

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 613 495**

51 Int. Cl.:

A61L 15/26 (2006.01)
A61L 15/34 (2006.01)
A61L 15/44 (2006.01)
A61L 15/38 (2006.01)
A61K 38/48 (2006.01)
A61L 26/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.12.2010 PCT/US2010/059409**
87 Fecha y número de publicación internacional: **16.06.2011 WO2011071986**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.12.2010 E 10793386 (3)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.11.2016 EP 2509624**

54 Título: **Composiciones de desbridamiento enzimático de heridas con actividad enzimática mejorada**

30 Prioridad:

08.12.2009 US 267730 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.05.2017

73 Titular/es:

**SMITH & NEPHEW ORTHOPAEDICS AG (100.0%)
Oberneuhofstrasse 10D
6340 Baar, CH**

72 Inventor/es:

**SHI, LEI;
JOVANOVIC, ALEKSA y
AUST, DUNCAN**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 613 495 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

Composiciones de desbridamiento enzimático de heridas con actividad enzimática mejorada

Antecedentes de la invención**A. Campo de la invención**

- 5 La presente invención se refiere, en general, a composiciones de desbridamiento enzimático de heridas, tópicas, y métodos para tratar heridas con necesidad de desbridamiento.

B. Antecedentes

10 La curación de heridas es un procedimiento complejo que con frecuencia se complica además por la presencia de tejido necrótico, no viable, en el área de la herida. El desbridamiento es el procedimiento de eliminación del tejido no viable de una herida para evitar o disminuir la infección y facilitar la curación. Se han usado composiciones tópicas que contienen enzimas proteolíticas tales como tripsina, papaína, bromelaína, subtilisina, sultilaínas y colagenasa para desbridamiento enzimático de heridas. En general, el estándar de cuidado es aplicar la composición a la herida con necesidad de desbridamiento una vez al día (una vez cada 24 horas) o con más frecuencia si la composición se ensucia. Debido a que muchas enzimas proteolíticas son susceptibles de degradación en composiciones con base acuosa, muchas composiciones de desbridamiento de heridas se fabrican con bases anhidras, hidrófobas, tales como vaselina, aceite de parafina y/o aceite vegetal como se describe en la Patente de EE.UU. 3.821.364 y la Patente de EE.UU. 6.479.060. La Patente de EE.UU. 2005/281806 y la Patente Internacional 2006/135506 se refieren a composiciones para desbridamiento enzimático que comprenden una fase hidrófoba tal como aceite de ricino y un poliol hidrófilo disuelto o dispersado en la composición. Se dispersa una tripsina en polvo o una colagenasa en polvo, papaína en la hidrófoba. La Patente Internacional WO 2007/050543 describe una formulación tópica que comprende una suspensión preparada mezclando agua y propilenglicol entre sí. Por separado, se prepara una disolución hidrófoba mezclando alcohol cetílico, cera emulsionante y BRIJ 76. Se combinan las fases acuosa y oleosa y se mezclan durante 10 minutos a alto cizallamiento para formar una emulsión. Finalmente se añade papaína a la emulsión. Sin embargo, las composiciones de desbridamiento enzimático de heridas basadas en bases hidrófobas, en general, no son miscibles en el entorno acuoso del lecho de la herida y así está impedido en general el contacto de la enzima proteolítica con el lecho de la herida. Algunas otras composiciones se fabrican con bases hidrófilas, anhidras, tales como propilenglicol o poloxámeros como se describe en la Patente de EE.UU. 6.548.556, la Patente de EE.UU. 2003/0198631 y la Patente de EE.UU. 2003/0198632.

Sumario de la invención

30 La presente invención se refiere a composiciones de desbridamiento enzimático de heridas, tópicas, con actividad enzimática mejorada. Estas composiciones comprenden una fase dispersada que comprende al menos una enzima proteolítica y al menos un poliol hidrófilo y una fase continua que comprende una base hidrófoba. Las composiciones de desbridamiento de heridas de la presente invención poseen actividad enzimática mejorada respecto a las composiciones de desbridamiento de heridas de la técnica anterior.

35 En un aspecto de la presente invención, se describe una composición de desbridamiento de heridas que comprende una fase dispersada que comprende un poliol hidrófilo líquido y al menos una enzima proteolítica y una fase continua que comprende una base hidrófoba; en la que la cantidad de poliol hidrófilo líquido está dentro de $\pm 10\%$ p/p de la cantidad óptima del poliol hidrófilo líquido. Por ejemplo, si la cantidad óptima era aproximadamente 30% p/p, la cantidad de poliol hidrófilo líquido que podía usarse estaría entre aproximadamente 20% p/p y aproximadamente 40% p/p de la formulación total para conseguir actividad enzimática mejorada de la formulación. En otro aspecto, la cantidad de poliol hidrófilo líquido está dentro de $\pm 9\%$, 8%, 7% o 6% p/p de la cantidad óptima del poliol hidrófilo líquido. En otro aspecto más, la cantidad de poliol hidrófilo líquido está dentro de $\pm 5\%$, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% o 0,1% p/p de la cantidad óptima del poliol hidrófilo líquido.

45 La "cantidad óptima de poliol hidrófilo líquido" en una composición que comprende (a) una fase dispersada que incluye un poliol hidrófilo líquido y al menos una enzima proteolítica y (b) una fase continua que comprende una base hidrófoba puede determinarse por el método descrito en la Sección A de la sección Descripción Detallada de esta memoria descriptiva, que se incorpora en esta sección por referencia.

50 Un método para determinar si una composición está dentro de $\pm 10\%$ p/p de la cantidad óptima de un poliol hidrófilo líquido se describe en la Sección B de la sección Descripción Detallada de esta memoria descriptiva, que se incorpora por referencia.

55 La cantidad óptima de poliol hidrófilo líquido para composiciones con diferentes enzimas proteolíticas puede diferir. Adicionalmente, la cantidad óptima de poliol hidrófilo líquido para composiciones con una enzima proteolítica específica puede diferir dependiendo de los ingredientes de la composición. Por ejemplo, la cantidad óptima de poliol hidrófilo líquido en una composición de colagenasa que contiene PEG-400 y vaselina puede ser diferente de la cantidad óptima de poliol hidrófilo líquido en una composición de colagenasa que contiene PEG-600 y vaselina o diferente de una composición de colagenasa que contiene poloxámero-124 y vaselina.

El término "poliol hidrófilo" significa alcoholes alifáticos polares, solubles en agua, con al menos dos grupos hidroxilo e incluye, pero no se limita a, polioles poliméricos (por ej., polietilenglicoles y poloxámeros).

El término "líquido" en el contexto de describir "poliol hidrófilo", "polietilenglicol" o "poloxámero" significa que el material está en el estado líquido a 25°C.

- 5 El término "sólido" en el contexto de describir "poliol hidrófilo", "polietilenglicol" o "poloxámero" significa que el material está en el estado sólido a 25°C.

10 En otro aspecto de la presente invención, se describe un método de tratamiento de una herida con necesidad de desbridamiento que comprende: aplicar a la herida una composición que comprende una fase dispersada que comprende un poliol hidrófilo líquido y una concentración de desbridamiento eficaz de al menos una enzima proteolítica y una fase continua que comprende una base hidrófoba; en la que la cantidad de poliol hidrófilo líquido está dentro de $\pm 10\%$ p/p de la cantidad óptima. En otro aspecto, la cantidad de poliol hidrófilo líquido está dentro de $\pm 9\%$, 8% , 7% o 6% p/p de la cantidad óptima. En otro aspecto más, la cantidad de poliol hidrófilo líquido está dentro de $\pm 5\%$, 4% , 3% , 2% , 1% , $0,5\%$ o $0,1\%$ p/p de la cantidad óptima.

15 En algunas realizaciones, la enzima proteolítica es una metaloproteasa, una cisteína proteasa, una serina proteasa o una peptidasa aspártica. En general, la cantidad óptima de poliol hidrófilo para composiciones que comprenden una metaloproteasa, una cisteína proteasa o una serina proteasa es de aproximadamente 10% , 11% , 12% , 13% , 14% , 15% , 16% , 17% , 18% , 19% , 20% , 21% , 22% , 23% , 24% , 25% , 26% , 27% , 28% , 29% , 30% , 31% , 32% , 33% , 34% , 35% , 36% , 37% , 38% , 39% p/p a aproximadamente 40% p/p o cualquier intervalo o cantidad numérica derivable de ahí. La cantidad óptima de poliol hidrófilo para composiciones que comprenden una peptidasa aspártica es de aproximadamente 48% , 49% , 50% , 51% , 52% , 53% , 54% , 55% , 56% , 57% , 58% , 59% , 60% , 61% , 62% , 63% , 64% , 65% , 66% , 67% p/p a aproximadamente 68% p/p o cualquier intervalo o cantidad numérica derivable de ahí. En una realización, la metaloproteasa es colagenasa. En otra realización, la metaloproteasa es colagenasa y la cantidad óptima del poliol hidrófilo es de aproximadamente 10% , 11% , 12% , 13% , 14% , 15% , 16% , 17% , 18% , 19% , 20% , 21% , 22% , 23% , 24% , 25% , 26% , 27% , 28% , 29% , 30% , 31% , 32% , 33% , 34% , 35% , 36% , 37% , 38% , 39% p/p a aproximadamente 40% p/p o cualquier intervalo o cantidad numérica derivable de ahí. En una realización, la metaloproteasa es termolisina. En otra realización, la metaloproteasa es termolisina y la cantidad óptima de poliol hidrófilo es de aproximadamente 19% , 20% , 21% , 22% , 23% , 24% , 25% , 26% , 27% , 28% , 29% , 30% , 31% , 32% , 33% , 34% , 35% , 36% , 37% , 38% p/p a aproximadamente 39% p/p o cualquier intervalo o cantidad numérica derivable de ahí. En una realización, la cisteína proteasa es papaína. En otra realización, la cisteína proteasa es papaína y la cantidad óptima del poliol hidrófilo es de aproximadamente 19% , 20% , 21% , 22% , 23% , 24% , 25% , 26% , 27% , 28% , 29% , 30% , 31% , 32% , 33% , 34% , 35% , 36% , 37% , 38% p/p a aproximadamente 39% p/p o cualquier intervalo o cantidad numérica derivable de ahí. En una realización, la serina proteasa es tripsina. En otra realización, la serina proteasa es tripsina y la cantidad óptima de poliol hidrófilo es de aproximadamente 4% , 5% , 6% , 7% , 8% , 9% , 10% , 11% , 12% , 13% , 14% , 15% , 16% , 17% , 18% , 19% , 20% , 21% , 22% , 23% p/p a aproximadamente 24% p/p o cualquier intervalo o cantidad numérica derivable de ahí. En una realización, la peptidasa aspártica es pepsina. En otra realización, la peptidasa aspártica es pepsina y la cantidad óptima de poliol hidrófilo es de aproximadamente 48% , 49% , 50% , 51% , 52% , 53% , 54% , 55% , 56% , 57% , 58% , 59% , 60% , 61% , 62% , 63% , 64% , 65% , 66% , 67% p/p a aproximadamente 68% p/p o cualquier intervalo o cantidad numérica derivable de ahí. En algunas realizaciones, la enzima proteolítica se suspende en la fase dispersada. En otras realizaciones, la enzima proteolítica se disuelve en la fase dispersada.

En algunas realizaciones, el poliol hidrófilo líquido es un polietilenglicol líquido o un poloxámero líquido o mezclas de los mismos.

45 En algunas realizaciones de la presente invención, la fase dispersada puede comprender además un poliol hidrófilo sólido para ayudar a estabilizar físicamente la composición o reducir o evitar la separación de fases. En algunas realizaciones, el poliol hidrófilo sólido es un poloxámero sólido o un polietilenglicol sólido o mezclas de los mismos.

50 En varias realizaciones de la presente invención, la base hidrófoba comprende vaselina, aceite de parafina o aceite vegetal o mezclas de los mismos. En una realización, la base comprende vaselina. En otra realización, la base hidrófoba comprende un aceite vegetal. En otra realización más, la base hidrófoba comprende aceite de parafina. En una realización más, la base hidrófoba comprende vaselina y aceite de parafina, vaselina y aceite vegetal, aceite de parafina y aceite vegetal o vaselina, aceite de parafina y aceite vegetal. En otra realización más, la base hidrófoba comprende un aceite vegetal, en la que el aceite vegetal es aceite de ricino.

En una realización, la composición es un semisólido. En otra realización, la composición es un líquido. En otras realizaciones, la composición está impregnada en una almohadilla, gasa o esponja. En una realización, la composición es estéril o anhidra o ambas.

55 La composición puede envasarse en cualquier envase apropiado para dispensar un agente de desbridamiento de heridas. Las composiciones pueden envasarse en envases multiuso, de una sola dosis o dosificadores. Los ejemplos no limitantes incluyen un tubo, bote, tarro, envase para bombear, envase presurizado, envase vesicular, envase de aerosol, envase pulverizador de aerosol, envase pulverizador no de aerosol, jeringa, bolsa o sobrecito.

En otra realización de la presente invención, se describe un método para determinar la cantidad óptima de poliol hidrófilo líquido que se tiene que añadir a una composición fijada como objetivo que comprende una fase dispersada que incluye una enzima proteolítica y una fase continua que incluye una base hidrófoba, comprendiendo el método: (1) obtener una serie de composiciones que comprendan la fase dispersada y la fase continua, en las que la fase dispersada incluya además un poliol hidrófilo líquido y en las que cada composición en la serie de composiciones incluya una cantidad idéntica de enzima proteolítica y una cantidad diferente del poliol hidrófilo líquido; (2) determinar la actividad enzimática de cada composición en la serie de composiciones; (3) determinar el punto más alto en una gráfica que representa gráficamente la actividad enzimática frente a la cantidad de poliol o polioles hidrófilos líquidos incluidos en cada composición de la serie de composiciones, en la que el punto más alto en la gráfica se correlaciona con la cantidad óptima de poliol hidrófilo líquido que se tiene que añadir a la composición fijada como objetivo. En un aspecto, la actividad enzimática de la serie de composiciones puede determinarse usando el modelo de ensayo de escara artificial in vitro como se describe en esta memoria descriptiva.

En un aspecto más de la presente invención, se describe un método para aumentar la actividad enzimática en una composición fijada como objetivo que comprende una fase dispersada que incluye una enzima proteolítica y una fase continua que incluye una base hidrófoba, comprendiendo el método: (1) obtener una serie de composiciones que comprendan la fase dispersada y la fase continua, en la que la fase dispersada incluye además un poliol hidrófilo líquido y en la que cada composición en la serie de composiciones incluye una cantidad idéntica de enzima proteolítica y una cantidad diferente del poliol hidrófilo líquido; (2) determinar la actividad enzimática de cada composición en la serie de composiciones; (3) determinar el punto más alto en una gráfica que representa gráficamente la actividad enzimática frente a la cantidad de poliol o polioles hidrófilos líquidos incluidos en cada composición de la serie de composiciones, en la que el punto más alto en la gráfica se correlaciona con una cantidad óptima de poliol hidrófilo líquido que se tiene que añadir a la composición fijada como objetivo y (4) añadir \pm 10% p/p de la cantidad óptima de poliol hidrófilo líquido a la composición fijada como objetivo, aumentando de ese modo la actividad enzimática de la composición fijada como objetivo. En un aspecto, la actividad enzimática de la serie de composiciones puede determinarse usando el modelo de ensayo de escara artificial in vitro como se describe en esta memoria descriptiva.

La cantidad de poliol en la serie de composiciones puede variar de cada composición aleatoriamente o por una cantidad seleccionada. En una realización, la cantidad de poliol en cada composición de la serie de composiciones puede ser: 0%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71 %, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9% o 100% en peso o volumen de la composición.

El término "anhidro" significa que las composiciones contienen menos de aproximadamente 5% p/p o menos de aproximadamente 3% p/p o menos de aproximadamente 1% p/p o menos de aproximadamente 0,5% p/p o menos de aproximadamente 0,1% p/p en relación con la composición total o 0%, de agua libre o añadida, no contando el agua de hidratación, agua ligada o niveles de humedad típicos presentes en cualquiera de los ingredientes brutos de las composiciones.

A menos que se especifique de otro modo, los valores del porcentaje expresados en la presente memoria son peso por peso y son en relación a la composición total.

El uso del término "un" o "uno" cuando se usa junto con el término "que comprende" o "que contiene" en las reivindicaciones y/o la memoria descriptiva puede significar "uno", pero también es consistente con el significado de "uno o más", "al menos uno" y "uno o más de uno".

Por toda esta solicitud, el término "aproximadamente" se usa para indicar que un valor incluye la variación inherente de error para el dispositivo que obtiene el valor, empleándose el método para determinar el valor, o la variación que existe entre los objetos que se están evaluando.

Como se usa en esta memoria descriptiva y la reivindicación o las reivindicaciones, las expresiones "que comprende" (y cualquier forma de que comprende, tal como "comprenden" y "comprende"), "teniendo" (y cualquier forma de teniendo, tal como "tienen" y "tiene"), "incluyendo" (y cualquier forma de incluyendo, tal como "incluye" e "incluyen") o "conteniendo" (y cualquier forma de conteniendo, tal como "contiene" y "contienen") son inclusive o indefinido y no excluyen elementos o etapas del método no citados, adicionales.

Los términos "tratando", "inhibiendo", "evitando" o "reduciendo" o cualquier variación de estos términos, cuando se usan en las reivindicaciones y/o la memoria descriptiva incluyen cualquier disminución medible o inhibición completa para conseguir un resultado deseado.

El término "eficaz", como se usa ese término en la memoria descriptiva y/o las reivindicaciones, significa adecuado para conseguir un resultado deseado, esperado o destinado.

Las composiciones y los métodos para su uso pueden "comprender", "consistir esencialmente en", "consistir en" cualquiera de los ingredientes o etapas descritos por toda la memoria descriptiva. Con respecto a la fase de transición "consistiendo esencialmente en" y en un aspecto no limitante, una característica básica y novedosa de las composiciones y los métodos descritos en esta memoria descriptiva incluyen la actividad enzimática mejorada de la composición.

La invención es tal y como se reivindica en las reivindicaciones.

Breve descripción de los dibujos

FIG. 1. Representación gráfica de la actividad de la colagenólisis in vitro (mg/ml) de una serie de composiciones que comprende una fase dispersada que comprende colagenasa y PEG-400, dispersados en una fase hidrófoba que comprende vaselina blanca (eje y) frente al porcentaje del PEG-400 comprendido en la serie de composiciones (eje x).

FIG. 2. Representación gráfica de la actividad de la colagenólisis in vitro (mg/ml) de una serie de composiciones que comprende una fase dispersada que comprende colagenasa y PEG-600, dispersados en una fase hidrófoba que comprende vaselina blanca (eje y) frente al porcentaje del PEG-600 comprendido en la serie de composiciones (eje x).

FIG. 3. Representación gráfica de la actividad de la colagenólisis in vitro (mg/ml) de una serie de composiciones que comprenden una fase dispersada que comprende colagenasa y poloxámero-124, dispersados en una fase hidrófoba que comprende vaselina blanca (eje y) frente al porcentaje del poloxámero-124 comprendido en la serie de composiciones (eje x).

FIG. 4. Representación gráfica de la actividad de la colagenólisis in vitro (mg/ml) de una serie de composiciones que comprenden una fase dispersada que comprende tripsina y PEG-400, dispersados en una fase hidrófoba que comprende vaselina blanca (eje y) frente al porcentaje del PEG-400 comprendido en la serie de composiciones (eje x).

FIG. 5. Representación gráfica de la actividad de la colagenólisis in vitro (mg/ml) de una serie de composiciones que comprenden una fase dispersada que comprende papaína y PEG-400, dispersados en una fase hidrófoba que comprende vaselina blanca (eje y) frente al porcentaje del PEG-400 comprendido en la serie de composiciones (eje x).

FIG. 6. Representación gráfica de la actividad de la colagenólisis in vitro (mg/ml) de una serie de composiciones que comprenden una fase dispersada que comprende termolisina y PEG-400, dispersados en una fase hidrófoba que comprende vaselina blanca (eje y) frente al porcentaje del PEG-400 comprendido en la serie de composiciones (eje x).

FIG. 7. Representación gráfica de la actividad de la colagenólisis in vitro (mg/ml) de una serie de composiciones que comprenden una fase dispersada que comprende pepsina y PEG-400, dispersados en una fase hidrófoba que comprende vaselina blanca (eje y) frente al porcentaje del PEG-400 comprendido en la serie de composiciones (eje x).

FIG. 8. Representación gráfica de la liberación física de colagenasa (mg) de una serie de composiciones que comprende una fase dispersada que comprende colagenasa y PEG-400, dispersados en una fase hidrófoba que comprende vaselina blanca (eje y) frente al porcentaje del PEG-400 comprendido en la serie de composiciones (eje x).

FIG. 9. Estabilidad enzimática en dispersión de PEG en vaselina blanca comparada con crema de emulsión de aceite en agua.

FIG. 10. Eficacia de desbridamiento en eliminación de escara en quemadura de cerdo.

Descripción detallada

Un aspecto de la presente invención proporciona composiciones de desbridamiento enzimático de heridas, tópicas, con actividad enzimática mejorada. Estas composiciones comprenden una fase dispersada que comprende al menos una enzima proteolítica y un poliol hidrófilo y una fase continua que comprende una base hidrófoba. En un aspecto de la invención, el poliol hidrófilo es un poliol hidrófilo líquido.

Se encontró que la actividad enzimática (por ejemplo, colagenólisis in vitro) de las composiciones de la presente invención, que son dispersiones de un poliol hidrófilo y una enzima proteolítica en una base hidrófoba, no sólo fue mayor que la actividad enzimática de las composiciones de enzimas basadas solamente en una combinación de enzima proteolítica y base hidrófoba (es decir, no fase hidrófila tal como un poliol hidrófilo), sino también sorprendentemente mayor que las composiciones de enzimas basadas solamente en una combinación de enzima proteolítica y base hidrófila (es decir, no fase hidrófoba tal como vaselina). Puesto que las enzimas se activan en presencia de humedad, se habría esperado observar la actividad enzimática más alta en composiciones basadas

solamente en una combinación de enzima proteolítica y base hidrófila, donde la base sería completamente miscible en humedad y las condiciones serían las más favorables para liberación y activación de la enzima. Sin embargo, la composición de dispersión de las fases hidrófila e hidrófoba de la presente invención presentaba la actividad enzimática más alta que se correlaciona con una cantidad óptima del poliol hidrófilo que era mayor que 0% y menor que 100% del poliol hidrófilo en la composición.

Se encontró, de manera esperada, que la liberación de enzima física en las composiciones basadas solamente en un vehículo hidrófilo era mayor que la liberación de la enzima en composiciones basadas solamente en un vehículo hidrófobo y también mayor que las composiciones de la presente invención. Como se observa en la **FIG. 8**, el perfil de liberación de enzima aumenta en general con el porcentaje creciente de poliol hidrófilo (PEG-400), con la liberación más alta a 100% y la liberación más baja a 0%. Sin embargo, sorprendentemente, la actividad enzimática fue mayor con las composiciones de dispersión de la presente invención (véanse las FIGS. 1-7). Así, el perfil de actividad enzimática de estas composiciones de dispersión no se correlaciona con el perfil de liberación de enzima física como se esperaría.

Las composiciones de la presente invención son adecuadas para tratamiento de una herida con necesidad de desbridamiento por aplicación a la herida de una composición que comprende una fase dispersada que comprende un poliol hidrófilo y una concentración de desbridamiento eficaz de al menos una enzima proteolítica y una fase continua que comprende una base hidrófoba; en la que la cantidad de poliol hidrófilo está dentro de $\pm 10\%$ p/p de la cantidad óptima o $\pm 9\%$, 8% , 7% o 6% p/p de la cantidad óptima o $\pm 5\%$, 4% , 3% , 2% , 1% , $0,5\%$ o $0,1\%$ p/p de la cantidad óptima de poliol hidrófilo.

Estos aspectos y otros no limitantes de la presente invención se discuten con más detalle en las siguientes secciones.

A. Método para determinar la cantidad óptima de poliol hidrófilo líquido.

El siguiente protocolo puede usarse para preparar una serie de composiciones (referido como "Series de Composiciones") y para determinar con posterioridad la cantidad óptima de poliol hidrófilo líquido que puede usarse en una dispersión de la presente invención:

Se pueden usar once (11) composiciones para crear la Serie de Composiciones. Obsérvese que la cantidad (% p/p) de enzima proteolítica en la serie de composiciones se mantiene constante. Se pueden usar las siguientes etapas para preparar las once (11) composiciones:

(i) Determinar los ingredientes (es decir, poliol hidrófilo líquido, enzima proteolítica y base hidrófoba) que se tienen que usar en las Series de Composiciones y seleccionar la cantidad de enzima proteolítica que se tiene que usar. Como ejemplo, poliol hidrófilo líquido (por ej., PEG 400), enzima proteolítica (por ej., colagenasa al 1% p/p) y base hidrófoba (por ej., vaselina blanca).

(ii) Para la composición uno en la Serie de Composiciones, usar 0% del poliol hidrófilo líquido, usar la cantidad seleccionada de enzima proteolítica y c. s., del lote con la base hidrófoba a 100% . Por ejemplo, y haciendo referencia a la etapa (i) anterior, la composición uno de la Serie de Composiciones tendría: 0% p/p de PEG 400, 99% p/p de vaselina blanca y 1% p/p de colagenasa.

(iii) Para la composición dos en la Serie de Composiciones, usar 10% p/p del poliol hidrófilo líquido, la misma cantidad de la enzima proteolítica y c. s. del lote con la base hidrófoba a 100% . (Obsérvese que está permitido usar algún poliol hidrófilo sólido en la constitución del poliol hidrófilo líquido como sea necesario para producir una dispersión físicamente estable para composiciones de la Serie de Composiciones).

(iv) Para la composición tres en la Serie de Composiciones, usar 20% p/p del poliol hidrófilo líquido, la misma cantidad de la enzima proteolítica y c. s. del lote con la base hidrófoba a 100% .

(v) Para la composición cuatro en la Serie de Composiciones, usar 30% p/p del poliol hidrófilo líquido, la misma cantidad de la enzima proteolítica y c. s. del lote con la base hidrófoba a 100% .

(vi) Para la composición cinco en la Serie de Composiciones, usar 40% p/p del poliol hidrófilo líquido, la misma cantidad de la enzima proteolítica y c. s. del lote con la base hidrófoba a 100% .

(vii) Para la composición seis en la Serie de Composiciones, usar 50% p/p del poliol hidrófilo líquido, la misma cantidad de la enzima proteolítica y c. s. del lote con la base hidrófoba a 100% .

(viii) Para la composición siete en la Serie de Composiciones, usar 60% p/p del poliol hidrófilo líquido, la misma cantidad de la enzima proteolítica y c. s. del lote con la base hidrófoba a 100% .

(ix) Para la composición ocho en la Serie de Composiciones, usar 70% p/p del poliol hidrófilo líquido, la misma cantidad de la enzima proteolítica y c. s. del lote con la base hidrófoba a 100% .

(x) Para la composición nueve en la Serie de Composiciones, usar 80% p/p del poliol hidrófilo líquido, la misma cantidad de la enzima proteolítica y c. s. del lote con la base hidrófoba a 100%.

(xi) Para la composición diez en la Serie de Composiciones, usar 90% p/p del poliol hidrófilo líquido, la misma cantidad de la enzima proteolítica y c. s. del lote con la base hidrófoba a 100%.

5 (xii) Para la composición once en la Serie de Composiciones, usar 0% de la base hidrófoba, la misma cantidad de la enzima proteolítica y c. s. del lote con el poliol hidrófilo.

(xiii) determinar la actividad enzimática de cada una de las once composiciones en la Serie de Composiciones usando el modelo de ensayo de escara artificial in vitro para los siguientes tiempos de recogida de muestras: 6, 12, 18 y 24 horas, como se describe en la Sección H de la sección Descripción Detallada de esta memoria descriptiva.

10 (ivx) representar gráficamente una curva de la actividad enzimática de cada composición frente a la cantidad que se correlaciona de poliol o de polioles hidrófilos líquidos presentes en cada composición de la Serie de Composiciones de manera acumulativa para cada tiempo de recogida de datos. El punto más alto en la curva para el tiempo de recogida de datos de 24 horas acumulativo se correlaciona con la cantidad óptima de poliol hidrófilo líquido que puede usarse en una dispersión.

15 Además, dado que pueden incluirse múltiples ingredientes en la Serie de Composiciones (por ejemplo, poliol o polioles, enzima o enzimas proteolíticas, base hidrófoba e ingredientes adicionales dentro de la fase dispersada y/o ingredientes adicionales dentro de la fase hidrófoba continua), puede crearse la Serie de Composiciones (1) variando la cantidad de poliol hidrófilo como se discutió anteriormente para cada composición de la serie, (2) usando la cantidad determinada de enzima proteolítica y (3) c. s. para el lote a 100% con la cantidad de los ingredientes
20 adicionales incluyendo la base hidrófoba; excepto para la composición once, donde el lote sería añadido en c. s. para 100% con la cantidad de los ingredientes adicionales incluyendo el poliol hidrófilo.

B. Método para determinar si una composición comprende +/- 10% p/p de la cantidad óptima de poliol hidrófilo líquido.

25 Se puede determinar si una composición que comprende (a) una fase dispersada que incluye un poliol hidrófilo líquido y al menos una enzima proteolítica y (b) una fase continua que comprende una base hidrófoba (referido como "Composición de Interés") está dentro de $\pm 10\%$ de la cantidad óptima de poliol hidrófilo líquido usando el siguiente protocolo:

Etapa uno: Obtener una composición de interés que incluya: (i) una fase dispersada que incluya un poliol o polioles hidrófilos líquidos y una enzima proteolítica y (ii) una fase continua que incluya una base hidrófoba.

30 Etapa dos: Preparar una serie de composiciones (referido como "Serie de Composiciones") basado en la composición de interés. Obsérvese que la cantidad (% p/p) de enzima proteolítica en la Serie de Composiciones se mantiene constante y es la misma que la cantidad (% p/p) presente en la composición de interés. Se pueden usar las siguientes etapas para preparar la Serie de Composiciones:

(i) Determinar la cantidad de todos los ingredientes en la composición de interés (% p/p).

35 (ii) Determinar la cantidad total de la fase continua en la composición de interés (% p/p). Como ejemplo, si la composición de interés incluye 15% p/p de poliol hidrófilo líquido (por ej., PEG 400), 1% p/p de enzima proteolítica (por ej., colagenasa) y 84% p/p de base hidrófoba (por ej., vaselina blanca), entonces la composición de interés sería 84% p/p de fase continua y 16 % p/p de fase dispersada.

40 Etapa tres: Preparar la Serie de Composiciones de una manera descrita anteriormente en la Sección A de esta memoria descriptiva (por ej., esto incluiría preparar 11 composiciones de una manera descrita en la Sección A de esta memoria descriptiva).

45 Etapa cuatro: Determinar la actividad enzimática de cada una de las once composiciones en la Serie de Composiciones usando el modelo de ensayo de escara artificial in vitro para cada uno de los siguientes tiempos de recogida de muestras: 6, 12, 18 y 24 horas, como se describe en la Sección H de la sección Descripción Detallada de esta memoria descriptiva.

50 Etapa cinco: Representar gráficamente una curva de la actividad enzimática de cada composición frente a la cantidad que se correlaciona de poliol o de polioles hidrófilos líquidos presentes en cada composición de la Serie de Composiciones de manera acumulativa para cada tiempo de recogida de datos. El punto más alto en la curva para el tiempo de recogida de datos de 24 horas acumulativo se correlaciona con la cantidad óptima de poliol hidrófilo líquido para la Composición de interés.

Etapas seis: Comparar la cantidad de poliol hidrófilo líquido presente en la composición de interés para determinar si está dentro de $\pm 10\%$ p/p de la cantidad óptima de poliol hidrófilo líquido para la Composición de interés.

C. Enzimas proteolíticas

5 Cualquier enzima proteolítica útil para desbridamiento de heridas es adecuada para la presente invención. Las enzimas proteolíticas (proteasas) descomponen proteína por hidrólisis de los enlaces peptídicos que unen aminoácidos entre sí en la cadena polipeptídica de una proteína. Se dividen en cuatro grupos principales sobre la base de mecanismo catalítico: serina proteasas, cisteína proteasas, metaloproteasas y proteasas aspárticas. Se han identificado algunas proteasas con otros aminoácidos catalíticos en el sitio activo, tales como treonina y ácido glutámico; sin embargo, no forman grupos principales.

1. Serina proteasas

10 Las serina proteasas dependen del grupo hidroxilo de un resto serina que actúa como el nucleófilo que ataca el enlace peptídico. Los clanes principales encontrados en seres humanos incluyen los de tipo quimiotripsina, el tipo subtilisina, la alfa/beta hidrolasa y clanes de peptidasa señal. En la historia evolutiva, las serina proteasas fueron originalmente enzimas digestivas. En los mamíferos, evolucionaron por duplicación génica para cumplir funciones en coagulación sanguínea, el sistema inmunitario e inflamación. Estas proteasas presentan una amplia especificidad de sustrato y actúan en un amplio intervalo de pH. Ejemplos no limitantes de serina proteasas incluyen: tripsina, quimiotripsina, subtilisina, sutilainas, plasmina y elastasas.

15 2. Cisteína proteasas

20 Las peptidasas en las que el nucleófilo que ataca el enlace peptídico escindible en el grupo sulfhidrilo de un resto cisteína se conocen como cisteína proteasas. Las cisteína proteasas se encuentran comúnmente en las frutas incluyendo papaya, piña y kiwi. Las cisteína proteasas presentan una amplia especificidad y se usan ampliamente en condiciones fisiológicas. En esta familia, la papaína se ha usado extensamente para desbridamiento de heridas durante un tiempo prolongado. Otras cisteína proteasas, tales como bromelaína y analaína, han sido investigadas también para aplicaciones en desbridamiento de heridas. Otros ejemplos no limitantes de cisteína proteasas incluyen: calpaína, caspasas, quimiopapaína y clostripaína.

3. Metaloproteasas

25 Las metaloproteasas están entre las proteasas en las que el ataque nucleófilo en un enlace peptídico está mediado por una molécula de agua, mientras que un catión de metal divalente, normalmente cinc, pero a veces cobalto, manganeso, níquel o cobre, activa la molécula de agua. Los iones metálicos son extremadamente importantes para la actividad. Cualquier compuesto que presente potencial para interactuar con el ión metálico, quelación u oxidación, afectará a la actividad enzimática. Ejemplos no limitantes de metaloproteasas en esta familia incluyen: termolisina, colagenasas, metaloproteinasas de matriz (las MPM), bacilolisina, dispasa, vibriolisina, pseudolisina, estromelisina y varias metaloproteasas neutras procedentes de bacterias.

4. Peptidasas aspárticas

35 Las peptidasas aspárticas se denominan así debido a que los restos ácido aspártico son los ligandos de la molécula de agua activada. En la mayoría de las enzimas de esta familia, un par de restos aspárticos actúan juntos para unir y activar la molécula de agua catalítica. Todas o la mayoría de las peptidasas aspárticas son endopeptidasas. La mayoría de las peptidasas aspárticas presentan una amplia especificidad. Sin embargo, el pH óptimo de la mayoría de las peptidasas aspárticas está en el intervalo ácido. Ejemplos no limitantes de peptidasas aspárticas son: pepsina, quimiosina, betasecretasa, plasmepsina, proteasas de ácidos vegetales y proteasas retrovirales.

5. Colagenasa

40 Una enzima proteolítica adecuada para desbridamiento de heridas es la metaloproteasa colagenasa. La colagenasa puede ser sustancialmente pura o puede contener niveles detectables de otras proteasas.

45 El ensayo de potencia de colagenasa y el significado de "unidades de colagenasa" como se usa en la presente memoria, se basa en la digestión de colágeno no desnaturalizado de (tendón de Aquiles bovino) a pH 7,2 y 37°C durante 24 horas. El número de enlaces peptídicos escindidos se mide por reacción con ninhidrina. Los grupos amino liberados por un control de digestión de tripsina se sustraen. Una unidad de colagenasa neta solubilizará material reactivo de ninhidrina equivalente a 1 nanomol de equivalentes de leucina por minuto.

50 La cantidad (potencia o concentración) de colagenasa en las composiciones de la presente invención es en un nivel eficaz para desbridar la herida. En general, la potencia de la colagenasa en las composiciones puede variar desde aproximadamente 1 a aproximadamente 10.000 unidades de colagenasa por gramo de producto, basado en la actividad de la colagenasa usada en el producto. En varias realizaciones, la potencia, expresada como unidades de colagenasa por gramo de producto, es de aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1.000, 1.500, 2.000, 2.500, 3.000, 3.500, 4.000, 4.500, 5.000, 5.500, 6.000, 6.500, 7.000, 7.500, 8.000, 8.500, 9.000, 9.500 a aproximadamente 10.000 o cualquier intervalo o cantidad numérica derivable de ahí.

La concentración de colagenasa en las composiciones en general puede variar desde aproximadamente 0,001% p/p a aproximadamente 8% p/p. En varias realizaciones, la concentración, expresada como peso de porcentaje en peso, es de aproximadamente 0,001, 0,002, 0,003, 0,004, 0,005, 0,006, 0,007, 0,008, 0,009, 0,010, 0,015, 0,020, 0,025, 0,030, 0,035, 0,040, 0,050, 0,055, 0,060, 0,065, 0,070, 0,075, 0,080, 0,085, 0,090, 0,095, 0,100, 0,125, 0,150, 0,175, 0,20, 0,25, 0,30, 0,35, 0,40, 0,45, 0,50, 0,55, 0,60, 0,65, 0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 a aproximadamente 8 o cualquier intervalo o cantidad numérica derivable de ahí.

En una realización, la colagenasa procede de *Clostridium histolyticum*; sin embargo, en otras realizaciones, la colagenasa puede proceder de otras fuentes. Los métodos para producir una colagenasa adecuada se describen en las patentes de EE.UU. 3.705.083; 3.821.364; 5.422.261; 5.332.503; 5.422.103; 5.514.370; 5.851.522; 5.718.897 y 6.146.626.

6. Tripsina

Otra enzima proteolítica adecuada para desbridamiento de heridas es la serina proteasa tripsina. Típicamente, la tripsina procede del páncreas de animales bovinos o porcinos sanos o ambos. La tripsina también puede proceder de fuentes recombinantes. La calidad farmacéutica (FEU/FN, Farmacopea de Estados Unidos/Formulario Nacional) de la tripsina se conoce como tripsina cristalizada. No contiene menos de 2.500 unidades de tripsina FEU por mg, calculado sobre la base seca y no menos de 90,0% y no más de 110,0% de la potencia marcada. El ensayo de potencia de tripsina, así como la definición de una unidad de tripsina FEU se encuentran en la monografía de la tripsina cristalizada de la FEU 31 (Oficial 1 de agosto de 2.008).

La cantidad (potencia o concentración) de tripsina en las composiciones de la presente invención está en un nivel eficaz para desbridar la herida. En general, la potencia de tripsina en las composiciones puede variar de aproximadamente 90 a aproximadamente 60.000 Unidades de tripsina FEU por gramo de producto. En varias realizaciones, la potencia de tripsina, expresada como Unidades de tripsina FEU por gramo de producto, es de aproximadamente 90, 100, 150, 200, 250, 300, 320, 350, 375, 400, 500, 600, 675, 700, 800, 900, 1.000, 2.000, 3.000, 4.000, 5.000, 10.000, 20.000, 30.000, 40.000, 50.000 a aproximadamente 60.000 o cualquier intervalo o cantidad numérica derivable de ahí.

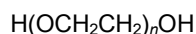
La concentración de tripsina en las composiciones en general puede variar desde aproximadamente 0,0025% p/p a aproximadamente 1% p/p. En varias realizaciones, la concentración de tripsina, expresada como peso en porcentaje en peso, es de aproximadamente 0,0025, 0,0050, 0,010, 0,015, 0,020, 0,025, 0,030, 0,035, 0,040, 0,045, 0,050, 0,055, 0,060, 0,065, 0,070, 0,075, 0,080, 0,085, 0,090, 0,095, 0,10, 0,15, 0,20, 0,25, 0,30, 0,35, 0,40, 0,45, 0,50, 0,55, 0,60, 0,65, 0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95 a aproximadamente 1 o cualquier intervalo o cantidad numérica derivable de ahí.

D. Polioles hidrófilos

Los polioles hidrófilos de la presente invención son alcoholes alifáticos polares, solubles en agua, con al menos dos grupos hidroxilo e incluyen polioles poliméricos, por ejemplo, polietilenglicoles y poloxámeros. En un aspecto de la invención, el poliol hidrófilo en la fase dispersada es un poliol hidrófilo líquido. En algunas realizaciones, el poliol hidrófilo líquido es un polietilenglicol líquido o un poloxámero líquido o mezclas de los mismos. Los polioles hidrófilos sólidos tales como polietilenglicoles sólidos o poloxámeros sólidos también pueden añadirse a la fase dispersada de la invención para ayudar a estabilizar físicamente la dispersión. Otros ejemplos de polioles hidrófilos líquidos incluyen, pero no se limitan a, propilenglicol, butilenglicol, pentilenglicol, hexilenglicol, glicerina, hexilenglicol, metoxipolietilenglicol, carbonato de propileno y etoxidiglicol y éstos también pueden añadirse a la fase dispersada.

1. Polietilenglicoles

Los polietilenglicoles son homopolímeros de etilenglicol y agua representados por la fórmula:



en la que n representa el número promedio de grupos oxietileno. Los polietilenglicoles pueden ser líquidos o sólidos a 25°C dependiendo de sus pesos moleculares.

Los siguientes ejemplos no limitantes adecuados de polietilenglicoles líquidos se describen usando nomenclatura FEU: polietilenglicol 200, polietilenglicol 300, polietilenglicol 400, polietilenglicol 500 y polietilenglicol 600.

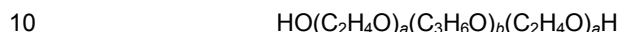
Los siguientes ejemplos no limitantes adecuados de polietilenglicoles sólidos se describen usando nomenclatura FEU: polietilenglicol 700, polietilenglicol 800, polietilenglicol 900, polietilenglicol 1.000, polietilenglicol 1.100, polietilenglicol 1.200, polietilenglicol 1.300, polietilenglicol 1.400, polietilenglicol 1.450, polietilenglicol 1.500, polietilenglicol 1.600, polietilenglicol 1.700, polietilenglicol 1.800, polietilenglicol 1.900, polietilenglicol 2.000, polietilenglicol 2.100, polietilenglicol 2.200, polietilenglicol 2.300, polietilenglicol 2.400, polietilenglicol 2.500, polietilenglicol 2.600, polietilenglicol 2.700, polietilenglicol 2.800, polietilenglicol 2.900, polietilenglicol 3000, polietilenglicol 3.250, polietilenglicol 3.350, polietilenglicol 3.750, polietilenglicol 4.000, polietilenglicol 4.250,

polietilenglicol 4.500, polietilenglicol 4.750, polietilenglicol 5.000, polietilenglicol 5500, polietilenglicol 6.000, polietilenglicol 6.500, polietilenglicol 7.000, polietilenglicol 7.500 y polietilenglicol 8.000.

5 Los polietilenglicoles líquidos y sólidos están comercialmente disponibles en la compañía the DOW Chemical con el nombre comercial CARBOWAX™ y en BASF Corporation con los nombres comerciales LUTROL® E y PLURACARE® E. Ambos polietilenglicoles de calidad farmacéutica (FEU/FN) y calidad cosmética son adecuados para la presente invención.

2. Poloxámeros

Los poloxámeros son copolímeros de bloque sintéticos de óxido de etileno y óxido de propileno representados por la fórmula:



en cuya fórmula *a* y *b* representan el número de unidades repetidas. En general *a* es de 2 a 150 y *b* es de 15 a 70 dependiendo del poloxámero particular. Los poloxámeros pueden ser líquidos o sólidos a 25°C dependiendo de sus pesos moleculares.

15 Los siguientes ejemplos no limitantes adecuados de poloxámeros líquidos se describen usando nomenclatura ACTF/NIIC (Asociación de Cosméticos, Artículos de Tocador y Fragancias/Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos): poloxámero 101, poloxámero 105, poloxámero 122, poloxámero 123, poloxámero 124, poloxámero 181, poloxámero 182, poloxámero 183, poloxámero 184, poloxámero 212, poloxámero 231, poloxámero 282, poloxámero 331, poloxámero 401 y poloxámero 402.

20 Los siguientes ejemplos no limitantes adecuados de poloxámeros sólidos se describen usando nomenclatura ACTF/NIIC: poloxámero 108, poloxámero 188, poloxámero 217, poloxámero 237, poloxámero 238, poloxámero 288, poloxámero 338, poloxámero 407, poloxámero 185, poloxámero 215, poloxámero 234, poloxámero 235, poloxámero 284, poloxámero 333, poloxámero 334, poloxámero 335 y poloxámero 403.

25 Los poloxámeros líquidos y sólidos están comercialmente disponibles en the BASF Corporation con los nombres comerciales PLURONIC® y LUTROL® y en la UNIQEMA Corporation con el nombre comercial SYNPERONIC®. Los poloxámeros de calidad farmacéutica (FEU/FN) son: poloxámero 124, poloxámero 188, poloxámero 237, poloxámero 338 y poloxámero 407. Ambos poloxámeros de calidad farmacéutica y de calidad cosmética son adecuados para la presente invención.

E. Bases hidrófobas

30 Las bases hidrófobas de la presente invención pueden comprender, pero no se limitan a, grasas vegetales, animales, parafínicas y de procedencia sintética, mantequillas, sebos, ceras, disolventes y aceites; aceites de parafina, aceites vegetales, vaselina, ésteres orgánicos insolubles en agua y triglicéridos, siliconas o compuestos fluorados o mezclas de los mismos. En una realización de la presente invención la fase hidrófoba comprende vaselina.

35 Los materiales procedentes de plantas incluyen, pero no se limitan a, aceite de arachis (cacahuete), aceite de bálsamo del Perú, cera de carnauba, cera de candelilla, aceite de ricino, aceite de ricino hidrogenado, manteca de cacao, aceite de nuez de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de jojoba, aceite de semilla de macadamia, aceite de oliva, aceite de naranja, cera de naranja, aceite de palmiste, aceite de colza, aceite de cártamo, aceite de semilla de sésamo, manteca de karité, aceite de soja, aceite de semilla de girasol, aceite de árbol de té, aceite vegetal y aceite vegetal hidrogenado.

40 Ejemplos no limitantes de materiales procedentes de animales incluyen: cera de abejas, aceite de hígado de bacalao, aceite de emú, lardo, aceite de visón, aceite de hígado de tiburón, escualano, escualeno y sebo.

Ejemplos no limitantes de materiales parafínicos incluyen: isoparafina, cera microcristalina, aceite de parafina pesado, aceite de parafina ligero, ozoquerita, vaselina y parafina.

45 Ejemplos no limitantes adecuados de ésteres orgánicos y triglicéridos incluyen benzoatos de alquilo C12-15, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, triglicéridos de cadena media, trilaurina y trihidroxiestearina.

Ejemplos no limitantes de siliconas son dimeticona y ciclometicona. Un ejemplo no limitante de compuesto fluorado es politetrafluoroetileno (PTFE).

1. Vaselina

50 La vaselina es una mezcla purificada de hidrocarburos semisólidos obtenidos a partir de petróleo y varía de color de ámbar oscuro a amarillo claro. La vaselina blanca es vaselina decolorada totalmente o casi totalmente y varía de color de crema a blanco como la nieve. La vaselina y la vaselina blanca también pueden variar en punto de fusión, viscosidad y consistencia.

Diversas calidades están comercialmente disponibles en the PENRECO Corporation con los nombres comerciales: PENRECO[®]ULTIMA, PENRECO[®]SUPER, PENRECO[®]SNOW, PENRECO[®]REGENT, PENRECO[®]LILY, PENRECO[®]CREAM, PENRECO[®]ROYAL, PENRECO[®]BLOND y PENRECO[®]AMBER. Diversas calidades están comercialmente disponibles también en the SONNEBORN Corporation con los nombres comerciales: ALBA[®], SUPER WHITE PROTOPET[®], SUPER WHITE FONOLINE[®], WHITE PROTOPET 1S[®], WHITE PROTOPET 2L[®], WHITE PROTOPET 3C[®], WHITE FONOLINE[®], PERFECTA[®], YELLOW PROTOPET 2A[®], YELLOW FONOLINE[®], PROTOLINE[®], SONOJELL #4[®], SONOJELL #9[®], MINERAL JELLY #10[®], MINERAL JELLY #14[®], MINERAL JELLY #17[®] y CARNATION TROUGH GREASE[®].

La vaselina y la vaselina blanca están disponibles en calidad cosmética y calidad farmacéutica (FEU/FN) y ambas son adecuadas para la presente invención.

F. Composiciones tópicas

Las composiciones tópicas de la presente invención son dispersiones que comprenden una fase dispersada hidrófila en una fase continua hidrófoba. La fase dispersada comprende una enzima proteolítica y un poliol hidrófilo. En un aspecto de la invención, el poliol hidrófilo es un poliol hidrófilo líquido. En algunas realizaciones, el poliol hidrófilo líquido es un polietilenglicol líquido o un poloxámero líquido o mezclas de los mismos. La fase continua comprende una base hidrófoba. La base hidrófoba puede ser vaselina. Las composiciones son útiles para tratamiento de heridas para desbridamiento de heridas.

Las composiciones pueden ser anhidras como se define en la presente memoria. Las composiciones pueden ser semisólidas o líquidas. La composición puede impregnarse en una almohadilla, gasa o esponja. Las composiciones también pueden ser estériles.

Las composiciones pueden incluir materiales adicionales conocidos en la técnica que sean adecuados para composiciones tópicas de esta naturaleza, por ejemplo, absorbentes, desodorantes, tensioactivos, disolventes, modificadores de la reología, formadores de película, estabilizantes, emolientes, humectantes, conservantes, antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes, fragancias y colorantes.

Las composiciones también pueden incluir principios activos farmacéuticos adicionales conocidos en la técnica que sean adecuados para composiciones tópicas de esta naturaleza, por ejemplo, agentes antimicrobianos, agentes cicatrizantes de heridas, agentes anestésicos, vulnerarios y agentes hemostáticos. Un ejemplo no limitante de un agente vulnerario es bálsamo del Perú.

Las composiciones pueden envasarse en cualquier envase apropiado para dispensar agente de desbridamiento de heridas. Las composiciones pueden envasarse en envases multiuso, de una sola dosis o dosificadores. Los ejemplos no limitantes incluyen un tubo, bote, tarro, envase para bombear, envase presurizado, envase vesicular, envase de aerosol, envase para pulverizar aerosol, envase para no pulverizar aerosol, jeringa, bolsa o sobrecito.

G. Procedimiento de fabricación

Las composiciones de la presente invención pueden prepararse por técnicas y métodos conocidos por un experto en la materia disolviendo o suspendiendo la enzima proteolítica en parte o toda del poliol hidrófilo disponible. La disolución o suspensión resultante puede mezclarse con una base hidrófoba para formar una dispersión, en la que la base hidrófoba llega a ser la fase continua y la fase de poliol/enzima hidrófila llega a ser la fase dispersada. Estas composiciones pueden prepararse usando equipo de tratamiento conocido por un experto en la materia, por ejemplo, mezcladores, removedores, molinos, homogeneizadores, dispositivos de dispersión, recipientes mezcladores, etc.

H. Modelo de ensayo de escara artificial in vitro.

La mejora de la actividad enzimática de las composiciones fue establecida ensayando las composiciones usando un modelo de escara artificial in vitro como se describe a continuación y en la publicación "*Study on the debridement efficacy of formulated enzymatic wound debriding agents by in vitro assessment using artificial wound eschar and by an in vivo pig model*", Shi et. al., Wound Repair Regen, 2.009, 17 (6): 853. Se usaron colágeno bovino (Tipo I), fibrinógeno bovino y elastina para preparar un sustrato de escara de herida artificial (EHA). ITCF-colágeno marcado, elastina-rodamina y fibrina-cumarina fueron las materias primas usadas para producir el sustrato de EHA. Para preparar 1 gramo de sustrato EHA, se pesaron 650 mg de colágeno-ITCF y 100 mg de cada uno de elastina-rodamina y fibrina-cumarina en un tubo de 50 ml y se homogeneizó en 10 ml de disolución salina tamponada con Tris. En un tubo separado, se prepararon 10 ml de una disolución de fibrinógeno a 15 mg/ml con disolución salina tamponada con Tris. Las dos disoluciones se combinaron y se mezclaron cuidadosamente. Se añadió una disolución de trombina (0,25 ml a 50 U/ml), se mezcló rápidamente y se vertió la disolución en una placa de Petri que contenía un filtro de membrana no reactivo de 90 mm. Como resultado de la polimerización de fibrinógeno inducida por trombina, el material empezó a formar una lámina blanda en la parte superior del filtro de membrana por coagulación de las proteínas coloreadas en una matriz sólida. Se permitió que el sustrato de EHA coagulado solidificara durante 30 minutos y después se enjuagó con agua durante 15 minutos para eliminar la trombina. El sustrato de EHA se deshidrató más a un contenido de humedad del 75% en la preparación para su uso.

Con el sustrato de EHA aún unido a la membrana, se perforó un trozo de 35 mm de diámetro usando un perforador. Se puso el punzón del sustrato de EHA en la cara plana superior de un sistema de celda de difusión de Franz, (Hanson Research, Chatsworth, CA) y se puso un portador de muestras de TEFLON® en la parte superior. Se cargaron las muestras de unguento de desbridamiento en el centro del portador de muestras y se retiró la muestra en exceso por raspado. La disolución en las celdas receptoras fue tampón Tris a un pH de 7,4 para muestras conteniendo colagenasa, papaína, termolisina o tripsina y fue tampón de acetato de sodio a un pH de 2 para muestras que contenían pepsina. Se muestreó la disolución en celdas receptoras en incrementos de 1 ml en los siguientes tiempos de recogida de muestras: 0, 1, 2, 3, 6, 12, 18 y 24 horas. Una vez terminado, se analizaron las muestras por medición de la fluorescencia de colorante ITCF (isotiocianato de fluoresceína) a 485 nm (longitud de onda de excitación) y 520 nm (longitud de onda de emisión) para determinar la digestión de colágeno (colagenólisis) indicada en mg/ml.

I. Ensayo de liberación de enzima física in vitro.

La liberación de enzima de las composiciones fue determinada por un estudio de difusión de celda de Franz usando filtros de PFVD (poli(fluoruro de vinilideno)) (0,45 micrómetros). Este estudio se realizó a 35°C y duró 6 horas. Se sometieron las muestras de disolución en las celdas receptoras a un análisis de proteínas totales.

Se determinó la concentración de proteínas por una prueba ABC (ácido bicinconínico) (Peirce) mientras se usaba la misma colagenasa como el patrón de referencia. Los detalles se describen como sigue.

La prueba de proteínas de ABC combina la reducción conocida de Cu^{2+} a Cu^{1+} por proteína en un medio alcalino con la detección colorimétrica altamente sensible y selectiva del catión cuproso (Cu^{1+}) mediante ácido bicinconínico. La primera etapa es la quelación de cobre con proteína en un entorno alcalino para formar un complejo coloreado azul. En esta reacción, conocida como la reacción de biuret, los péptidos que contienen tres o más restos aminoácido forman un complejo de quelato coloreado con iones cúpricos en un entorno alcalino que contiene tartrato de sodio y potasio. Esto llega a conocerse como la reacción de biuret debido a que forma un complejo similar con el biuret compuesto orgánico ($\text{NH}_2\text{-CO-NH-CO-NH}_2$) y el ión cúprico. El biuret, un producto de urea en exceso y calor, reacciona con cobre para formar un complejo tetradentado azul claro. En la segunda etapa de la reacción de desarrollo de color, ABC, un reactivo de detección colorimétrica altamente sensible y selectivo reacciona con el catión cuproso (Cu^{1+}) que se formó en la etapa 1. El producto de reacción coloreado de púrpura se forma por quelación de dos moléculas de ABC con un ión cuproso. El complejo ABC/cobre es soluble en agua y presenta una absorbancia lineal fuerte a 562 nm con concentraciones de proteína crecientes. El color púrpura puede medirse a cualquier longitud de onda entre 550 nm y 570 nm con pérdida de señal mínima (menor que 10%). Véase la siguiente referencia: Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D., Fujimoto, E. K., Goetze, N. M., Olson, B. J. y Klenk, D.C. (1985). Medición de proteína usando ácido bicinconínico. *Anal. Biochem.* 150, 76-85.

Ejemplos

Ejemplo 1: Dispersiones de colagenasa/PEG 400 en vaselina.

Las dispersiones en la Tabla 1 se prepararon variando las concentraciones de polietilenglicol 400 (PEG-400) dispersado en vaselina.

Tabla 1

Dispersión	PEG 400	PEG-1450	Vaselina Bl.	Poloxámero 407	Colagenasa
	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p
A	0	0	99,8	0	0,2
B	10	0	89,8	0	0,2
C	15	0	84,8	0	0,2
D	20	0	79,9	0,4	0,2
E	30	0	69	0,9	0,2
F	50	0	49,3	1,2	0,2
G	68	0	29,8	2,0	0,2

ES 2 613 495 T3

Dispersión	PEG 400	PEG-1450	Vaselina Bl.	Poloxámero 407	Colagenasa
	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p
H ⁺	83	12,5	4,5	0	0,2
I ⁺	70	29,8	0	0	0,2

*Se añadió PEG-1450 a PEG-400 para formar un semisólido dando como resultado PEG total aproximado de 96% y 100%, respectivamente.

5 La actividad de desbridamiento enzimático de cada dispersión se determinó por el modelo de escara artificial in vitro descrito anteriormente y los resultados se representan gráficamente en la **FIG. 1**. Como se puede observar por los resultados en la **FIG. 1**, la cantidad óptima de PEG-400 basada en la curva de 24 horas es aproximadamente 20% p/p de PEG-400.

Ejemplo 2: Dispersiones de colagenasa/PEG 600 en vaselina.

Las dispersiones en la Tabla 2 se prepararon variando las concentraciones de polietilenglicol 600 (PEG-600) dispersado en vaselina.

Tabla 2

Dispersión	PEG 600	Vaselina Bl.	Poloxámero 407	Colagenasa
	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p
J	0	99,8	0	0,2
K	10	89,525	0,275	0,2
L	20	79,248	0,552	0,2
M	30	68,973	0,827	0,2
N	50	48,42	1,38	0,2
O	80	17,59	2,21	0,2
P	97	0	2,8	0,2

10 La actividad de desbridamiento enzimático de cada dispersión se determinó por el modelo de escara artificial in vitro descrito anteriormente. Los resultados se representan gráficamente en la **FIG. 2**. Como se puede observar por los resultados en la **FIG. 2**, la cantidad óptima de PEG-600 basada en la curva de 24 horas es aproximadamente 30% p/p de PEG-600.

15 Ejemplo 3 Dispersiones de colagenasa /poloxámero 124 en vaselina.

Las dispersiones en la Tabla 3 se prepararon con concentraciones variables de poloxámero 124 dispersadas en vaselina.

Tabla 3

Dispersión	Poloxámero 124	Vaselina Bl.	Poloxámero 407	Colagenasa
	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p

ES 2 613 495 T3

Dispersión	Poloxámero 124	Vaselina Bl.	Poloxámero 407	Colagenasa
	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p
Q	0	99,8	0	0,2
R	10	89,8	0	0,2
S	20	79,8	0	0,2
T	30	69,8	0	0,2
U	50	48,14	1,66	0,2
V	80	17,14	2,66	0,2
W	85 [*]	0	15	0,2

^{*}Se añadió Poloxámero 407 a Poloxámero 124 para formar un semisólido dando como resultado un total aproximado de Poloxámero de 100%.

5 La actividad de desbridamiento enzimático de cada dispersión se determinó por el modelo de escara artificial in vitro descrito anteriormente. Los resultados se representan gráficamente en la **FIG. 3**. Como se puede observar por los resultados en la **FIG. 3**, la cantidad óptima de Poloxámero 124 basada en la curva de 24 horas es aproximadamente 30% p/p de Poloxámero 124.

Ejemplo 4: Dispersiones de Tripsina/PEG 400 en vaselina.

Las dispersiones en la Tabla 4 se prepararon con concentraciones variables de Polietilenglicol 400 (PEG-400) dispersado en Vaselina.

Tabla 4

Dispersión	PEG 400	PEG 1.450	Vaselina Bl.	Poloxámero 407	Tripsina
	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p
X	0	0	99,8	0	0,2
Y	14	0	84,9	0,4	0,2
Z	29	0	69,8	0,9	0,2
AA	59	0	39,16	1,64	0,2
BB	80	0	17,06	2,74	0,2
CC	82 [*]	15,2	0	2,6	0,2

^{*}Se añadió PEG-1.450 a PEG-400 para formar un semisólido dando como resultado PEG total aproximado de 97%.

10

La actividad de desbridamiento enzimático de cada dispersión se determinó por el modelo de escara artificial in vitro descrito anteriormente. Los resultados se representan gráficamente en la **FIG. 4**. Como se puede observar por los resultados en la **FIG. 4**, la cantidad óptima de PEG-400 basada en la curva de 24 horas es aproximadamente 14% p/p de PEG-400.

15 Ejemplo 5: Dispersiones de Papaína/PEG 400 en Vaselina.

Las dispersiones en la Tabla 5 se prepararon con concentraciones variables de Polietilenglicol 400 (PEG-400) dispersado en Vaselina.

Tabla 5

Dispersión	PEG 400	PEG 1.450	Vaselina Bl.	Poloxámero 407	Papaína
	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p
DD	0	0	99,85	0	0,15
EE	15	0	85,05	0,4	0,15
FF	29	0	69,82	0,83	0,15
GG	43	0	54,85	1,24	0,15
HH	59	0	39,694	1,636	0,15
II	82*	15,01	0	2,67	0,15

* Se añadió PEG-1.450 a PEG-400 para formar un semisólido dando como resultado PEG total aproximado de 97%.

- 5 La actividad de desbridamiento enzimático de cada dispersión se determinó por el modelo de escara artificial in vitro descrito anteriormente. Los resultados se representan gráficamente en la **FIG. 5**. Como se puede observar por los resultados en la **FIG. 5**, la cantidad óptima de PEG-400 basada en la curva de 24 horas es aproximadamente 29% p/p de PEG-400.

Ejemplo 6: Dispersiones de Termolisina/PEG 400 en Vaselina.

- 10 Las dispersiones en la Tabla 6 se prepararon con concentraciones variables de Polietilenglicol 400 (PEG-400) dispersado en Vaselina.

Tabla 6

Dispersión	PEG 400	PEG 1.450	Vaselina Bl.	Poloxámero 407	Termolisina
	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p
JJ	0	0	99,85	0	0,15
KK	14	0	85,05	0,4	0,15
LL	29	0	69,82	0,83	0,15
MM	59	0	39,694	1,636	0,15
NN	82*	15,01	0	2,67	0,15

* Se añadió PEG-1.450 a PEG-400 para formar un semisólido dando como resultado PEG total aproximado de 97%.

- 15 La actividad de desbridamiento enzimático de cada dispersión se determinó por el modelo de escara artificial in vitro descrito anteriormente. Los resultados se representan gráficamente en la **FIG. 6**. Como se puede observar por los resultados en la **FIG. 6**, la cantidad óptima de PEG-400 basada en la curva de 24 horas es aproximadamente 29% p/p de PEG-400.

Ejemplo 7: Dispersiones de Pepsina/PEG 400 en Vaselina.

Las dispersiones en la Tabla 7 se prepararon con concentraciones variables de Polietilenglicol 400 (PEG-400) dispersado en Vaselina.

Tabla 7

Dispersión	PEG 400	PEG 1.450	Vaselina Bl.	Poloxámero 407	Pepsina
	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p
OO	0	0	99	0	
PP	15	0	84,2	0,4	1
QQ	29	0	68,97	0,83	1
RR	44	0	54,005	1,24	1
SS	58	0	38,844	1,636	1
TT	81 [*]	15,01	0	2,67	1

^{*} Se añadió PEG-1450 a PEG-400 para formar un semisólido dando como resultado PEG total aproximado de 96%.

- 5 La actividad de desbridamiento enzimático de cada dispersión se determinó por el modelo de escara artificial in vitro descrito anteriormente. Los resultados se representan gráficamente en la **FIG. 7**. Como se puede observar por los resultados en la **FIG. 7**, la cantidad óptima de PEG-400 basada en la curva de 24 horas es aproximadamente 58% p/p de PEG-400.

Ejemplo 8: Dispersiones de colagenasa /PEG 400 en vaselina para liberación física de enzima.

- 10 Las dispersiones en la Tabla 8 se prepararon con concentraciones variables de Polietilenglicol 400 (PEG-400) dispersado en Vaselina.

Tabla 8

Dispersión	PEG 400	PEG 1.450	Vaselina Bl.	Colagenasa
	% p/p	% p/p	% p/p	% p/p
UU	0	0	99,8	0,2
VV	5	0	94,8	0,2
WW	10	0	89,8	0,2
XX	15	0	84,8	0,2
YY	83 [*]	12,5	4,5	0,2
ZZ	70 [*]	29,8	0	0,2

^{*} Se añadió PEG-1450 a PEG-400 para formar un semisólido dando como resultado PEG total aproximado de 83% y 100%, respectivamente.

- 15 La liberación física de enzima se determinó por el ensayo de liberación de enzimas física in vitro como se describió anteriormente. Los resultados se representan gráficamente en la **FIG. 8**. Como se puede observar por los resultados en la **FIG. 8**, la liberación física de colagenasa aumentó en general a medida que aumentaba la concentración de PEG-400 en la dispersión con la liberación más alta a 100% y la liberación más baja a 0% de PEG-400.

Como se puede observar por los resultados mostrados en la presente memoria, el perfil de liberación enzimática física de las dispersiones como una función de la concentración aumentada de poliol hidrófilo no se correlaciona con el perfil de actividad enzimática de la enzima como una función de la concentración aumentada de poliol hidrófilo.

Ejemplo 9: Datos de estabilidad y eficacia

- 5 La FIG. 9 proporciona datos que comparan la estabilidad de la colagenasa en una dispersión de la presente invención ("30% de PEG en dispersión VB") y una emulsión de aceite en agua ("Crema acuosa"). Estos datos sugieren que la colagenasa era más estable en el PEG al 30% en dispersión VB cuando se compara con la Crema acuosa. Las Tablas 9-10 proporcionan descripciones del PEG al 30% en dispersión VB y formulaciones de Crema acuosa.

- 10 Tabla 9 (PEG al 30% en dispersión VB)*

Ingredientes	% en peso
PEG-600	30,059774
Poloxámero-407	1,5078044
Vaselina blanca	68,309516
Colagenasa	0,1228163
TOTAL	100

*Se preparó PEG en dispersión de VB como sigue: (A) Fase activa: (1) Se mezclaron 9,71 gramos de PEG-600 y 0,2361 gramos de colagenasa durante 20 minutos a temperatura ambiente (20-25°C) durante 45 min. (B) Fase principal: (1) Se mezclaron 102,784 gramos de vaselina blanca, 37,65 gramos de PEG-600 y 2,27 gramos de poloxámero-407 a 70°C hasta que fue uniforme; (2) se enfrió la mezcla a 40-45°C. Se añadieron los 7,79 gramos añadidos de la fase activa a la fase principal seguido por agitación durante 30 minutos o hasta que se obtuvo mezcla homogénea.

Tabla 10 (Crema acuosa)*

Ingredientes	% en peso
Miristato de isopropilo	30,57437
Cera emulsionante	4,502116
Vaselina blanca	20,369574
Incroquat TMS	4,502116
Agua	20,009404
Glicerina (96%)	19,839324
Colagenasa	0,2030955
TOTAL	100

*La crema acuosa se preparó como sigue: (A) Fase activa: (1) Se mezclaron 0,2 gramos de colagenasa con 20 gramos de agua desionizada. (B) Fase principal (1) Se mezclaron 20,36 gramos de vaselina blanca con 4,5 gramos de cera emulsionante, 4,5 gramos de Incroquate TMS y 19,83 gramos de glicerina (96%) a 70°C hasta que fue uniforme; (2) se enfrió la mezcla a 35-40°C. Fase activa añadida a la Fase principal seguido por agitación durante 30 minutos o hasta que se obtuvo una mezcla homogénea.

5 La FIG. 10 proporciona datos que comparan la eficacia de desbridamiento enzimático en eliminación de escara en quemaduras de cerdo de una dispersión de la presente invención ("PEG-en-vaselina blanca"-Tabla 11) para las siguientes tres formulaciones: (1) una crema acuosa-Tabla 12; (2) SANTYL® ("Producto comercial", que es una mezcla de colagenasa y vaselina blanca) y una formulación de hidrogel-Tabla 13. Se produjeron quemaduras en cerdos y se formaron escaras duras después de varios días. Se aplicó formulación a las escaras duras una al día durante dos semanas. Sólo se contaron las heridas desbridadas completamente como "desbridamiento completo". Hubo un total de 20 heridas por tratamiento.

Tabla 11 (PEG-en-vaselina blanca)*

Ingredientes	% en peso
Poloxámero-407	0,99891551
Vaselina blanca	78,7544989
Termolisina	0,20168104
PEG-600	20,0449046
TOTAL	100

*Se preparó PEG-en-vaselina blanca como sigue: (A) Fase activa: (1) Se homogeneizaron 32,67 gramos de PEG-600 y 1,63 gramos de Poloxámero-407 a 70°C hasta que la mezcla fue clara; (2) se enfrió la mezcla a aproximadamente 35°C., y (3) se mezcló termolisina durante al menos 30 min. (B) Fase principal (1) Se mezclaron 236,52 gramos de vaselina blanca, 30,05 gramos de PEG-600 y 1,5 gramos de poloxámero-407 a 70°C y (2) se enfrió la mezcla a aproximadamente 35°C. Se añadió la fase activa (B) a la fase principal (B) y se mezcló a temperatura ambiente (20-25°C) durante 45 min.

10

Tabla 12 (Crema acuosa)*

Ingredientes	% en peso
Cera emulsionante	14,993927
KH ₂ PO ₄ al 1% en agua (pH=7,5)	74,057507
Palmitato de isopropilo, FN	5,4571649
Glicerina	5,0104708
Termolisina	0,2001065
Metilparabén	0,2007937
Propilparabén	0,0800301
TOTAL	100

*La crema acuosa se preparó como sigue: (1) se fundieron los parabenos en tampón a alta temperatura (>70°C) junto con glicerina; (2) se añadieron cera emulsionante y palmitato de isopropilo; (3) se mezcló la mezcla a alta temperatura durante 45 min y se enfrió después a aproximadamente 35°C; (4) se añadió termolisina como una suspensión en el tampón; (5) se enfrió la mezcla a temperatura ambiente (20-25°C).

Tabla 13 (Hidrogel)*

Ingredientes	% en peso
Hidroxipropilmetilcelulosa	2,250621745
KH ₂ PO ₄ al 1% en agua (pH=7,5)	77,96851753
Termolisina	0,202530294
Metilparabén	0,244719829
Propilparabén	0,0480663
Propilenglicol	19,28554438
TOTAL	100

*Se preparó hidrogel como sigue: (1) se solubilizaron parabenos y propilenglicol en agua a 70°C; (2) se añadió HPMC a temperatura ambiente (20-25°C); (3) se añadió termolisina y se formó una disolución viscosa lechosa.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de desbridamiento de heridas, anhidra, que comprende:
 - (a) una fase dispersada que comprende un poliol hidrófilo líquido y al menos una enzima proteolítica y
 - (b) una fase continua hidrófoba que comprende una base hidrófoba, en la que la cantidad del poliol hidrófilo líquido está dentro de $\pm 10\%$ p/p de la cantidad óptima del poliol hidrófilo líquido y en la que la cantidad óptima del poliol hidrófilo líquido se correlaciona con la actividad enzimática más alta de la composición de desbridamiento de heridas anhidra y se determina: (1) obteniendo una serie de composiciones que comprende la fase dispersada y la fase continua, en la que cada composición en la serie de composiciones incluye una cantidad idéntica de la enzima proteolítica y una cantidad diferente del poliol hidrófilo líquido; (2) determinando la actividad enzimática de cada composición en la serie de composiciones; (3) determinando el punto más alto en una gráfica que representa gráficamente la actividad enzimática frente a la cantidad de poliol hidrófilo líquido incluida en cada composición de la serie de composiciones, en la que el punto más alto en la gráfica se correlaciona con la cantidad óptima del poliol hidrófilo líquido.
2. La composición según la reivindicación 1, en la que la cantidad de poliol hidrófilo líquido está dentro de $\pm 7\%$ p/p de la cantidad óptima del poliol hidrófilo líquido, preferiblemente dentro de $\pm 5\%$ p/p de la cantidad óptima del poliol hidrófilo líquido.
3. La composición según la reivindicación 1 ó 2, en la que la enzima proteolítica es una metaloproteasa, preferiblemente colagenasa o termolisina o en la que la enzima proteolítica es una cisteína proteasa, preferiblemente papaína o en la que la enzima proteolítica es una serina proteasa, preferiblemente tripsina o en la que la enzima proteolítica es una peptidasa aspártica, preferiblemente pepsina.
4. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que el poliol hidrófilo líquido es un polietilenglicol líquido o un poloxámero líquido o mezclas de los mismos.
5. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que la enzima proteolítica se suspende o se dispersa en la fase dispersada.
6. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que la base hidrófoba comprende vaselina.
7. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que la fase dispersada comprende además un poliol hidrófilo sólido, preferiblemente un polietilenglicol sólido o un poloxámero sólido o mezclas de los mismos.
8. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en la que la composición es un semisólido y/o estéril.
9. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, para tratar una herida con necesidad de desbridamiento.
10. La composición según la reivindicación 1, en la que la serie de composiciones incluye al menos cinco composiciones; en la que preferiblemente la cantidad de poliol en la serie de composiciones varía en incrementos de al menos 10% p/p; en la que se prefiere además que la primera composición incluya 10% p/p de poliol hidrófilo líquido, la segunda composición incluya 30% p/p de poliol hidrófilo líquido, la tercera composición incluya 50% p/p de poliol hidrófilo líquido, la cuarta composición incluya 70% p/p de poliol hidrófilo líquido y la quinta composición incluya 90% p/p de poliol hidrófilo líquido.
11. La composición según la reivindicación 10, en la que la primera composición incluye 0 a 30% p/p de poliol hidrófilo líquido, la segunda composición incluye 10 a 50% p/p de poliol hidrófilo líquido, la tercera composición incluye 20 a 60% p/p de poliol hidrófilo líquido, la cuarta composición incluye 30 a 80% p/p de poliol hidrófilo líquido y la quinta composición incluye 40 a 100% p/p de poliol hidrófilo líquido.
12. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 9, en la que la enzima proteolítica es colagenasa y el poliol hidrófilo líquido es PEG 400 y en la que la cantidad óptima del poliol hidrófilo líquido es 20% p/p de la composición.
13. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 9, en la que la enzima proteolítica es colagenasa y el poliol hidrófilo líquido es PEG 600 y en la que la cantidad óptima del poliol hidrófilo líquido es 30% p/p de la composición.
14. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 9, en la que la enzima proteolítica es colagenasa y el poliol hidrófilo líquido es Poloxámero 124 y en la que la cantidad óptima del poliol hidrófilo líquido es 30% p/p de la composición.

15. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 9, en la que la enzima proteolítica es termolisina y el poliol hidrófilo líquido es PEG 400 y en la que la cantidad óptima del poliol hidrófilo líquido es 29% p/p de la composición.
- 5 16. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 9, en la que la enzima proteolítica es tripsina y el poliol hidrófilo líquido es PEG 400 y en la que la cantidad óptima del poliol hidrófilo líquido es 14% p/p de la composición.
17. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 9, en la que la enzima proteolítica es papaína y el poliol hidrófilo líquido es PEG 400 y en la que la cantidad óptima del poliol hidrófilo líquido es 29% p/p de la composición.
- 10 18. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 9, en la que la enzima proteolítica es pepsina y el poliol hidrófilo líquido es PEG 400 y en la que la cantidad óptima del poliol hidrófilo líquido es 58% p/p de la composición.

FIG. 1

Actividad de la collagenasa en modelo de escara como una función de la concentración de PEG-400 en vaselina blanca.

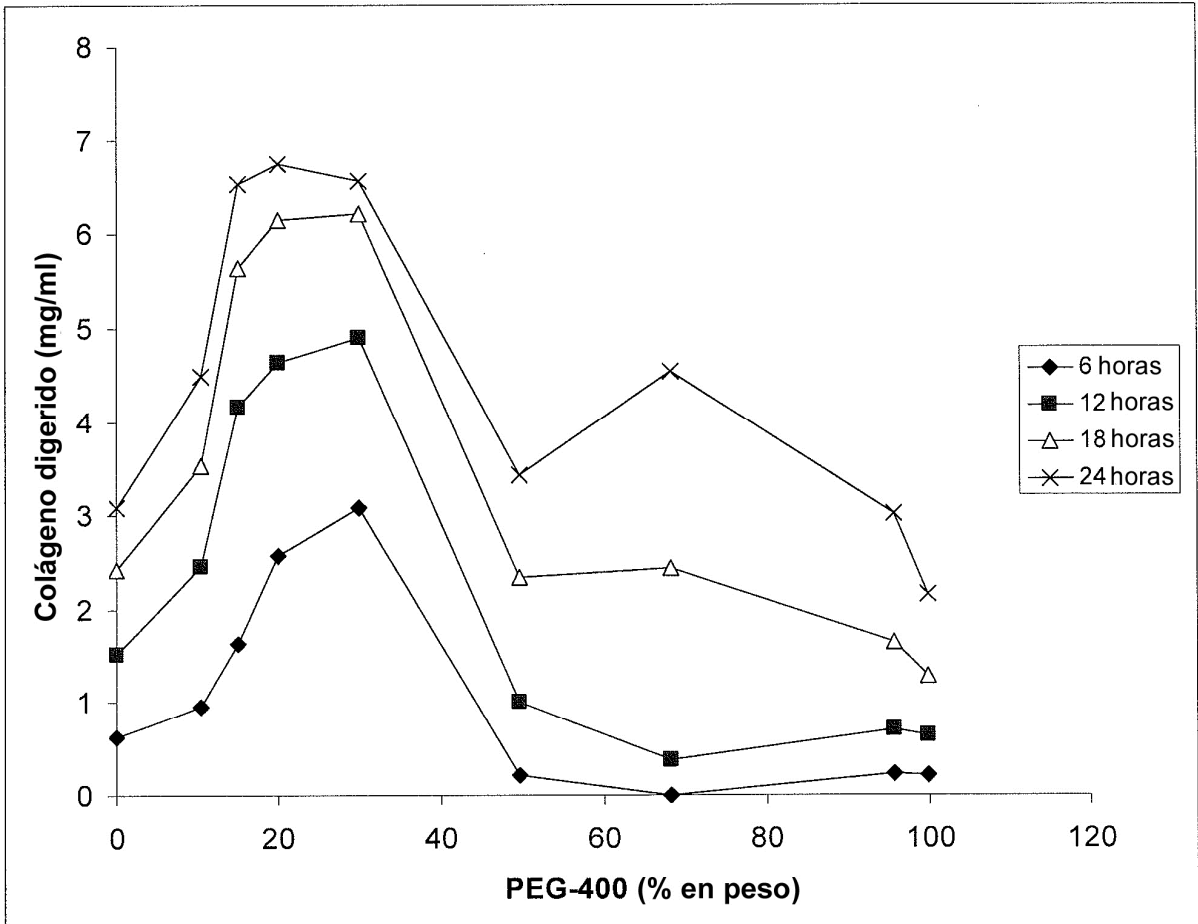


FIG. 2

Actividad de la colagenasa en modelo de escara como una función de la concentración de PEG-600 en vaselina blanca.

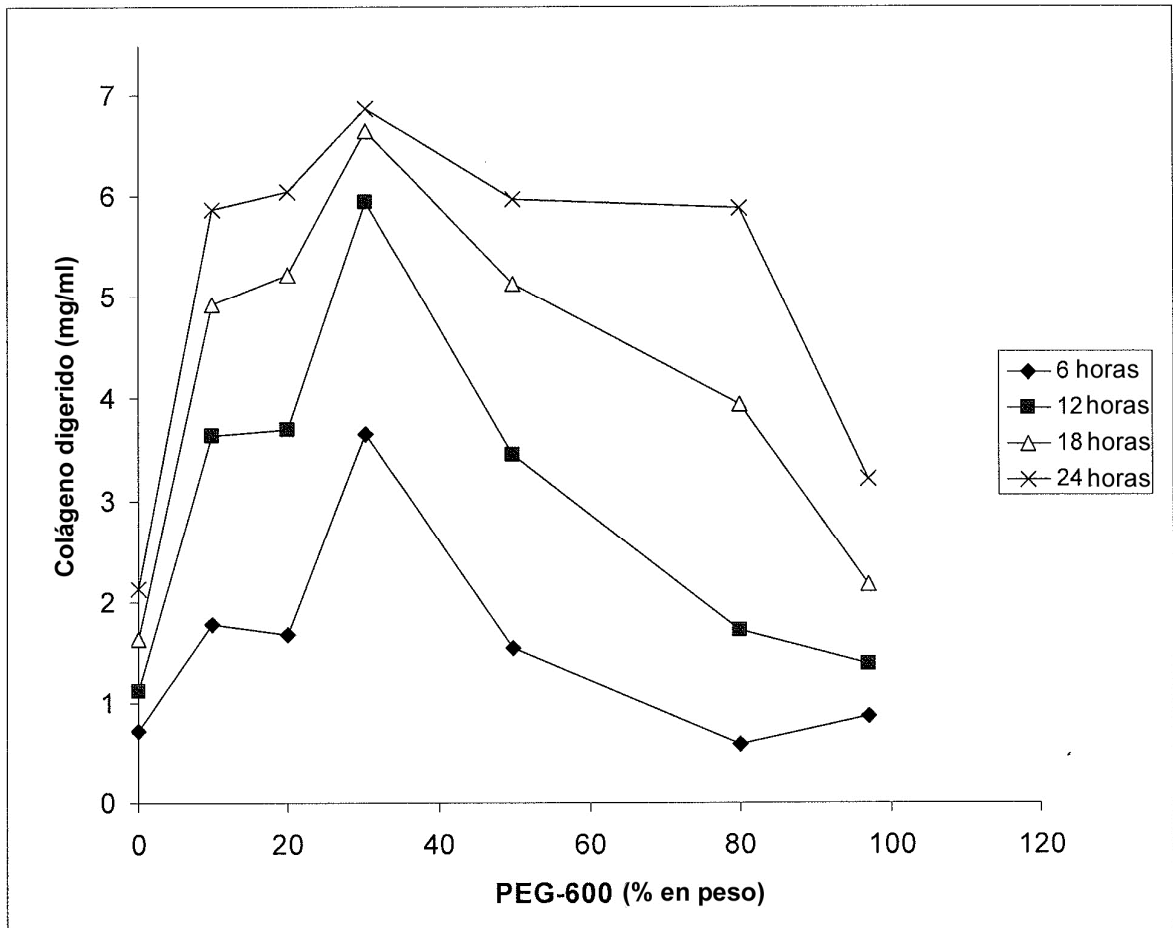


FIG. 3

Actividad de la colagenasa en modelo de escara como una función de la concentración de poloxámero 124 (POL-124) en vaselina blanca.

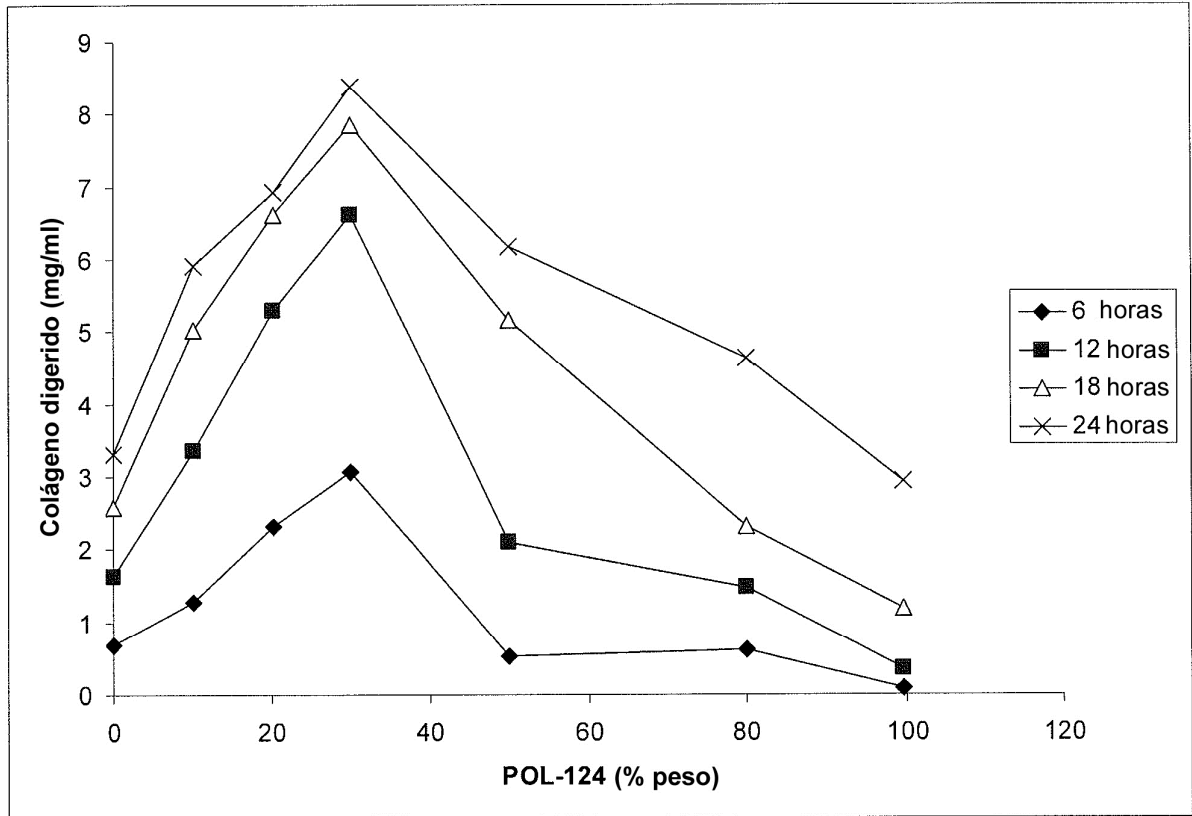


FIG. 4

Actividad de la tripsina en modelo de escara como una función de la concentración de PEG-400 en vaselina blanca.

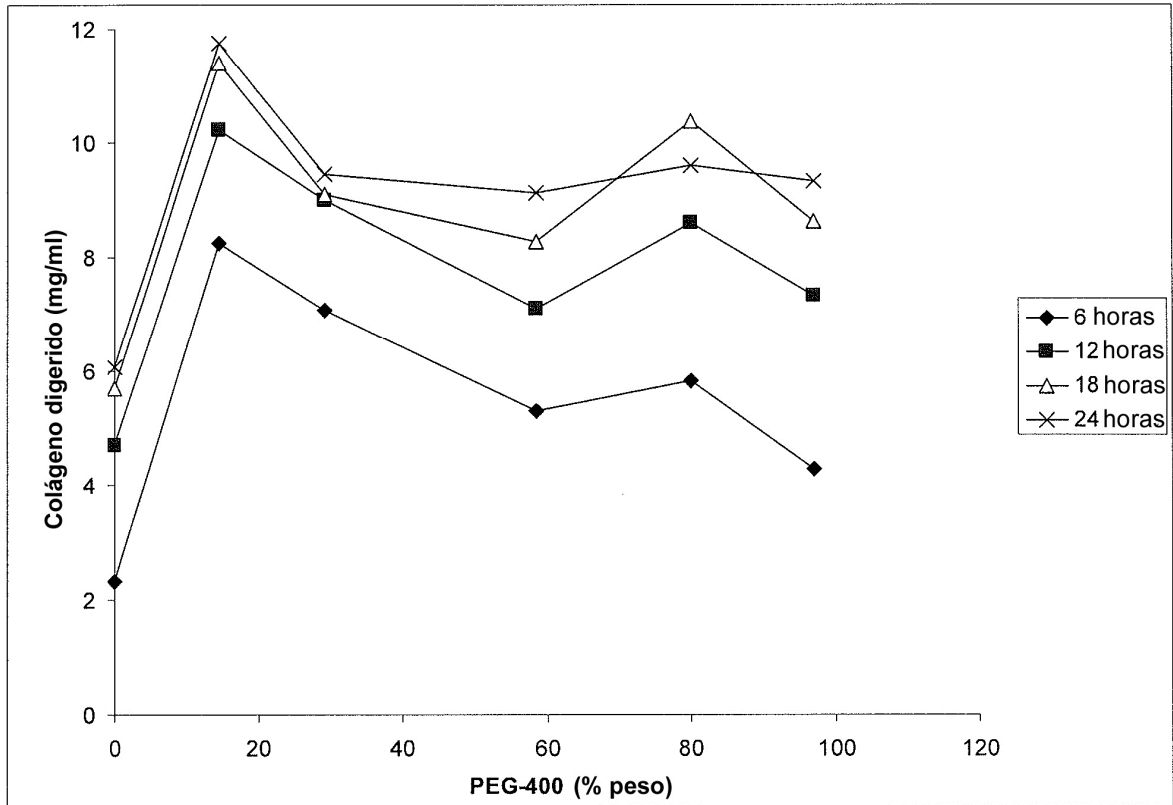


FIG. 5

Actividad de la papaína en modelo de escara como una función de la concentración de PEG-400 en vaselina blanca.

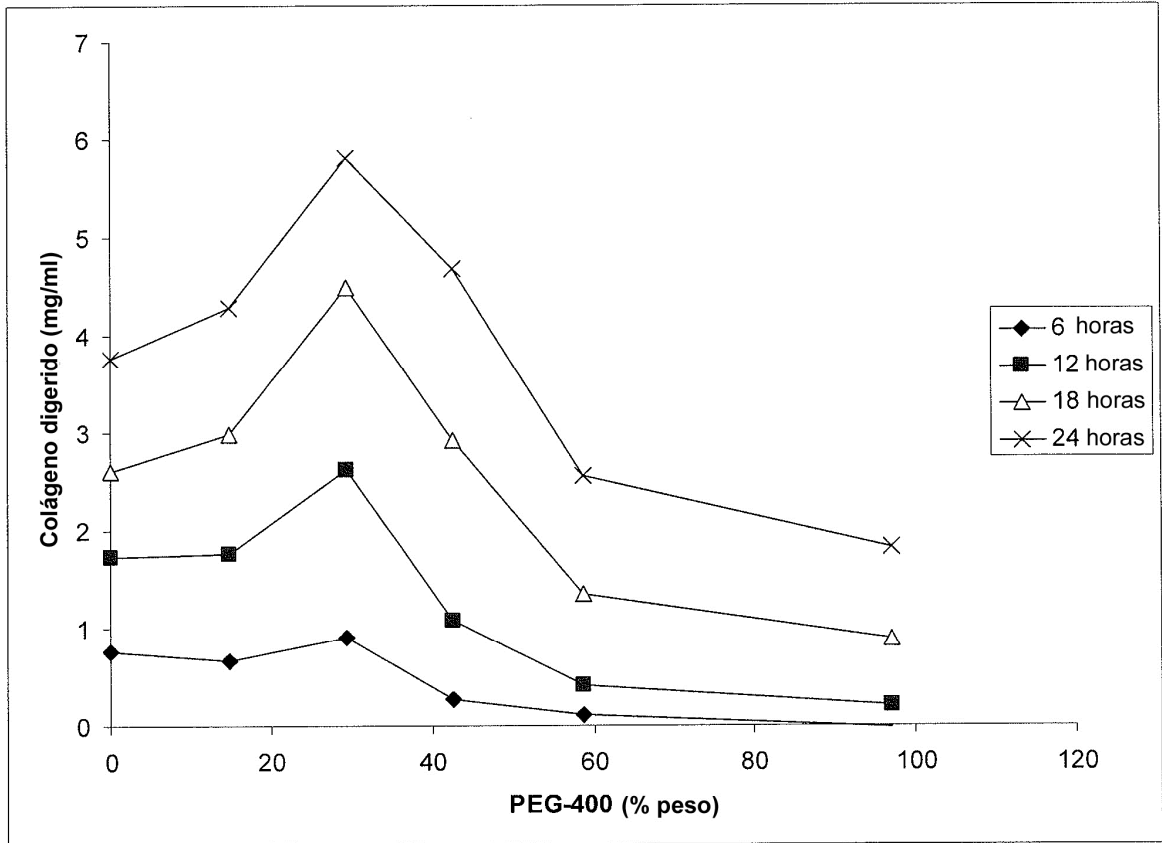


FIG. 6

Actividad de la termolisina en modelo de escara como una función de la concentración de PEG-400 en vaselina blanca.

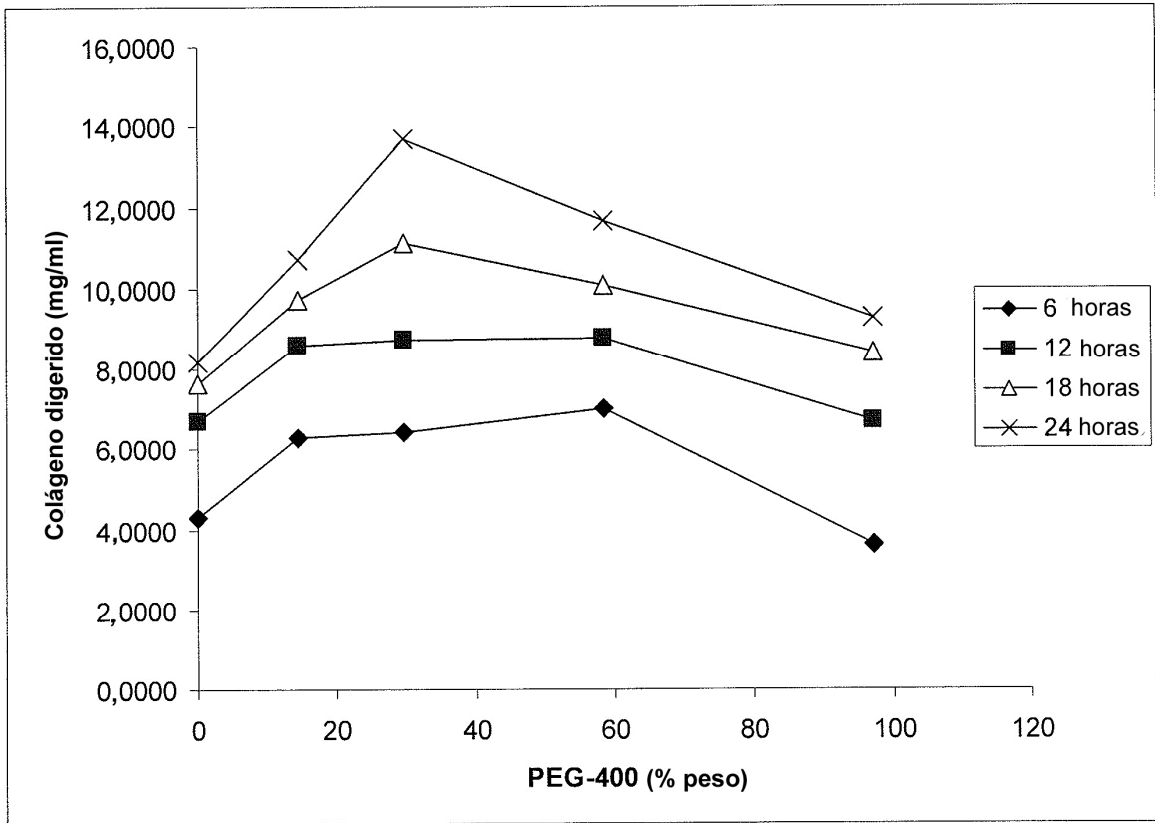


FIG. 7

Actividad de la pepsina en modelo de escara como una función de la concentración de PEG-400 en vaselina blanca.

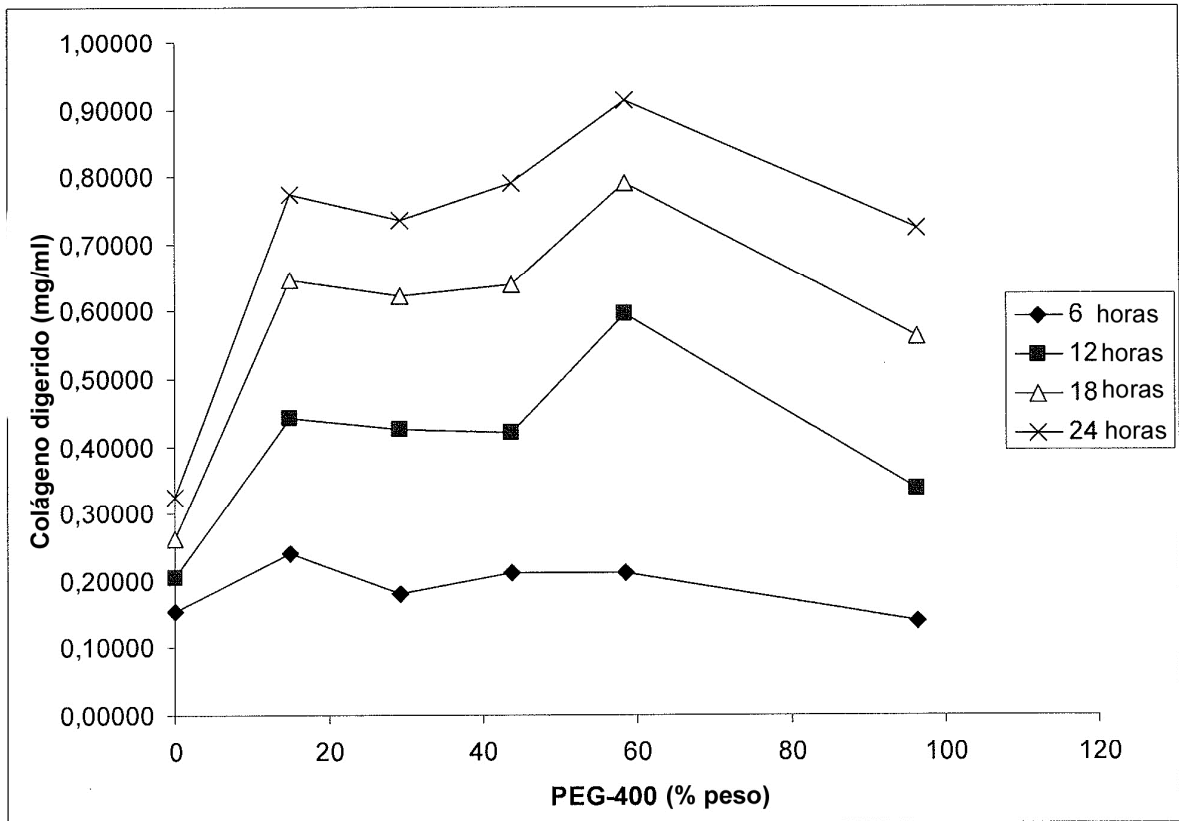


FIG. 8

Liberación de colagenasa como una función de la concentración de PEG-400 en vaselina blanca.

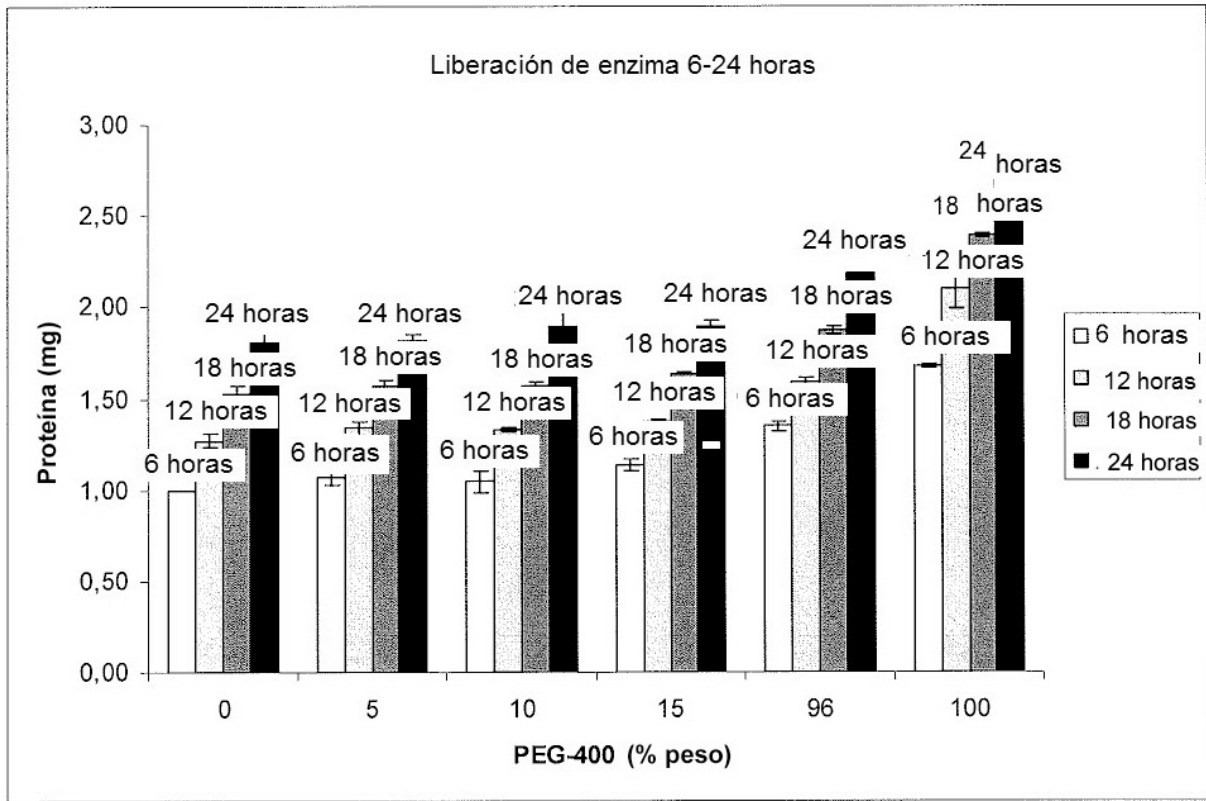


FIG. 9

Estabilidad enzimática (almacenado a temperatura ambiente) en dispersión de PEG en vaselina blanca frente a crema de emulsión de aceite en agua.

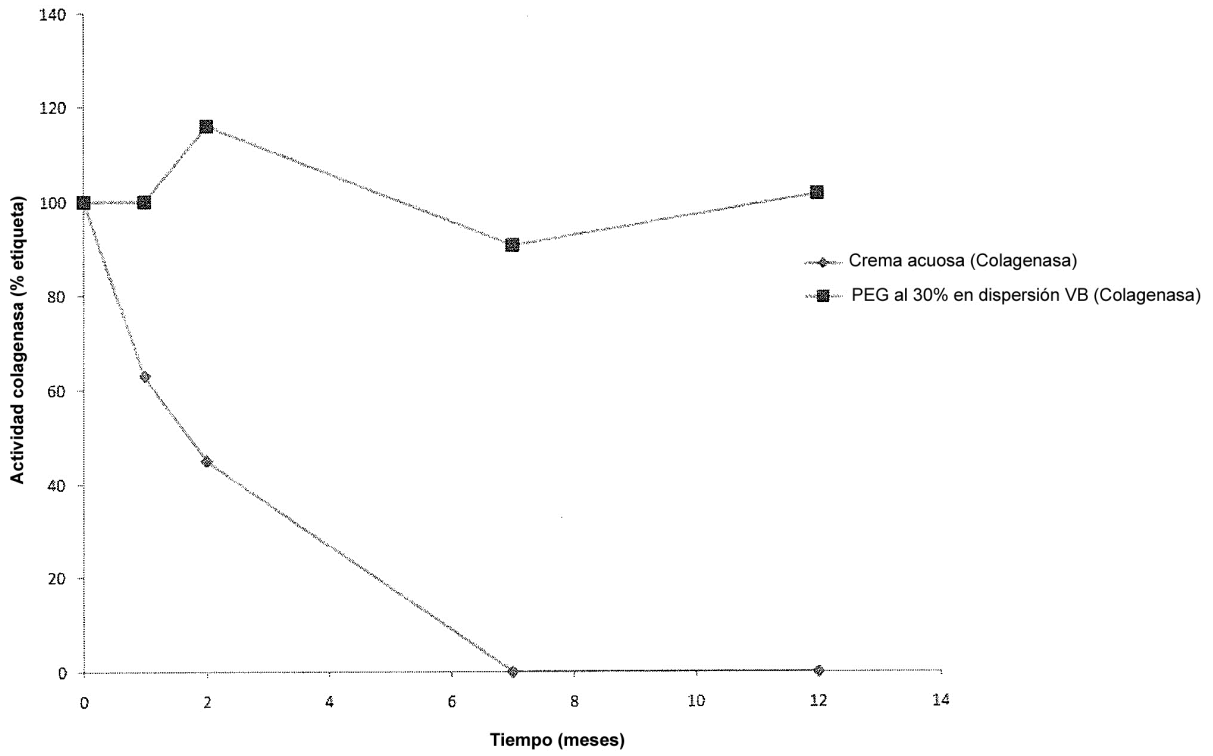


FIG. 10

Eficacia de desbridamiento en eliminación de escara en quemaduras de cerdo.

