propiedades antiinfecciosas, modulación inmunitaria local, protección de tejido, reducción o eliminación del dolor o hemorragia, reducción en la inflamación, optimización del entorno para el recrecimiento ciliar, reducción en adherencias a la anatomía crítica, y similares. Estas ventajas pueden surgir debido a una variedad de mecanismos que incluyen a) destrucción de bacterias, b) inhibición de la colonización bacteriana, c) inhibición de la adherencia de bacterias al tejido, d) reducción de la morbilidad de tejido o formación de abscesos, e) reducción o prevención de la reparación de enfermedades (por ejemplo, específicamente reducción de la inflamación crónica relacionada con toxina bacteriana y EPS), f) recubrimiento y protección de tejido durante la curación, tal como por el mantenimiento de una herida húmeda que promueve la agregación de plaquetas, o por el cierre de una herida seca sin excesiva formación escabrosa, g) hemostasia, h) optimización del entorno para la reciliación de la mucosa, i) aceleración del crecimiento o recrecimiento de cilios y j) administración de agente(s) terapéutico(s) al sitio de tratamiento. Deseablemente, la capa de gel protector se adherirá a una porción de la mucosa mientras que deja los cilios en porciones sin adherir libres para que experimenten un movimiento de cilios rítmico natural (concretamente, batido ciliar), si se desea también distribuirá agentes antimicrobianos o agentes terapéuticos adicionales, y deseablemente disuadirá o prevendrá que las bacterias se adhieran al sitio de tratamiento.

En la capa de fluido y método desvelados, puede emplearse una amplia variedad de quitosanos (incluyendo sales y otros derivados de quitosano). Pueden obtenerse quitosanos no modificados a modo de ejemplo y sus sales (incluyendo sales de citrato, nitrato, lactato, fosfato, cloruro y glutamato) a partir de una variedad de fuentes comerciales que incluyen KitoZyme S.A., Fluka Chemie AG, la unidad NovaMatrix de FMC BioPolymer AS y Sigma-Aldrich Co. El quitosano también puede sintetizarse por desacetilación de quitina (poli-N-acetil-D-glucosamina) para eliminar grupos acetilo sobre el átomo de nitrógeno mediante hidrólisis. El polímero resultante tiene una pluralidad de unidades de repetición (por ejemplo, de aproximadamente 30 a aproximadamente 3000 unidades de repetición, de aproximadamente 60 a aproximadamente 600 unidades de repetición, u otra cantidad de este tipo como pueda desear el uso final elegido), conteniendo algunas o todas grupos amino desacetilados (por ejemplo, aproximadamente del 30 a aproximadamente el 100 % o aproximadamente del 60 a aproximadamente el 95 % de las unidades de repetición totales), conteniendo las unidades de repetición restantes (caso de haberlas) grupos amino acetilados. El polímero es catiónico y puede considerarse que está compuesto por monómeros de glucosamina. El quitosano puede tener una variedad de pesos moleculares promedio en número, por ejemplo, aproximadamente 5 a aproximadamente 2000 kDa, aproximadamente 10 a aproximadamente 500 kDa, o aproximadamente 10 a aproximadamente 100 kDa. El quitosano puede ser, por ejemplo, un material de peso

molecular ultrabajo que tiene un peso molecular promedio en número inferior a aproximadamente 50 kDa, un material de peso molecular bajo que tiene un peso molecular promedio en número de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 kDa, un material de peso molecular medio que tiene un peso molecular promedio en número de aproximadamente 200 a aproximadamente 500 kDa o un material de peso molecular alto que tiene un peso molecular promedio en número superior a aproximadamente 500 kDa. También pueden emplearse derivados de quitosano, por ejemplo, derivados en los que uno o más grupos hidroxilo o amino se han modificado con el fin de alterar la solubilidad o las características de mucoadhesión del derivado. Derivados a modo de ejemplo incluyen quitosanos tiolados, y derivados de quitosano no tiolados tales como quitosanos acetilados, alquilados o sulfonatados (por ejemplo, éteres de O-alquilo, ésteres de O-acilo, trimetilquitosanos cationizados y quitosanos modificados con polietilenglicol). Pueden obtenerse derivados de quitosano de una variedad de fuentes. Por ejemplo, pueden obtenerse quitosanos tiolados de ThioMatrix Forschungs Beratungs GmbH y Mucobiomer Biotechnologische Forschungs- und Entwicklungs GmbH o prepararse haciendo reaccionar el quitosano con un reactante tiolado adecuado, por ejemplo, como se describe en la solicitud PCT publicada N.º WO 03/020771 A1 anteriormente mencionada o en los artículos de Roldo et al., Krauland et al., Bernkop-Schnürch y Bernkop-Schnürch et al. anteriormente mencionados.

El quitosano se obtiene deseablemente en forma de partículas secas, por ejemplo, como gránulos fluidos cuyo diámetro de partícula promedio es inferior a aproximadamente 1 mm, inferior a aproximadamente 100 µm, aproximadamente 1 a aproximadamente 80 µm, o inferior a 1 µm. El quitosano preferentemente se envasa y transporta a un usuario en tal forma de partículas secas para reducir la degradación del quitosano durante el almacenamiento prolongado. El fluido de quitosano puede formarse, por ejemplo, disolviendo el quitosano en agua u otro disolvente adecuado justo antes de uso. Las cantidades de quitosano recomendadas dependerán del peso molecular del quitosano, y pueden ser, por ejemplo, aproximadamente del 1 a aproximadamente el 20 %, aproximadamente del 1 a aproximadamente el 10 % o aproximadamente del 1 a aproximadamente el 5 % de la solución resultante. La solicitud publicada de EE.UU. N.º US 2009/0291911 A1 describe una técnica preferida para rehidratar un quitosano, dispersando partículas de quitosano fluidas en un dispersante polar miscible en agua biocompatible, y combinando la dispersión con suficiente disolvente acuoso para que las partículas lo conviertan en un hidrogel cohesivo. El quitosano puede desmenuzarse, pero deseablemente no está desmenuzado.

En la capa de fluido y método desvelados, puede emplearse una amplia variedad de polisacáridos oxidados. Como ejemplos de polisacáridos se incluyen agares, alginatos, carrageninas, celulosas, quitinas, quitosano (permitiendo así que el quitosano se reticule usando su homólogo oxidado), sulfatos de condroitina, dextranos, galactomananos, glucógenos, ácidos hialurónicos, almidones y otros polisacáridos biocompatibles capaces de ser oxidados. Se prefieren polisacáridos oxidados tales como celulosa oxidada, quitina, quitosano, sulfato de condroitina, dextrano, glucógeno, ácido hialurónico y almidón. El polisacárido se oxida a un grado suficiente para proporcionar grupos aldehído que pueden promover la rápida reticulación del quitosano cuando el quitosano y el polisacárido oxidado se combinan en solución acuosa. Como agentes de oxidación representativos o técnicas se incluyen el uso de a) peryoato de sodio, b) ión hipoclorito en presencia de catalizadores de di-terc-alquilnitroxilo, c) oxidación catalizada por metal, usando por ejemplo rutenio, d) oxidación anhidra usando, por ejemplo, dióxido de nitrógeno en, por ejemplo, un halocarbono, e) oxidación enzimática o quimio-enzimática de almidón, guar y otros polisacáridos, y otros agentes de oxidación y técnicas que serán conocidos para las personas que tienen experiencia habitual en la materia. Dependiendo del agente de oxidación o técnica seleccionada, puede emplearse una variedad de grados de oxidación, grados de polimerización y sitios de oxidación. Por ejemplo, la oxidación puede dirigirse a un grupo hidroxilo primario (por ejemplo, el grupo 6-hidroxilo en las unidades de anhidroglucosa de glucanos), produciendo carboxil-polisacáridos con estructuras de anillo preservadas. La oxidación también puede dirigirse a una función de diol vecina presente en un anillo de monosacárido (por ejemplo, el sitio C2-C3 en unidades de anhidroglucosa), produciendo la escisión de las unidades monosacárido y la producción de grupos funcionales dialdehído o dicarboxilo. El contenido de dialdehído de un polisacárido oxidado tal puede oscilar de un grado de oxidación de, por ejemplo, el 2 % a prácticamente el 100 %, por ejemplo, superior al 30 % o superior al 50 % de los sitios de oxidación disponibles. El polisacárido oxidado también puede contener otros grupos funcionales, por ejemplo, grupos hidroxialquilo, grupos catiónicos, grupos carboxilo y otros grupos ácidos. Como una generalización, pueden emplearse cantidades reducidas de polisacárido oxidado en la capa de fluido desvelada y método ya que el grado de oxidación del polisacárido es elevado.

El polisacárido oxidado se disuelve deseablemente en agua u otro disolvente adecuado antes de uso. Cantidades de polisacárido oxidado recomendadas normalmente dependerán del peso molecular del polisacárido oxidado, y pueden ser, por ejemplo, aproximadamente del 1 a aproximadamente el 20 %, aproximadamente del 1 a aproximadamente el 10 % o aproximadamente del 1 a aproximadamente el 5 % de la solución resultante. La solución de polisacárido oxidado normalmente se mantiene separada de la solución de quitosano hasta justo antes de uso.

En comparación con la reticulación usando un aldehído de peso molecular bajo, tal como glutaraldehído o genipina, los polisacáridos oxidados parecen proporcionar una gelificación más rápida, mientras que evitan el uso de aldehídos de peso molecular bajo posiblemente menos bioaceptables. Además de su capacidad para reaccionar con grupos amina en el quitosano, los grupos aldehído en el polisacárido oxidado pueden también potenciar la mucoadhesión. Los polisacáridos oxidados pueden proporcionar beneficios adicionales, que incluyen

biodegradabilidad, biorresorbabilidad, administración de fármaco o propiedades hemostáticas mejoradas o mejor controladas. La presencia de iones fosfato parece acelerar la reacción de reticulación. El fosfato puede proporcionarse usando solución salina tamponada con fosfato (PBS) como disolvente para uno o ambos del quitosano y polisacárido oxidado.

5 Deseablemente se emplean suficiente quitosano y polisacárido oxidado de manera que se forme una capa de gel protector en menos de 30 minutos después de que el quitosano y el polisacárido oxidado se mezclen, y más preferentemente en menos de 20 minutos, menos de 10 minutos, menos de 5 minutos o esencialmente inmediatamente después de la mezcla. La mezcla de fluido resultante puede, por ejemplo, contener quitosano y
10 polisacárido oxidado en una cantidad combinada que representa aproximadamente del 1 a aproximadamente el 20 %, aproximadamente del 1 a aproximadamente el 10 % o aproximadamente del 1 a aproximadamente el 5 % de la composición. El quitosano y el polisacárido oxidado pueden combinarse, por ejemplo, en una relación de aproximadamente 10:1 a aproximadamente 1:20, aproximadamente 5:1 a aproximadamente 1:10, o aproximadamente 3:1 a aproximadamente 1:5. Estas relaciones dependen del grado de oxidación del (de los)
15 polisacárido(s) oxidado(s), usándose generalmente cantidades de polisacárido oxidado más bajas cuando se empleen polisacáridos más altamente oxidados. Para algunas aplicaciones, la cantidad de quitosano preferentemente será de hasta poder ser factible, con el fin de proporcionar buenas propiedades antimicrobianas, y en tales casos será preferible usar una baja cantidad de polisacárido altamente oxidado para obtener la rápida formación de gel.

20 Las composiciones desveladas están deseablemente sustancialmente libres de colágeno. Preferentemente, las composiciones están suficientemente libres de colágeno (por ejemplo, no conteniendo colágeno en absoluto), de manera que sean vendibles en el mundo para su uso sin restricción en los seres humanos.

25 Las composiciones desveladas pueden incluir opcionalmente una variedad de otros componentes. Estos otros componentes pueden disponerse antes de la mezcla en la primera parte, segunda parte o ambas partes de una composición de dos partes. Otros componentes a modo de ejemplo incluyen agua y otros disolventes (por ejemplo, alcoholes), ácidos, bases, agentes de tamponamiento, agentes antimicrobianos, agentes terapéuticos y otros adyuvantes. Un ácido, base o agente de tamponamiento puede mantener, por ejemplo, la composición a un pH apropiado para contacto con tejido humano, por ejemplo, un pH superior a 5, un pH próximo a neutro, o un pH inferior a 8,5. Agentes de tamponamiento a modo de ejemplo incluyen barbitona sódica, glicinamida, glicina, cloruro de potasio, fosfato de potasio, hidrogenofofato de potasio, acetato sódico, citrato de sodio, fosfato de sodio y sus ácidos conjugados.

35 Las composiciones desveladas son deseablemente inherentemente antimicrobianas sin requerir la adición de un agente antimicrobiano separado. La actividad antimicrobiana puede influirse por la proporción de quitosano en la composición (tendiendo proporciones de quitosano más altas a proporcionar mayor actividad antimicrobiana) y por el número de átomos de hidrógeno de amina del quitosano disponibles. Por consiguiente, el uso de derivados de quitosano que contienen bajos números de átomos de hidrógeno amino disponibles (tales como los derivados de N-carboxietilo deseados en el artículo de Weng et al. anteriormente mencionado) puede ser contraindicado. En cualquier caso, puede emplearse un agente antimicrobiano separado si se desea. Un lista útil de tales agentes antimicrobianos puede encontrarse, por ejemplo, en la publicación de solicitud de patente de EE.UU. N.º US 2007/0264310 A1 anteriormente mencionada.

45 Agentes terapéuticos a modo de ejemplo que pueden emplearse en las composiciones desveladas incluyen cualquier material adecuado para su uso en el sitio de tratamiento previsto, que incluye analgésicos, anticolinérgicos, agentes antifúngicos, antihistamínicos, agentes antiinflamatorios esteroideos o no esteroideos, agentes antiparasíticos, agentes antivirales, composiciones biostáticas, agentes quimioterapéuticos/antineoplásicos, citocinas, descongestivos, agentes hemostáticos (por ejemplo, trombina), inmunosupresores, mucolíticos, ácidos nucleicos, péptidos, proteínas, esteroides, vasoconstrictores, vitaminas, mezclas de los mismos, y otros materiales terapéuticos que serán conocidos para aquellos expertos en la materia. Una lista útil de tales agentes terapéuticos puede encontrarse, por ejemplo, en la publicación de solicitud de patente de EE.UU. N.º US 2007/02643 10 A1 anteriormente mencionada.

55 Otros adyuvantes que pueden incluirse en las composiciones desveladas incluyen tintes, pigmentos y otros colorantes (por ejemplo, FD & C Red No. 3, FD & C Red No. 20, FD & C Yellow No. 6, FD & C Blue No.2, D & C Green No. 5, D & C Orange No. 4, D & C Red No. 8, caramelo, dióxido de titanio, colorantes de frutas o verduras tales como polvo de remolacha o beta-caroteno, cúrcuma, pimentón y otros materiales que serán bien conocidos para aquellos expertos en la materia); indicadores; aromatizantes o edulcorantes que incluyen, pero no se limitan a, aceite de anís, cereza, aceite de canela, aceite de cítrico (por ejemplo, aceite de limón, lima o naranja), cacao, eucalipto, aromáticos herbales (por ejemplo, aceite de clavo, aceite de salvia o aceite de casia), lactosa, maltosa, mentol, aceite de hierbabuena, sacarina, ciclamato sódico, aceite de menta, sorbitol, sacarosa, vainilla, aceite de gaulteria, xilitol y mezclas de los mismos; antioxidantes; agentes antiespumantes; y modificadores de la reología que incluyen espesantes y tixótropos. Las composiciones desveladas deseablemente no contienen componentes que
60 posiblemente pudieran dañar los tejidos o estructuras de la mucosa, por ejemplo, tejidos en las cavidades nasales o de los senos.
65

En aquellos casos en los que se desee eliminar el agua del tejido, por ejemplo, para eliminar fluido de pólipos o tejido edematoso, puede emplearse un agente hiperosmolar en las composiciones desveladas. Agentes hiperosmolares a modo de ejemplo incluyen furosemida, gel de cloruro sódico y otras preparaciones de sal que extraen agua del tejido o sustancias que cambian directamente o indirectamente el contenido osmolar de la capa mucosa. Si se desea liberación sostenida o liberación retardada de un agente terapéutico, también puede incluirse un modificador del agente de liberación.

La composición desvelada normalmente se someterá a esterilización y se dispondrá en envases sellados adecuados (por ejemplo, una jeringa multicomponente, un vial o viales, o una bolsa multi-cámara hecha de materiales adecuados) antes del transporte a un usuario final. Puede llevarse a cabo personalización adicional de las propiedades usando un procedimiento de esterilización tal como procesamiento por radiación gamma o haz de electrones (haz E) para producir la escisión en cadena controlada. Puede emplearse esterilización con radiación ionizante fría (por ejemplo, esterilización por haz E frío) para limitar el grado de escisión en cadena, como se trata en la solicitud PCT en tramitación junto con la presente WO 2009/132229 A2, presentada incluso la fecha de ésta. Tanto si se esteriliza como si no, la primera parte que contiene el quitosano normalmente se mantendrá separada de la segunda parte que contiene el polisacárido oxidado hasta justo antes de uso.

Las composiciones desveladas pueden usarse deseablemente como una parte de una pauta de tratamiento multi-etapa que altera una biopelícula bacteriana y disuade su retorno. Por ejemplo, pueden llevarse a cabo una serie de etapas que pueden ser ampliamente clasificadas como limpieza/alteración, destrucción, aireación, protección/recubrimiento y curación. La etapa de limpieza/alteración puede llevarse a cabo administrando un sistema de solvatación como se trata anteriormente a propósito de la Fig. 1 y la Fig. 2. La etapa de destrucción puede llevarse a cabo aplicando un agente antimicrobiano adecuado al sitio de tratamiento. Esto puede llevarse a cabo, por ejemplo, incluyendo un agente antimicrobiano en el sistema de solvatación, como una composición aplicada por separado, o en tanto el sistema de solvatación como en una composición aplicada por separado. Un agente antimicrobiano también puede aplicarse o administrarse posoperatoriamente. La etapa de aireación puede llevarse a cabo proporcionando pasadizos de aire o mejorando los pasadizos de aire a los tejidos tratados abriendo pasos ocluidos o parcialmente ocluidos, por ejemplo, los senos u ostia de los senos para administraciones nasales. Esto puede llevarse a cabo, por ejemplo, eliminando quirúrgicamente estructuras de tejido obstructivas o desplazando manualmente tales estructuras. La etapa de protección/recubrimiento puede llevarse a cabo recubriendo al menos parte del tejido así tratado con la composición desvelada que contiene quitosano y polisacárido oxidado como se ha descrito anteriormente. La etapa de curación puede llevarse a cabo permitiendo que la superficie de tejido limpia, protegida y sellada experimente un retorno a un estado normal, por ejemplo, mediante uno o más mecanismos de curación tales como modulación de una respuesta inflamatoria, fagocitosis, remodelación de la mucosa, reciliación o restauración completa o parcial de la función normal. La pauta de tratamiento multi-etapa puede incluir o ir seguida de una etapa de despeje en la que la composición desvelada que contiene quitosano y polisacárido oxidado es suficientemente biodegradable o biorresorbible para desaparecer del sitio de tratamiento en un periodo de tiempo deseado, por ejemplo, más de 1 día, más de 3 días, o aproximadamente 4 a 7 días, y deseablemente sin dejar grandes trozos sólidos. El método desvelado puede llevarse a cabo ventajosamente sin requerir cirugía, por ejemplo, aplicando y quitando el sistema de solvatación opcional y aplicando la composición desvelada que contiene quitosano y polisacárido oxidado mediante técnicas de aspiración/succión normales o por el simple lavado del tejido afectado. Puede realizarse una serie comparable de etapas en una pauta de tratamiento multi-etapa en una porción del oído medio o interno. Más detalles referentes a tal pauta pueden encontrarse en la publicación de solicitud de patente de EE.UU. N.º US 2007/0264310 A1.

La invención se ilustra además en los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplo 1

Formulaciones de gel

Se prepararon soluciones de quitosano disolviendo cantidades variables de glutamato de quitosano (PROTASAN™ UP G 113 o PROTASAN UP G 213 de la unidad NovaMatrix de FMC BioPolymer AS) durante la noche en PBS. Se preparó una solución de almidón oxidado (OXST) disolviendo dialdehído polimérico P9265 (de Sigma-Aldrich) en PBS mientras que se calentaba a 80 °C durante 1-2 horas. Se prepararon soluciones de metilcelulosa (MC) oxidada e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) oxidada haciendo reaccionar MC o HPMC con peryoato de sodio, liofilizando los productos resultantes y disolviendo los productos liofilizados en PBS. Las soluciones de quitosano y las soluciones de polisacárido oxidado resultantes se mezclaron en diversas relaciones y concentraciones. Las mediciones reológicas determinaron el tiempo de gelificación y el módulo de almacenamiento (G') para los hidrogeles resultantes. Los resultados se muestran a continuación en la Tabla 1.

Tabla 1

Tiempo de gelificación y módulo de almacenamiento G'						
Serie N.º	Quitosano	Polisacárido oxidado	Relación entre quitosano: polisacárido oxidado	Conc. total (%)	Tiempo de gelificación (min)	G'(Pa)
1	G 113	OXST	2:1	5	< 2 ¹	5.200
2	G 113	OXST	1:1	5	< 2 ¹	4.000
3	G 113	OXST	1:2	5	< 2 ¹	
4	G 113	OXST	2:1	3,75	< 2 ¹	800
5	G 113	OXST	1:1	3,33	3,2	400
6	G 113	OXST	1:2	3	6,4	200
7	G 213	OXST	2:1	2,5	< 2 ¹	750
8	G 213	OXST	1:1	2,5	< 2 ¹	450
9	G 113	MC oxidada	1:2	7,5	< 1 día	
10	G 113	MC oxidada	1:10	5	< 2 ¹	
11	G 113	MC oxidada	1:5	5	< 2 ¹	100
12	G 113	MC oxidada	1:1	5	< 1 día	
13	G 113	MC oxidada	5:1	5	sin gelificación	
14	G 113	HPMC oxidada	1:4	12,5	< 60	
15	G 113	HPMC oxidada	1:2	7,5	< 1 día	
16	G 113	HPMC oxidada	1:1	5	sin gelificación	

¹ Gelificó antes de empezar la medición del reómetro

Cada una de las formulaciones de quitosano/polisacárido oxidado mostradas en la Tabla 1 tuvo una viscosidad por debajo de 500 cP, y debe ser inyectable en un sitio de tratamiento de tejido mucoso usando, por ejemplo, un dispositivo como el mostrado en la Fig. 2 o una variedad de otros dispositivos que serán conocidos para los expertos habituales en la materia. Las formulaciones mostradas en la Tabla 1 también deben ser pulverizables sobre un sitio de tratamiento mucoso. Debido a la rapidez con la que se produjo la gelificación para algunas formulaciones, la aplicación por pulverización sería en muchos casos un modo preferido de aplicación. La formulación de la serie N.º 2 (Quitosano G 113/OXST 1:1 a una concentración total del 5 %) se aplicó por pulverización usando un aplicador asistido por gas (regulador FibriJet™ SA-6030, de Micromedics, Inc., que controla un conjunto de pulverización FibriJet SA-3652 equipado con un par de jeringas de 3 cc). La solución de OXST se coloró usando azul de toluidina para facilitar ver la capa de fluido aplicada. Se obtuvo un gel delgado fuerte que formó rápidamente.

Ejemplo 2

Propiedades antimicrobianas

Se evaluaron las formulaciones de la serie N.º 7 y 8 de la Tabla 1 (Quitosano G 213/OXST 2:1 y 1:1 a una concentración total del 2,5 %, respectivamente, mostradas como las barras B y C en la Fig. 3) para determinar su actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*, usando un procedimiento en placa cuyo límite de detección era log 2. Las formulaciones de gel se colocaron por duplicado en condiciones estériles directamente en una placa de cultivo de tejido de poliestireno de 24 pocillos. Cada pocillo se incubó con 1 ml (25.000 unidades formadoras de colonias) de una suspensión bacteriana de *S. aureus* (ATCC 25923). Se incubaron controles positivos con 1 ml de caldo de tripton y soja (TSB). Después de 6 horas de incubación a 37 °C, el medio se transfirió a tubos nuevos y se realizaron diluciones de diez veces en serie. Se sembraron alícuotas de diez µl de la dilución apropiada por triplicado en placas de agar de tripton y soja usando el método de monitorización de la dilución (Jett B.D. et al., Biotechniques, 23, 648-650 (1997)). Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas y se contaron las unidades formadoras de colonias (UFC). Como se muestra en la Fig. 3, ambas formulaciones presentaron destrucción completa (reducción superior a 6 log) de las bacterias frente al control de TSB (véase la barra A en la Fig. 3).

Se evaluaron las formulaciones de la serie N.º 2, 10 y 11 de la Tabla 1 (Quitosano G 113/OXST 1:1, Quitosano G 113/MC oxidada 1:10 y Quitosano G 113/MC oxidada 1:5 a una concentración total del 5 %, respectivamente, mostradas como las curvas B, C y D en la Fig. 4) como se ha descrito anteriormente para determinar su actividad antimicrobiana en función del tiempo frente a *S. aureus*, usando una carga bacteriana de 140.000 UFC/ml, registrándose las mediciones 1, 3 y 6 horas frente a un control de TSB (véase la curva A en la Fig. 4). Como se muestra en la Fig. 4, se observó destrucción completa después de 6 horas para los geles preparados a partir de las tres formulaciones de quitosano/polisacárido oxidado, observándose destrucción significativa después de 3 horas. La formulación de Quitosano G 213/OXST pareció proporcionar destrucción más rápida que las formulaciones de Quitosano G 113/MC oxidada.

Ejemplo 3**Administración de fármaco**

5 Se usaron las formulaciones de la serie N.º 1, 2 y 3 de la Tabla 1 (Quitosaño G 113/OXST 2:1, 1:1 y 1:2 a una concentración total del 5 %, respectivamente, mostradas como las curvas **A**, **B** y **C** en la **Fig. 5**) para preparar hidrogeles cargados de fármaco en tampón PBS mezclando las soluciones de quitosaño y de almidón oxidado con fosfato de dexametasona como fármaco que va a administrarse. Como se muestra en la **Fig. 5**, se obtuvo liberación relativamente rápida pero controlada durante hasta 3 días para el fosfato de dexametasona, posiblemente ayudado por una interacción entre el fármaco aniónico y el polímero de quitosaño catiónico.

Ejemplo 4**Degradación**

15 Se determinó el comportamiento de degradación de diversas formulaciones de gel de quitosaño/polisacárido oxidado poniendo los geles en diversos sistemas de tampón, que incluyen PBS a pH 7,4 con y sin lisozima (1 mg/ml), PBS con lipasa, ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico (MES) a pH 6,0 y trishidroximetilaminometano (TRIS) a pH 7,4. Se determinó la pérdida de peso en diversos momentos de tiempo hasta los 28 días. La pérdida de peso se produjo usando todos los sistemas tampón, quedando aproximadamente el 30-60 % del peso de muestra original (seco) después de 28 días. Los geles con contenido de almidón oxidado más alto presentaron mayor pérdida de peso. Los resultados de pérdida de peso para el quitosaño/polisacárido oxidado en PBS a pH 7,4 y 37 °C (sin lisozima) se muestran en la **Fig. 6**.

25 Pareció que los geles basados en almidón oxidado se degradaban en un material 'tipo vaina', mientras que pareció que los geles basados en celulosa oxidada seguían como geles durante la degradación. Los geles basados en celulosa oxidada pueden ser hemostáticos.

30 Los resultados en los Ejemplos 1-4 muestran que el quitosaño y los polisacáridos oxidados pueden combinarse para preparar formulaciones inyectables o pulverizables que forman rápidamente capas de gel protectoras fuertes *in situ* con propiedades antimicrobianas inherentes. Las formulaciones fueron en cada caso pulverizables, antibacterianas, biodegradables o biorresorbibles y capaces de servir de almacén para la administración de fármaco.

35 Aunque se han ilustrado y descrito realizaciones específicas en el presente documento para fines de descripción de las realizaciones preferidas, se apreciará por aquellos expertos habituales en la materia que una amplia variedad de implementaciones alternativas o equivalentes calculadas para lograr los mismos fines pueden sustituir las realizaciones específicas mostradas y descritas. La presente solicitud pretende cubrir cualquier adaptación o variación de las realizaciones preferidas tratadas en el presente documento. Por tanto, se pretende manifiestamente que la presente invención se limite solo por las reivindicaciones y los equivalentes de las mismas.

40

REIVINDICACIONES

1. Una capa de fluido para su uso en un método para retornar a un estado normal, una superficie de tejido mucoso lesionada, inflamada o quirúrgicamente reparada en el oído, nariz o garganta, cuyo método comprende:
- 5 a) aplicar a tal superficie de tejido una capa de fluido que contiene una mezcla de quitosano y un polisacárido oxidado que contiene grupos aldehído capaces de promover la rápida reticulación del quitosano, estando el quitosano y el polisacárido oxidado presentes en cantidades suficientes para formar una capa de gel protector *in situ*, y
- 10 b) dejar que la mezcla forme una capa de gel protector *in situ*.
2. Una capa de fluido para su uso según la reivindicación 1, en la que el quitosano es un quitosano no modificado o una sal de quitosano.
- 15 3. Una capa de fluido para su uso según la reivindicación 1, en la que el quitosano es un derivado de quitosano en el que uno o más grupos hidroxilo o amino del quitosano se han modificado para alterar la solubilidad o las características de mucoadhesión del derivado.
- 20 4. Una capa de fluido para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el polisacárido oxidado comprende almidón, celulosa, quitina, quitosano, sulfato de condroitina, dextrano, glucógeno o ácido hialurónico.
- 25 5. Una capa de fluido para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el quitosano y el polisacárido oxidado se combinan en una relación de 10:1 a 1:20.
6. Una capa de fluido para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el quitosano y el polisacárido oxidado se combinan en una relación de 3:1 a 1:5.
- 30 7. Una capa de fluido para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende además iones fosfato.
8. Una capa de fluido para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que dicho método comprende aplicar la capa de fluido a una cavidad nasal o de los senos.
- 35 9. Una capa de fluido para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que dicho método comprende aplicar la capa de fluido a un oído medio o interno.
- 40 10. Una capa de fluido para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que dicho método comprende aplicar la capa de fluido a una garganta.
11. Una capa de fluido para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que dicho método comprende aplicar la capa de fluido de una jeringa de múltiples cilindros.
- 45 12. Una capa de fluido para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que dicho método comprende aplicar la capa de fluido pulverizando.
13. Una capa de fluido para su uso según la reivindicación 1, en la que la capa de gel protector se forma en menos de 5 minutos después de mezclar el quitosano y el polisacárido oxidado.
- 50 14. Una capa de fluido para su uso según la reivindicación 1, en la que la capa de fluido es un gel basado en celulosa que deja un gel durante la degradación.
- 55 15. Una capa de fluido para su uso según la reivindicación 1, en la que la capa de gel protector es biodegradable o biorresorbible, y desaparece de la superficie del tejido en un periodo de tiempo superior a un día y sin dejar grandes trozos sólidos.

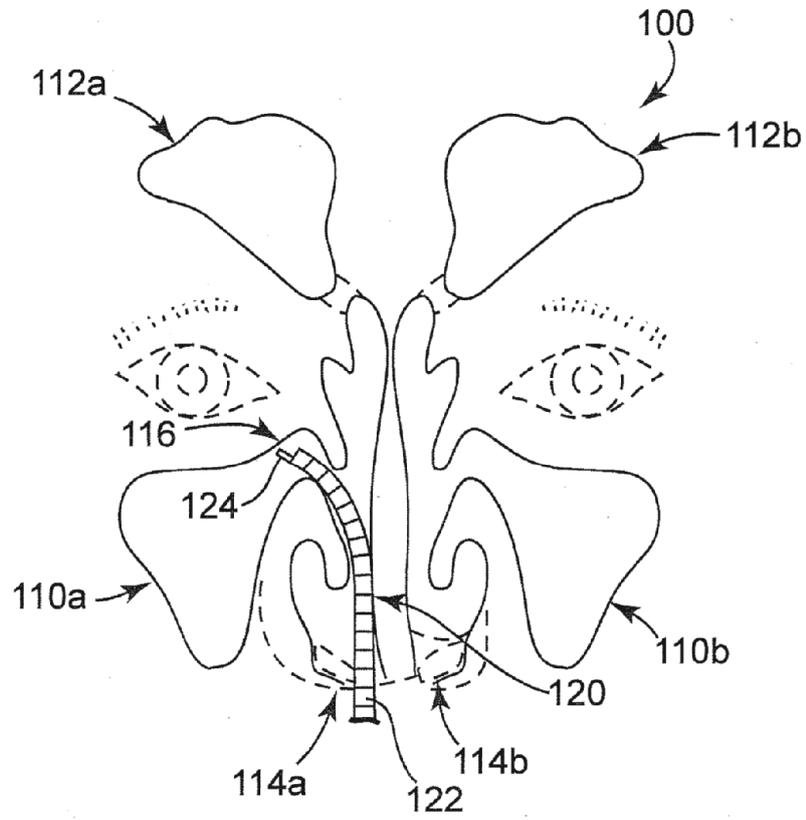


Fig. 1

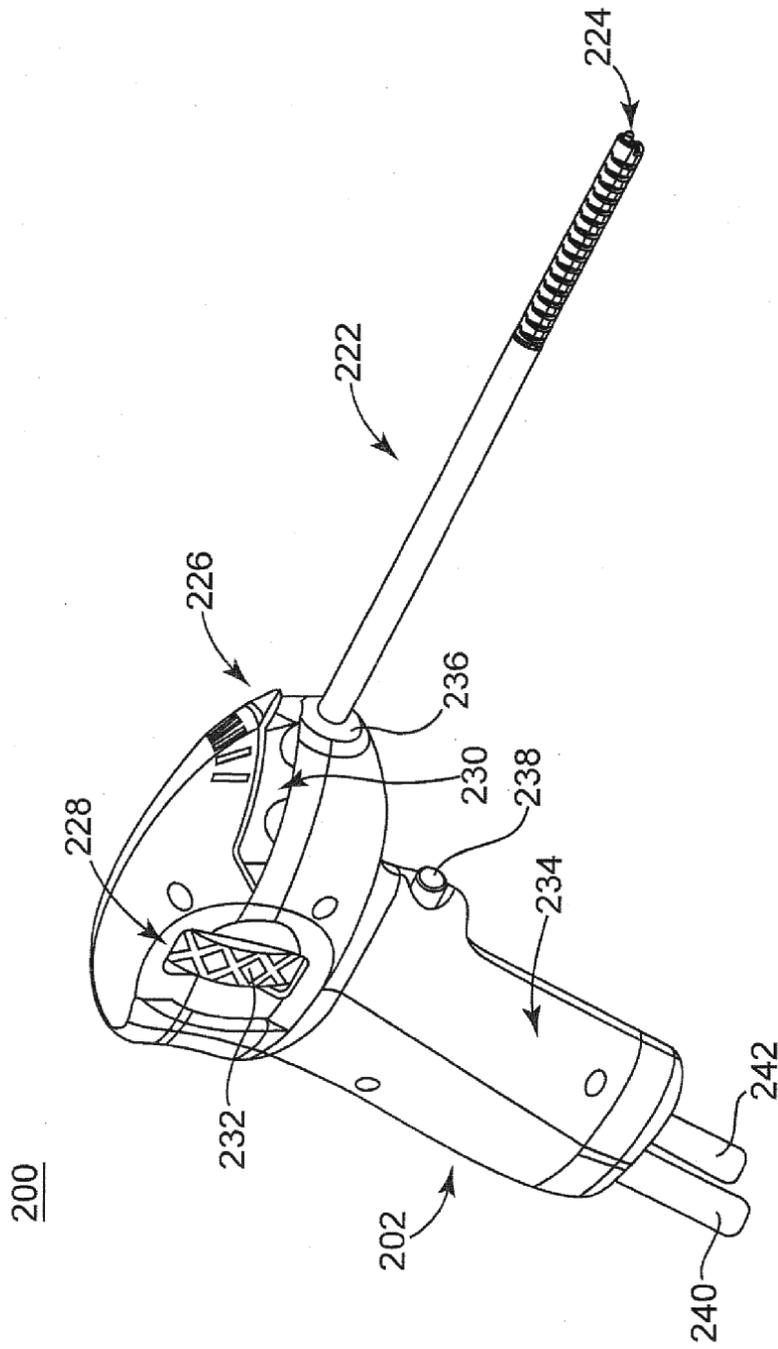


Fig. 2

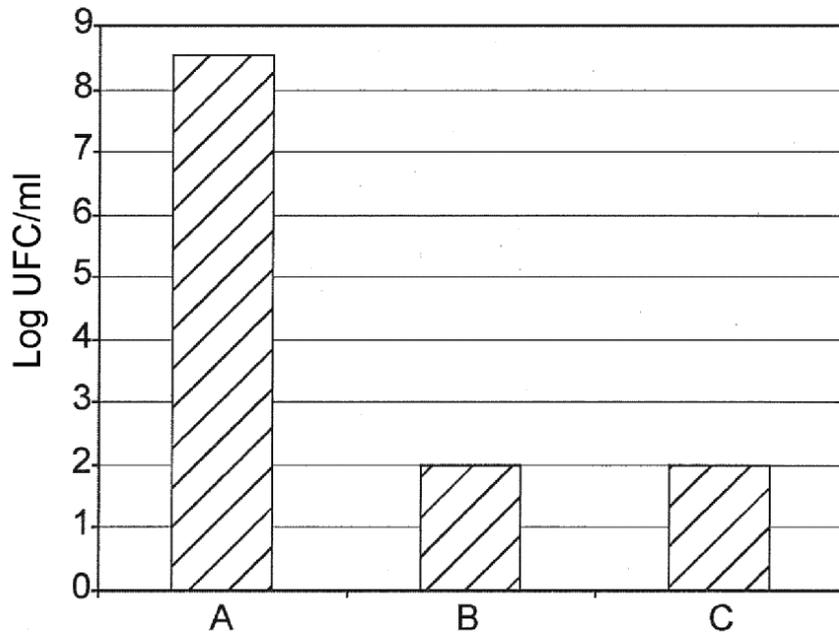


Fig. 3

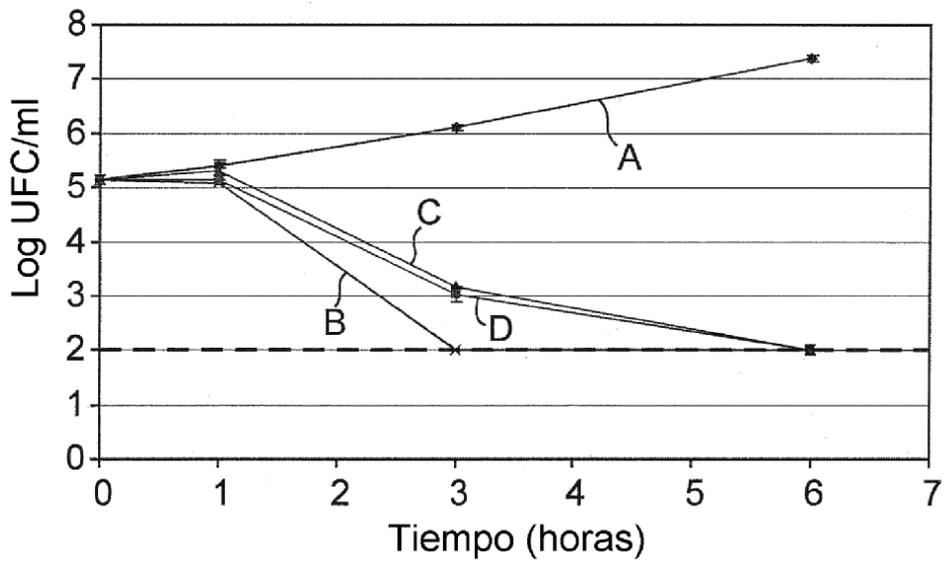


Fig. 4

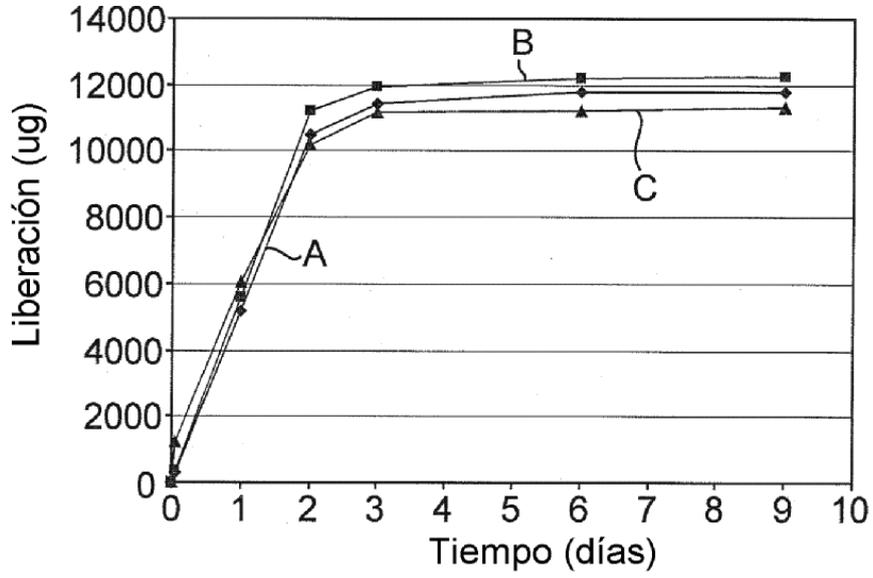


Fig. 5

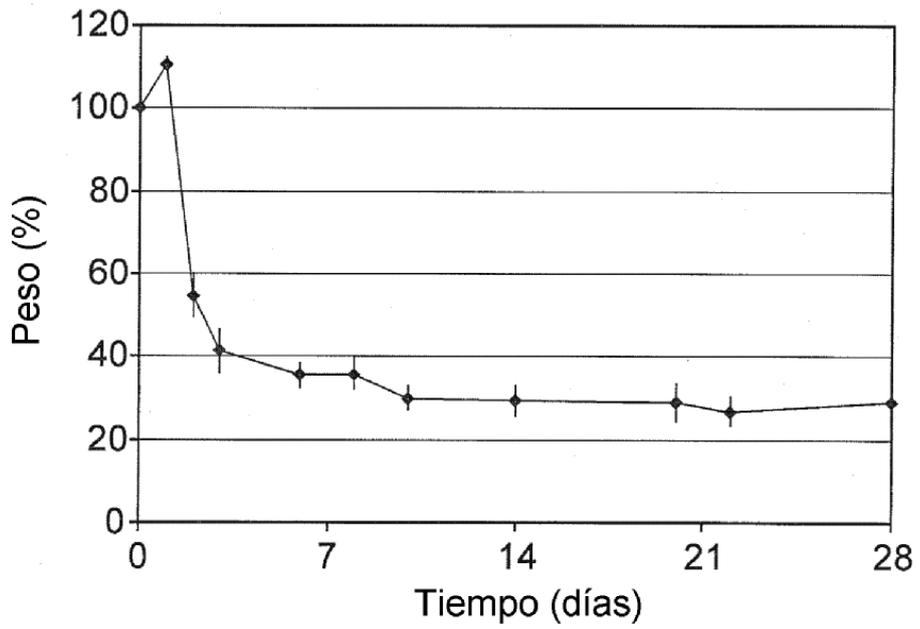


Fig. 6