

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 632 790**

51 Int. Cl.:

**A61L 15/28** (2006.01)

**A61L 15/42** (2006.01)

**A61L 15/44** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.09.2012 E 12006367 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.03.2017 EP 2700418**

54 Título: **Capa de polímero activa realizada de derivados de quitina, especialmente para un vendaje, y su uso**

30 Prioridad:

**24.08.2012 PL 40050912**

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

**15.09.2017**

73 Titular/es:

**CELThER POLSKA SP. Z O.O. (100.0%)  
Ul. Ostrzykowiżna 14A  
05-170 Zakroczym, PL**

72 Inventor/es:

**RIESKE, PIOTR;  
STOCZYNSKA-FIDELUS, EWELINA;  
SKOLUCKA, KAROLINA y  
PIASKOWSKI, SYLWESTER**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 632 790 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

Capa de polímero activa realizada de derivados de quitina, especialmente para un vendaje, y su uso

Un objetivo de la invención es una capa de polímero activa hecha de derivados de quitina, especialmente para un vendaje y su uso para producir el vendaje usado para cuidar heridas y ulceraciones, acelerando la curación de

- 5
- heridas infectadas clínicamente,
  - heridas de curación lenta: úlceras de presión, ulceración crural, venas varicosas, gangrena diabética, quemaduras, abscesos, furúnculos, panadizos, después de retirada de la uña
  - 10 - heridas que exudan copiosa o moderadamente, en la parte final de la etapa de limpieza y formándose nuevo tejido,
  - ulceraciones;

y para el vendaje de heridas en casos clínicos que requieren un material de vendaje especial, incluyendo:

- laceraciones, heridas contusas, abrasiones, ulceración crural, quemaduras, quemaduras químicas, lesiones por radiación,
- 15 - en el tratamiento de trasplantes, para cubrir áreas donde se recogieron o aplicaron los injertos
- en cirugía plástica y cosmética para tratar queloides,
- en amputaciones y tratamiento de reconstrucción que requiere reconstrucción de tejidos.

El vendaje de acuerdo con la invención es particularmente útil en casos en los que se cumplen los siguientes requisitos: ulceraciones limpias, planas, superficiales, presencia de granulación modificable, arteria femoral patente con insuficiencia moderada y media, sin exudación intensa. El vendaje se puede usar en seres humanos, así como para aplicaciones veterinarias.

20

Los derivados de quitina (poliésteres de quitina) se obtienen en una reacción de esterificación de la quitina en presencia de un anhídrido alifático y cíclico pertinente. La quitina, con el carbonato de calcio retirado previamente, se somete a acilación en presencia de un catalizador seleccionado (siendo al mismo tiempo parte del medio de reacción) y el anhídrido seleccionado.

Después de la síntesis, el grupo acetilamino de cada monómero de quitina permanece sin cambios. Los grupos hidroxilo de la quitina durante la síntesis se esterifican. El grado medio de esterificación es 1,60-1,99 dependiendo del tipo de anhídrido que se usa.

El grado de esterificación está directamente relacionado con el tipo (significa el tipo de anhídrido) y la cantidad de los reactivos que se usan en la síntesis, las condiciones de la reacción (temperatura), el tiempo de la reacción y el procedimiento de aislamiento y purificación del producto final. Después de la etapa de aislamiento y purificación, se obtiene el producto final con el grado de esterificación medio constante.

30

Los sustituyentes pueden ser derivados de hidroxiacidos (por ejemplo, ácido láctico, ácido glicólico), de anhídridos alifáticos saturados de cadena lineal (longitud de la cadena del resto de ácido de C2 a C8, por ejemplo, de anhídrido acético a anhídrido octanoico, y de anhídridos tales como anhídrido acético-propiónico, anhídrido butanoico-propanoico), anhídridos insaturados alifáticos de cadena ramificada (por ejemplo, anhídrido metacrílico, anhídrido 2-butenoico) o anhídridos cíclicos (anhídrido maleico, anhídrido glutárico, anhídrido succínico, anhídrido ftálico). Los grupos hidroxilo de la quitina pueden estar sustituidos en una o dos ubicaciones usando uno o dos tipos de sustituyentes de la misma o diferente longitud de cadena.

40

En el caso de lixiviación, la expresión "derivados de quitina" se entiende como poliésteres de quitina producidos en la reacción de esterificación de la quitina en presencia de un catalizador seleccionado y un anhídrido alifático saturado de cadena lineal, con la cadena del resto de ácido de C2 a C8 (por ejemplo, de anhídrido acético a anhídrido octanoico y de anhídridos, tales como: anhídrido acético-propiónico, anhídrido butanoico-propanoico), anhídridos insaturados ramificados alifáticos (por ejemplo, anhídrido metacrílico, anhídrido 2-butenoico) o anhídridos cíclicos (anhídrido glutárico, anhídridos succínico, anhídridos ftálico).

45

La quitina y el quitosano actúan como quimioattractores de macrófagos o neutrófilos, iniciando de ese modo los procesos de curación, y estimulando los procesos de granulación y reepitelización. Limita la formación de cicatrices y, siendo esto su ventaja considerable con respecto a las mallas de polímero de la competencia - tiene efecto antibacteriano interno, permitiendo simultáneamente la unión y liberación controlada de factores antibacterianos exógenos [Hu SG, Jou CH, Yang MC.: Biomaterials 2003; 24:2685; Ueno H, y col.: Biomaterials 1999;20:1407; Ishihara M, y col.: Biomaterials 2002;23:833; Cho YW, y col.: Biomaterials 1999;20: 2139; Obara K, y col.: Biomaterials 2003;24:3437; Mi FL, y col.: Biomed Mater Res 2002;59:438; Mao JS, y col.: Bioma-terials 2003;24:1621; Muzzarelli RA, y col. Biomaterials 2005;26:5844]. Además, la quitina y sus derivados tienen propiedades antibacterianas y antifúngicas intrínsecas [Hu SG, Jou CH, Yang MC.: Biomaterials 2003; 24:2685]. El mecanismo preciso que subyace a estas propiedades no se ha explicado completamente aunque, sin embargo, se han propuesto numerosos mecanismos posiblemente responsables de ese fenómeno. Los grupos catiónicos unidos a los aniones de una pared celular bacteriana pueden inhibir la biosíntesis y, además, la quitina puede alterar el transporte molecular a través de la pared celular bacteriana acelerando de ese modo su muerte [Hu SG, Jou CH,

Yang MC. Biomaterials 2003; 24:2685]. Ventajas de la aplicación de quitina y sus derivados en medicina degenerativa:

- biocompatibilidad,
- induce reacciones intercelulares y desarrollo de tejido,
- 5 - tiene propiedades mecánicas y físicas apropiadas,
- biodegradable - en la cantidad adecuada - no excediendo la reforma y sin inducir inmunoreacción; los productos de su degradación no son tóxicos. El procedimiento se basa en la hidrólisis enzimática de restos acetilo. Una enzima básica responsable de la degradación de la quitina *in vivo* es la lisozima,
- controla de forma apropiada el comportamiento de las células - adhesión, proliferación, migración, diferenciación
- 10 (es posible que el polímero se una a proteínas adhesivas y factores de crecimiento),
- capacidad para movilizar las células pertinentes en el tejido circundante, responsables del procedimiento de separación, incluyendo células madre.

Recientemente, se han realizado intentos para proporcionar diversos implantes médicos con propiedades antibacterianas a través de unión química o física a antibióticos. La unión de antibióticos a biomateriales se dirige a proporcionarlos con propiedades bacteriostáticas y antisépticas y, por lo tanto, asegurar la protección frente a la infección. El uso de medicaciones inmovilizadas (unidas) es de relevancia para la construcción de biomateriales para el tratamiento de heridas y ulceraciones de curación lenta. Los polisacáridos han atraído un considerable interés como vehículos de las medicaciones. En un cuerpo vivo, se disuelven lentamente por parte de los fluidos corporales, asegurando por lo tanto la liberación gradual de un producto medicinal en el tiempo.

20 En los diseños de biomateriales modernos, se usan la compatibilidad de tejido de los biopolímeros y sus capacidades de degradación. El uso correcto de estas propiedades puede asegurar una liberación controlada de medicinas, la optimización de dosis para una terapia específica y el mantenimiento de una concentración local de medicina adecuadamente alta durante un periodo de tiempo máximo.

25 La medicina de regeneración busca nuevas soluciones alternativas, cambiar el enfoque del tratamiento y el relleno de los defectos tisulares. Las propiedades de la quitina y sus derivados, como polisacáridos naturales, los predestinan para la inmovilización de células, enzimas y proteínas, así como para su uso como películas en sistemas para liberación controlada de medicinas.

30 La quitina es catiónica, y eso es principalmente responsable de la unión electrostática con glucosamina glicanos (GAG) aniónicos, proteoglicanos y otras moléculas cargadas negativamente. Esta característica del biopolímero permite la captura y concentración de diversas biomoléculas, ya que numerosas citoquinas/factores de crecimiento se unen a GAG [Madhally SV, Matthew HWT.: Biomaterials 1999;20:1133].

35 Se conocen vendajes para heridas en base a quitina o quitosano, por ejemplo, como en el documento de solicitud Japonesa JP2011167237, que se refiere a un vendaje basado en nanofibras de quitina, quitosano o sus materiales compuestos, que se prepara solo en agua. Los vendajes conocidos hasta la fecha preparados en base a quitosano o quitina han mostrado buenas propiedades biológicas en el contacto con las heridas difíciles de curar. Para la mejora de las propiedades terapéuticas, el quitosano o la quitina se reemplazaron por un derivado de quitina, por ejemplo dibutilil quitina. Tal vendaje se conoce del documento de solicitud de patente Polaco PL367163 (WO2005/099781A1), que describe un vendaje de herida que usa dibutilil quitina y la quitina regenerada a partir de la dibutilil quitina usada para producir el vendaje de la herida, e incluye un procedimiento para su producción. Estos vendajes son en base a la tecnología de hilado. Los vendajes de material textil requieren:

- planta para las fibras de hilado en el procedimiento por vía húmeda o por electrohilado en máquinas de hilado,
- preparación de las soluciones de hilado, solidificación de polímero, su lavado, estiramiento, secado, etc.,
- corte de esas fibras, y su cardado en máquinas especiales y ese procedimiento está acompañado por una considerable pérdida de polímero en forma de polvo,
- 45 - formación de esterilla en máquinas especiales, su perforación con aguja y procesamiento térmico para obtener la forma no tejida final.

50 Inesperadamente, pareció que la formación de la capa de polímero activa de los diferentes derivados de quitina obtenidos en la reacción de esterificación de la quitina en presencia de anhídridos alifáticos de una cadena de una longitud de C2 a C8 de anhídridos lineales saturados, ramificado insaturados, cíclicos en una forma no fibrosa permitió obtener propiedades de curación incluso mejores, mayores velocidades de renovación de la piel, viabilidad, fuerza de unión a polímero, que los materiales de vendaje conocidos. Además, los estudios comparativos de los vendajes que contienen capas activas en base a dibutililquitina (DBC) en forma fibrosa y no fibrosa (preparada de acuerdo con la invención) mostraron diferencias significativas entre un producto unido hecho de DBC y los vendajes de acuerdo con la invención. Los vendajes que comprenden una capa de polímero activa no fibroso en base a derivados de quitina con células aplicadas merecen una especial atención, debido a que, hasta la fecha, en los derivados de quitina no se ha manejado la aplicación de células y no se había descubierto ningún uso práctico. Tales resultados se consiguieron, entre otros, mediante el uso especificado de mezclas de polímero de la invención.

60 El objetivo de la invención es una capa de polímero activa especialmente para un vendaje de una estructura tridimensional, caracterizado por que, tiene una estructura no fibrosa obtenida mediante un procedimiento de vertido sobre la superficie no absorbente disuelta en el disolvente de al menos uno de los derivados de quitina obtenidos en la reacción de esterificación de la quitina en presencia de anhídridos alifáticos de una cadena de una longitud de C2

a C8 saturada lineal, y anhídridos, preferentemente anhídrido acético-propiónico, anhídrido butanoico-propiónico, anhídridos insaturados ramificados, preferentemente anhídrido metacrílico, anhídrido 2-butenoico y anhídridos cíclicos, preferentemente anhídrido glutárico, anhídrido maleico, anhídrido succínico, anhídrido ftálico e *hidroxiácidos, preferentemente ácido láctico, ácido glicólico.*

- 5 Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que, los derivados de quitina que se producen en la reacción de esterificación de la quitina en presencia de anhídridos alifáticos saturados de cadena lineal, con una longitud de C2-C8, insaturados de cadena ramificada o cíclicos, están mono o disustituidos.  
Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que, el grado medio constante de esterificación en los derivados de quitina es 1,60-1,99.
- 10 Preferentemente, la capa de polímero activa es biodegradable.  
Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que los derivados disustituidos de quitina contienen sustituyentes de las mismas longitudes de cadena.  
Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que los derivados disustituidos de quitina contienen dos tipos de sustituyentes de diferentes longitudes de cadena.
- 15 Preferentemente, la capa de polímero activa está hecha de un derivado de quitina, con una proporción de un 0,1 a un 100 %, o una mezcla de al menos dos derivados de quitina.  
Preferentemente, la capa de polímero activa es porosa.  
Preferentemente, la capa de polímero activa es no porosa.  
Preferentemente, la capa de polímero activa es biodegradable.
- 20 Preferentemente, la capa de polímero activa tiene poros de 0,1 mm a 4,0 mm de diámetro, lineales o en espiral, dependiendo del tipo de herida, o poros de un tamaño diverso, en un vendaje individual la proporción del porcentaje de poros varía en un 1-90 %.  
Preferentemente, la capa de polímero activa se obtiene por lixiviación.  
Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que en el procedimiento de lixiviación la sustancia
- 25 porogénica soluble en agua se extiende uniformemente,  $\left( \frac{\text{peso de polímero}}{\text{peso de agente porogénico}} = \text{de } \frac{1}{5} \text{ a } \frac{1}{40} \right)$ , con cristales de 100 a 800 mm en un molde, y a continuación se aplica una solución de polímero seleccionado entre un grupo de derivados de quitina o una mezcla de derivados de quitina disueltos en un disolvente orgánico, y a continuación se evapora el disolvente a 24 °C - 80 °C, durante 3-20 h, mientras se realiza el procedimiento de lavado de la sustancia porogénica y los residuos de disolvente con agua, durante 1-24 h.
- 30 Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que se usa cloruro sódico (NaCl) como la sustancia porogénica.  
Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que se usan alcoholes alquílicos como el disolvente orgánico de cetona.  
Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que la concentración de derivado de quitina/mezcla
- 35 de derivados de quitina en disolvente es 0,01 - 0,4 g/ml, preferentemente 0,001-0,15 g/ml.  
Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que se obtiene por disolución de (0,1-99 %) derivado de quitina, o su mezcla en la solución de cloruro de litio (LiCl) (5-6 %) - N,N-dimetilacetamida (DMAc), adición de carbonato de calcio y mezcla a temperatura reducida, y a continuación vertido de tal mezcla preparada en el molde, evaporación del disolvente y lavado con la solución de ácido clorhídrico, agua y secado.
- 40 Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que se usa carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>) en una cantidad de un 0,1-5 %, preferentemente un 1-3,5 %, en la que se obtienen los poros con diferentes cursos y tamaños de 100-1000 μm.  
Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que está saturada con excipientes. Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que se usan como excipientes iones de plata Ag<sup>+</sup> (0,01-5 %), y/o iones de potasio K<sup>+</sup> (0,01-2 %), y/o iones de calcio Ca<sup>2+</sup> (0,01-2 %), y/o iones Zn<sup>2+</sup> (0,01-1,5 %), y/o ácido cítrico (0,001-5 %), y/o sales de bismuto (0,001-5 %).
- 45 Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que está saturada con sustancias antisépticas. Las moléculas de antibiótico, dependiendo de su tamaño, se atrapan en la red de polímero durante el procedimiento de producción del vendaje, o se adsorben sobre una superficie.
- 50 Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que se usan como sustancias antisépticas: neomicina, polimixina B, bacitracina, vancomicina, gentamicina, cefalosporina y otros antibióticos de amplio espectro.  
Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que está saturada con metronidazol.
- 55 Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que se extiende sobre el hidrogel. Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que se usan como el hidrogel gelatina, agar, polietilenglicol, ácido poliacrílico.  
Preferentemente, la capa de polímero activa se caracteriza por que se coloca en el interior de una estructura de hidrogel o sobre la superficie del hidrogel en una cantidad de un 0,01-98 % en peso por volumen de hidrogel, de un espesor de 0,01-1,5 mm.
- 60 Otro objetivo de la invención es una capa de polímero activa especialmente para un vendaje, que se caracteriza por que tiene una estructura no fibrosa hecha de derivados de quitina obtenidos en la reacción de esterificación de la quitina en presencia de anhídridos alifáticos de una cadena de una longitud de C2 a C8 saturada lineal, y anhídridos,

preferentemente anhídrido acético-propiónico, anhídrido butanoico-propiónico, anhídridos insaturados ramificados preferentemente anhídrido metacrílico, anhídrido 2-butenico y cíclicos, preferentemente anhídrido maleico, anhídrido succínico, anhídrido ftálico, *hidroxiácidos, preferentemente ácido láctico, ácido glicólico* comprende fibroblastos y/o queratinocitos.

- 5 Otro objetivo de la invención es el uso de la capa de polímero activa para producir un vendaje que se puede aplicar sobre áreas afectadas, incluyendo ulceraciones superficiales planas limpias caracterizadas por granulaciones modificables, la arteria femoral patente con insuficiencia leve y moderada y sin exudación intensa. Preferentemente, el uso de la capa de polímero activa para producir el vendaje para uso en el tratamiento de seres humanos y en medicina veterinaria.
- 10 El vendaje que contiene la capa de polímero activa de acuerdo con la invención se caracteriza no solo por la formación relevante de derivados de quitina (estructura tridimensional). Además, se han eliminado los parámetros desventajosos del vendaje que comprende la capa de polímero activa formada únicamente por un derivado de quitina, que incluyen excesiva fragilidad, posibilidades ilimitadas para fabricar estructuras gruesas requeridas para vendaje de grandes defectos o para vendajes usados para el control rápido de hemorragias. Además, los datos
- 15 bibliográficos muestran que la combinación de materiales de vendaje de heridas hechos de diversos plásticos con medicinas (antibióticos, citostáticos) y/o factores de crecimiento, sustancias quimiotácticas, aumenta la eficacia del tratamiento. El vendaje de acuerdo con la invención tiene numerosas aplicaciones, que incluyen: cosmética, tratamiento de ulceraciones de diversos orígenes, tratamiento de quemaduras, así como en medicina de urgencias. El vendaje de acuerdo con la invención tiene una fijación segura y duradera (sujeción, fijación) para aplicaciones
- 20 veterinarias. La forma avanzada del vendaje que comprende la capa de polímero activa de acuerdo con la invención, usada para el tratamiento de ulceraciones de presión, diabéticas o vasculares, tiene diversas capas de diversos diseños y funciones, que se pueden cambiar sin alterar las capas ya integradas con un tejido recién creado. La forma avanzada del vendaje que comprende la capa de polímero activa hecha de derivados de quitina de acuerdo con la invención, tiene una estructura 3D (fabricada mediante el procedimiento de lixiviación) que estimula
- 25 la biodegradación y el proceso de curación. La estructura de la capa activa fabricada mediante el procedimiento de lixiviación de acuerdo con la invención tiene una estructura de poro conectado abierto (red de "túbulos conectados") que no se repite mediante el uso de otros procedimientos bien conocidos y es completamente biodegradable. En su ejemplo más avanzado de ejecución el vendaje consiste en la capa de polímero activa que incluye células (fibroblastos y/o queratinocitos), que se rodean además con una solución que asegura su supervivencia. Aunque no
- 30 causa ninguna inmunización proporciona una opción para injertos autólogos así como alogénicos, es decir, de células de un paciente o de donadores no relacionados. Las células son una fuente de señales que estimulan la regeneración de los tejidos del paciente, y también pueden llegar a ser parte de los tejidos reconstruidos del paciente, como es el caso de vendajes de un diseño que permite un número muy grande de células, que excede de 1.000.000 por cm<sup>2</sup>.
- 35 Se conocen vendajes que usan un fenómeno similar, tales como Apligraf (documentos de Patente: US4.485.096; US5.106.949; US5.536.656). Sin embargo, en su caso las células se colocan en gel, haciendo difícil la comunicación con los tejidos del paciente, y se carece de influencia de polímero positiva significativa. La combinación de células con un polímero que contiene derivados de quitina da como resultado una influencia sinérgica inesperada en un tejido afectado.
- 40 El vendaje que comprende la capa de polímero activa en base a derivados de quitina seleccionados es un vendaje de nueva generación, que pertenece a los vendajes activos. Las características ventajosas de tal vendaje son las que siguen a continuación:
- mantenimiento de un entorno de curación apropiado (humedad óptima, temperatura constante, intervalo de pH ligeramente ácido, intercambio de gases correcto - valores óptimos de pO<sub>2</sub> y pCO<sub>2</sub>),
  - 45 - estimulación de la migración de células en las fases de inflamación y proliferación,
  - estimulación del proceso de curación,
  - absorción de exudación intercapilar,
  - estimulación de fibroblastos, queratinocitos y proliferación de células de granulación,
  - estimulación de angiogénesis,
  - 50 - funciones protectoras (protección de una herida frente a contaminación, irritación, daño mecánico, protección de los tejidos recién creados en las etapas de formación de tejido de granulación y epitelización, protección frente a la maceración de la piel),
  - unión perfecta en el lugar de aplicación,
  - se elimina la necesidad de retirar el vendaje usado (degradación enzimática de un vendaje en una herida);
  - 55 - cuando sea necesario, se aplican nuevos vendajes sobre un vendaje previo,
  - ningún efecto tóxico ni alérgico.

La capa de polímero activa de acuerdo con la invención también puede contener antibióticos y metronidazol unidos al polímero. Teniendo propiedades antiprotozoarias y efecto antibacteriano sobre bacterias anaeróbicas, el metronidazol es uno de los compuestos quimioterapéuticos más eficaces para el tratamiento de pacientes con

60 heridas infectadas. Los estudios han mostrado que cuando se administra por vía oral, esta medicina acelera la curación de quemaduras de segundo grado. Además, el metronidazol puede proteger pacientes frente a los efectos negativos del estrés oxidativo inducido por las quemaduras corporales. Además, los estudios muestran que la aplicación local de metronidazol en el tratamiento de ulceraciones cruales vasculares puede acelerar tanto la

granulación como la epitelización del tejido [Witkowski J. A., Parish L. C: Pharmacol. y Therap. 30, 1991, 660 - 1]. El vendaje que comprende la capa de polímero activa de acuerdo con la invención puede ser de una capa y completamente biodegradable.

5 La capa de polímero activa compuesta por los derivados de quitina de acuerdo con la invención tiene el grado de esterificación medio constante (resultado de las condiciones de reacción) en comparación con los materiales de vendaje hechos de dibutirilquitina, que se describen en el documento de Patente WO 2005/099781 A1 (Politechnika Łódzka [PL]); Krucinska Izabella [PL]; Szosland) 27,10, 2005, donde los vendajes de acuerdo con la invención se someten a la hidrólisis intencionada de las uniones éster para obtener vendajes hechos de DBC con grados variables de esterificación.

10 La capa de polímero activa de acuerdo con la invención se biodegrada en la herida, donde cambia el grado de esterificación de los derivados de quitina. La biodegradación se produce debido a la degradación enzimática en la herida, donde se produce la hidrólisis de las uniones éster y la destrucción de los enlaces glicosídicos  $\beta$ -1,4. Como resultado, se forman los grupos alquilo libres, las cadenas de polímero de diferentes longitudes y diferentes grados de esterificación y monómeros de quitina, lo que afecta positivamente al proceso de curación. Las moléculas de degradación se reabsorben por parte de los tejidos.

15 La capa de polímero activa se puede hacer de un derivado de quitina (con una participación de un 0,1 un 100 %) o una mezcla de derivados de quitina (dos o más derivados de quitina o derivados de quitina unidos a otros polímeros biodegradables biocompatibles disponibles habitualmente, tales como, por ejemplo: polilactida, poliglicol, poliésteres del ácido 3-hidroxibutírico y otros) o es un material biocompuesto en base a uno o más derivados de quitina. En este caso, el derivado de quitina significa quitina acilada con *hidroxiácidos* (tales como: *ácido láctico*, *ácido glicólico*), anhídridos alifáticos de una cadena saturada lineal (la longitud de la cadena del radical ácido es de C2 a C8, por ejemplo que es de anhídrido acético a anhídrido octanoico y de anhídridos, tales como: anhídrido acético-propiónico, anhídrido butanoico-propiónico), anhídridos insaturados ramificados alifáticos (por ejemplo, anhídrido metacrílico, anhídrido 2-butenico) o anhídridos cíclicos (anhídrido maleico, anhídrido glutárico, anhídrido succínico, o anhídrido ftálico). La quitina puede estar sustituida en una o dos posiciones (están sustituidos uno o dos grupos hidroxilo) por medio de uno o dos sustituyentes de las mismas o diferentes longitudes de cadena. La capa de polímero activa tiene una estructura tridimensional (con poros de 0,1 mm a 4,0 mm de diámetro, lineales o en espiral, dependiendo del tipo de herida, o poros de un tamaño diverso, variando la relación de porcentaje de poros en un vendaje individual de un 1-90 %).

30 El vendaje que comprende la capa de polímero activa de acuerdo con la invención también puede contener una capa absorbente. La capa absorbente puede estar hecha de los siguientes compuestos químicos: hidrofibra, alginatos, membranas y películas de poliuretano semipermeables, hidrocoloides en forma de placas, hidrocoloides en forma de gel. Características de las capas absorbentes individuales:

35 - membranas y películas de poliuretano semipermeables: contenido de poliuretano de un 15-100 %, espesor de la capa de 0,1 mm - 5,0 mm, dependiendo de la forma y tamaño de la capa interna. La capa externa que forma una barrera para microorganismos y agua (resistente al agua) permite, sin embargo, la evaporación de la superficie de la herida, asegurando un entorno de humedad en la herida, fácil de retirar de la capa interna directamente en contacto con la herida. La capa de absorción de este tipo se diseña para heridas que exudan de forma leve y moderada.

40 - capa de hidrofibra - en base a carboximetilcelulosa (u otros derivados celulósicos de propiedades físicas y químicas similares), contenido de derivado de celulosa de un 5-100 %, espesor de la capa de 0,1 mm - 5,0 mm, tamaño y forma dependiendo de la capa interna, en forma de fibras hidrófilas comprimidas para formar una placa. Las fibras en contacto con la exudación de la herida forman un revestimiento de gel - la exudación se absorbe y se captura en la estructura de la fibra, eliminando de ese modo las bacterias patógenas. Recomendada particularmente para heridas desatendidas, con gran exudación y con riesgo de infección. La adición de iones de plata (0,1-2 %) proporciona esta capa con propiedades antisépticas.

45 - capa basada en alginato - alginatos de calcio y sodio-calcio, obtenidos a partir de derivados de sodio-calcio de ácido al cínico (ácido D-manurónico y L-glucurónico) y un polímero obtenido a partir de algas marrones marinas (bloques GG, MM, MG; 25-85 % de ácido L-glucurónico, 20-70 % de ácido manurónico, con un contenido en porcentaje de ácido glucurónico que excede el contenido de ácido manurónico; 0,1-10,0 % de contenido de iones de calcio, 0,1-2,0 % de contenido de iones de sodio). Está en forma de una placa hecha de una red de fibras comprimidas. Cuando se absorbe la exudación de la herida, se forma gel de unión de exudación alrededor de cada fibra. El fenómeno de formación de gel se basa en intercambio de los iones de calcio sobre la superficie de la fibra con los iones de sodio en la exudación. La capa de absorción de este tipo se diseña para heridas que exudan de forma moderada y fuerte.

55 - capa de hidrocoloide - en forma de placas; la capa protectora externa es semipermeable (objetivo: protección frente a la contaminación y la invasión de microorganismos patógenos), la capa interior contiene moléculas hidrófilas de carboximetilcelulosa (carboximetilcelulosa sódica y otros tipos de carboximetilcelulosa) suspendidas en una mezcla de pectina hidrófoba - que asegura la humedad apropiada - y gelatina - que asegura un pH ligeramente ácido. El contacto con el exudado de la herida se hincha y, debido al aumento de interacciones moleculares, se transforma en un gel. Se forma un sistema de coloides viscoso, que solidifican en una masa homogénea, en la que los espacios libres se llenan con el exudato absorbido. Esa capa asegura el

mantenimiento de un entorno muy húmedo de la herida, temperatura constante e intervalo de pH ligeramente ácido (reduce el dolor, el pH ácido reduce la producción de prostaglandina PGE<sub>2</sub> que sensibiliza las terminaciones nerviosas). La capa de absorción de este tipo se diseña para heridas que exudan de forma leve y moderada.

5 El vendaje que comprende la capa de polímero activa de acuerdo con la invención se puede producir como un hidrogel con moléculas suspendidas de derivados de quitina o su mezcla. Almacena una gran cantidad de agua (5-85 %). Debido a las posibles propiedades hidrófilas asegura un humedecimiento y una hidratación intensos de una herida seca. Absorbe y une la exudación de la herida solo en una baja extensión. Se diseña para heridas que no exudan.

10 Un vendaje de este tipo se recomienda para quemaduras de segundo grado, abrasiones y para cubrir las áreas de las que se recogen los injertos de piel.

La forma utilizable de un vendaje de hidrogel con moléculas suspendidas de derivados de quitina o sus mezclas es un panel de hidrogel de cualquier forma y de 3 a 6 mm de espesor. El vendaje de este tipo es una barrera eficaz para una herida frente al entorno externo, mientras que es permeable a oxígeno y medicinas.

15 El vendaje que comprende la capa de polímero activa de acuerdo con la invención se puede preparar como un gel. Para este fin se usan un derivado de quitina o una mezcla de derivados de quitina y el sistema LiCl (5-6 %)/N,N-dimetilacetamida (DMAC). Los poros se obtienen físicamente por alineación o químicamente (usando una reacción de un 0,1-5 % de CaCO<sub>3</sub> con HCl 1 N, que da como resultado la formación de CO<sub>2</sub> a 28-80 °C). Se obtienen poros de un curso diferente y 100-1000 µm. Tanto el tamaño de poro como la porosidad (5-85 %) están relacionados directamente con el tamaño de los cristales de carbonato de calcio (se obtiene un tamaño deseado de los granos con tamices apropiados con tamaño de malla seleccionado, 20-1000 µm) y su concentración (0,1-80 %).

La forma utilizable de un vendaje de hidrogel en base a derivados de quitina es un panel de hidrogel flexible de cualquier forma y de 2 a 8 mm de espesor. El vendaje de este tipo es una barrera eficaz que protege una herida frente al entorno externo, mientras que es permeable a oxígeno y medicinas.

25 El vendaje que comprende la capa de polímero activa de acuerdo con la invención puede contener una capa de fibroblastos y/o queratinocitos. Los fibroblastos formarán un injerto autólogo o alogénico, de células de una persona que recibe el vendaje o de donadores relacionados o sin relacionar. El número de células debería variar de 10.000 a 1.000.000 por centímetro cuadrado de la superficie de vendaje, y depende del número y tamaño de poros formados en el polímero. El número de células aumenta con el volumen de los espacios creados.

30 El vendaje de ese tipo puede ser de cualquier forma, ajustada a las necesidades individuales de un paciente (formas circulares, cuadradas, rectangulares, anatómicas, etc.). El espesor de un vendaje individual puede variar de 0,1 mm a 5,0 mm.

Los parámetros técnicos que caracterizan un vendaje de capa individual, dependiendo del espesor de la capa de polímero y de los derivados de quitina usados:

- 35
- permeabilidad al oxígeno (cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>)- 500-9000
  - elongación- 0,5- 500 %
  - resistencia a la tracción (kg/cm<sup>2</sup>)- 1-200
  - absorción de PBS (0,2-50 g de PBS/24 h/100 cm<sup>2</sup> de vendaje).

40 La aplicación de los vendajes que comprenden la capa de polímero activa de acuerdo con la invención: ulceración crural, ulceración de presión, gangrena diabética, abscesos, furúnculos, carbuncos, quemaduras, vendaje de heridas en traumatología y cirugía neoplásica, y otros. Cuando existen tejidos necróticos en la herida, es recomendable aplicar una pomada que contenga enzimas proteolíticas (antes de que se aplique un vendaje en base a derivados de quitina) u otra medicación para la limpieza autolítica de los tejidos necróticos de la herida, o limpiar la herida quirúrgicamente.

45 En estudios biológicos realizados *in vitro* e *in vivo* sobre fibras y materiales no fibrosos de dibutiril quitina (DBC), ninguna reacción alérgica y ningún aumento en la reacción del tejido después de su implante intraperitoneal confirmó que DBC satisface los requisitos biológicos para dispositivos médicos, especificados en el estándar PrPN-EN 10993 "Evaluación biológica de dispositivos médicos". Los resultados de esos estudios se publicaron [A. Chilarski, L. Szosland, I. Krucinska, P. Kiekens, A. Btiasinska, G. Schoukens, R. Cisto, J. Szumilewicz, "*Fibres & Textiles in Eastern Europe*", 2007, Vol. IV, pág. 77-81]. En los estudios clínicos realizados en Cirugía Pediátrica y Clínica Urológica del Hospital Memorial de Madres Polacas y el Instituto de Investigación de Lodz, en los años 2003-2005, se demostró un efecto espontáneo de DBC, como un factor acelerador de la curación de numerosos tipos de heridas. Los derivados de quitina formados en materiales no fibrosos también se sometieron a un ensayo previamente en el proyecto europeo CHITOMED (Biomedical Textiles of Dibutyrylchitin and Chitin), en los laboratorios de la Universidad de Tecnología de Lodz y la Universidad de Gante (Bélgica) y durante los estudios clínicos en Cirugía Pediátrica y Clínica Urológica del Hospital Memorial de Madres Polacas y el Instituto de Investigación de Lodz gestionados por el Profesor Andrzej Chilarski.

El vendaje que comprende el polímero de capa activa de acuerdo con la invención se muestra en las figuras, en las

que la figura 1 muestra el vendaje de capa individual completamente biodegradable que comprende la capa activa en base a los derivados de quitina, la figura 2 muestra el vendaje de dos capas completamente biodegradable, la figura 3 muestra el vendaje de tres capas completamente biodegradable, la figura 4 muestra el vendaje de capa individual completamente biodegradable preparado mediante un procedimiento de lixiviación, la figura 5 muestra el vendaje de dos capas completamente biodegradable preparado mediante un procedimiento de lixiviación, la figura 6 muestra el vendaje de hidrogel con partículas suspendidas de derivados de quitina o sus mezclas, la figura 7 muestra el vendaje de hidrogel con las partículas de derivados de quitina o sus mezclas sobre la superficie del vendaje, la figura 8 muestra el vendaje de gel de una estructura porosa en base a derivados de quitina, la figura 9 muestra el vendaje de capa individual completamente biodegradable preparado mediante un procedimiento de lixiviación enriquecido con células (fibroblastos y/o queratinocitos), la figura 10 muestra una fotografía de un microscopio de fluorescencia de un vendaje tejido (fibroso) en base a un derivado de quitina, la figura 11 muestra una fotografía de un microscopio óptico de un fragmento de un vendaje tejido (fibroso) en base a un derivado de quitina, la figura 12 muestra una fotografía de un microscopio de fluorescencia (ampliación 10 x 10) de un fragmento de vendaje que muestra una pieza del esqueleto de la capa de polímero activa, en base tridimensional al derivado de quitina preparado mediante un procedimiento de lixiviación, la figura 13 muestra una fotografía de un microscopio óptico (ampliación 4 x 10) de un fragmento de vendaje preparado mediante un procedimiento de lixiviación en base a un derivado de quitina, la figura 14 muestra una fotografía de un microscopio de fluorescencia (ampliación 20 x 10) de un fragmento de vendaje que muestra la pieza del esqueleto tridimensional de polímero en base a un derivado de quitina preparado mediante un procedimiento de lixiviación y en los ejemplos.

## 20 Ejemplo 1

### Vendaje de capa individual que comprende la capa 1 de polímero activa, completamente biodegradable

El vendaje consiste en una capa. La capa 1 de polímero activa se produce de un derivado de quitina obtenido mediante la reacción de esterificación con anhídrido propiónico (la concentración en porcentaje del derivado de quitina en el vendaje es de un 100 %). Un derivado de quitina disuelto con una concentración de un 10-30 % en acetona se vierte mediante una boquilla de un diámetro de 2-8 mm con una velocidad de 1-3 l/min sobre la superficie plana no absorbente (forma de cinta) de un ancho de 100 mm con un transporte constante de 0,5-1,0 metros por minuto. Una vez solidifica la cinta de polímero es posible realizar agujeros con un sello preparado (tamaño de las agujas de 0,098 a 3,98 mm) con diferentes cursos, tamaños y densidad de disposición y dando forma a la cinta de polímero obtenido de este modo para que tenga una forma que dependa del tipo y destino del vendaje. Como resultado de este procedimiento se produce una capa de polímero activa. Tiene una estructura porosa o una estructura no porosa tridimensional (en el caso de la estructura porosa - poros de 0,1 mm a 4,0 mm de diámetro, lineales o en espiral, o poros de tamaño mixto, relación de porcentaje de poros en un vendaje individual de un 1-90 %). La capa 1 de polímero activa se saturó además con excipientes o u otras sustancias antisépticas por inmersión de la capa 1 de polímero activa lista en la solución de excipiente y a continuación adsorción de la solución por evaporación del disolvente. La capa de polímero activa se saturó con excipientes tales como: iones de  $Ag^+$  en la cantidad de un 0,01 %, iones de  $Ca^{2+}$  en la cantidad de un 0,01 %. La capa 1 de polímero activa también se saturó con neomicina, un antibiótico con propiedades antisépticas y bacteriostáticas.

Finalmente, la capa 1 de polímero activa se pone en contacto directo con la herida.

40 Parámetros técnicos que caracterizan el vendaje de capa individual dependiendo del espesor de la capa de polímero activa y la porosidad:

- permeabilidad al oxígeno ( $cm^3/m^2$ ) - 1000-9000,
- elongación- 0,5 - 400 %,
- resistencia a la tracción ( $kg/cm^2$ )- 1-200,
- absorción de PBS (0,2-50 g de PBS/24 h/100  $cm^2$  del vendaje)

## 45 Ejemplo 2

### Vendaje de capa individual que comprende la capa 1 de polímero activa completamente biodegradable

El vendaje consiste en una capa. La capa 1 de polímero activa se produjo de la mezcla de tres ésteres *derivados* de quitina de (un 10 % de ácido *derivado* de acético, un 10 % de ácido *derivado* de pentanoico y un 80 % de ácido *derivado* de butanoico). La mezcla de polímero disuelta con la adición de excipientes (mencionados posteriormente) con una concentración de un 5-30 % en etanol se vierte mediante una boquilla de un diámetro de 2- 8 mm con una velocidad de 0,5-3,0 l/min sobre la superficie plana no absorbente (forma de cinta) de un ancho de 100 mm con un transporte constante de 0,5-1,0 metros por minuto. A continuación, después de la solidificación de las capas vertidas, se forma la capa 1 de polímero activa. El polímero de capa activa obtenido se conforma para tener una forma que depende del tipo y el destino del vendaje. La capa 1 de polímero activa se saturó con excipientes tales como iones de  $K^+$ , ácido cítrico en la cantidad de un 1,5 %, sales de bismuto en la cantidad de un 0,001 %. La capa 1 de polímero activa también se saturó con el antibiótico vancomicina (0,1 %).

Finalmente, la capa 1 de polímero activa se pone en contacto directo con la herida, tiene una estructura porosa tridimensional como se presenta en la figura 1.

Parámetros técnicos que caracterizan el vendaje de capa individual dependiendo del espesor de la capa de polímero activa y los derivados de quitina usados:

- permeabilidad al oxígeno ( $\text{cm}^3/\text{m}^2$ ) - 500 - 3000,
- elongación- 0,5- 500 %,
- 5 - resistencia a la tracción ( $\text{kg}/\text{cm}^2$ )- 1-200,
- absorción de PBS (0,2-50 g de PBS/24 h/100  $\text{cm}^2$  del vendaje)

Procedimiento de aplicación: aplicar delicadamente un vendaje biodegradable de capa individual sobre una herida limpiada previamente y presionar. La capa 1 de polímero activa en base a derivados de quitina no se retira de la herida sino que se deja para biodegradación enzimática, la velocidad de la cual depende del tipo de herida, así como del espesor del vendaje.

**Ejemplo 3**Vendaje de dos capas que comprende la capa 1 de polímero activa completamente biodegradable

El vendaje consiste en dos capas. La primera (exterior) es la película 2 protectora retirable, y la segunda (la capa 1 de polímero activa) consiste en una mezcla de tres ésteres *derivados* de quitina de (un 10 % de ácido *derivado* de acético, un 20 % de ácido *derivado* de pentanoico y un 20 % de ácido *derivado* de butanoico) unida a polímeros biodegradables biocompatibles - polilactida, 30 %, y poliéster de ácido 3-hidroxibutírico, 20 %. La capa 1 de polímero activa se prepara de acuerdo con la descripción del ejemplo 1. La capa exterior y la capa de polímero activa se unen mediante un sistema 2 de adhesivo periférico en forma de adhesivo acrílico, ambas capas se sellan con sus bordes laterales (0,1-10 % de adhesivo en una superficie de vendaje) como se presenta en la figura 2. La capa 1 de polímero activa se saturó además con los excipientes y las sustancias bactericidas por inmersión de la capa activa lista en la solución de una sustancia activa y a continuación adsorción de la solución por evaporación del disolvente. La capa 1 de polímero activo comprende iones de  $\text{Ag}^+$  en la cantidad de un 2,0 %, iones de  $\text{Zn}^{2+}$  en la cantidad de un 0,1 %, ácido cítrico en la cantidad de un 0,3 %. La capa 1 de polímero activa también se saturó con un antibiótico: gentamicina (0,1 %).

Parámetros técnicos que caracterizan el vendaje de heridas de dos capas, dependiendo del espesor de la capa 1 de polímero activa y los derivados de quitina usados:

- permeabilidad al oxígeno ( $\text{cm}^3/\text{m}^2$ )- 500-9000,
- elongación- 0,5- 500 %,
- resistencia a la tracción ( $\text{kg}/\text{cm}^2$ )- 1-200,
- 30 - absorción de PBS (0,2-50 g de PBS/24 h/100  $\text{cm}^2$  del vendaje);

Procedimiento de aplicación: aplicar delicadamente un vendaje biodegradable de dos capas sobre una herida limpiada previamente y presionar, y después de un tiempo predeterminado retirar la capa 3 exterior protectora. Solo se deja sobre la herida la capa 1 de polímero activa. La capa 1 de polímero activa no se retira de la herida sino que se deja para biodegradación enzimática, la velocidad de la cual depende del tipo de herida, así como del espesor y la porosidad del vendaje.

**Ejemplo 4**Vendaje de tres capas que comprende la capa 1 de polímero activa, completamente biodegradable

Los vendajes de tres capas son vendajes altamente absorbentes en los que la capa de absorbente asegura el entorno húmedo óptimo de la herida, evitando al mismo tiempo la acumulación del exudado en la herida y evitando la maceración de la piel sana alrededor de ella.

El vendaje consiste en tres capas. La exterior es una película 3 no perforada protectora retirable. La capa interior es la capa 4 de absorbente, que está dispuesta entre la capa exterior y la capa 1 de polímero activa. La capa 1 de polímero activa está hecha de una mezcla de tres derivados de quitina (obtenidos mediante una reacción de esterificación de quitina con los siguientes anhídridos sucesivamente: acético-propanoico, 20 %, un 40 % de butanoico-propanoico y un 20 % de metacrílico), se combina con el polímero biodegradable biocompatible ampliamente disponible poliglicol (el porcentaje de poliglicol fue un 20 %).

La capa 1 de polímero activa se preparó y se saturó con excipientes de acuerdo con la descripción del ejemplo 1. La capa 1 de polímero activa se saturó con iones de  $\text{Ag}^+$  en la cantidad de un 2,5 %, iones de  $\text{K}^+$  en la cantidad de un 0,1 %, sales de bismuto en la cantidad de un 0,1 %. La capa 1 de polímero activa también se saturó con metronidazol (0,3 %).

La capa 4 de absorbente se une a la capa 3 exterior y la capa 1 de polímero activa mediante un sistema 2 de adhesivo periférico (adhesivo de polivinilo). Las tres capas se sellan con sus bordes laterales (0,1 - 10 % de adhesivo sobre una superficie de vendaje). La capa 4 de absorbente está hecha de hidrofibras disponibles en el mercado (Figura 3).

Parámetros técnicos que caracterizan el vendaje de heridas de tres capas, dependiendo del espesor y la porosidad de la capa 1 de polímero activa:

- permeabilidad al oxígeno (cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>)- 200-9000,
- elongación- 0,5- 500 %,
- 5 - resistencia a la tracción (kg/cm<sup>2</sup>)- 1-300,
- absorción de PBS (0,2-70 g de PBS/24 h/100 cm<sup>2</sup> del vendaje);

Procedimiento de aplicación: aplicar delicadamente un vendaje biodegradable de tres capas sobre una herida limpiada previamente y presionar. Cuando se satura la capa 4 de absorbente (aumento visible del volumen de la capa 4 de absorbente; dependiendo del tipo de herida y de la cantidad de exudados, el tiempo varía de 5 a 168 horas), la capa 4 de absorbente con la capa exterior 3 se debería retirar delicadamente de la capa 1 de polímero activa, que se deja para biodegradación enzimática, la velocidad de la cual depende del tipo de herida, así como del espesor y la porosidad de la capa.

**Ejemplo 5**

Vendaje de tres capas que comprende la capa 1 de polímero activa, completamente biodegradable

15 Los vendajes de tres capas son vendajes altamente absorbentes en los que la capa 4 de absorbente asegura el entorno húmedo óptimo de la herida, evitando al mismo tiempo la acumulación del exudado en la herida y evitando la maceración de la piel sana alrededor de ella.

20 El vendaje consiste en tres capas. La exterior es una película 3 no perforada protectora retirable. La capa interior es la capa 4 de absorbente, que se dispone entre la capa exterior y la capa 1 de polímero activa. La capa 1 de polímero activa está hecha de una mezcla de tres derivados de quitina (obtenidos mediante una reacción de esterificación de la quitina con los siguientes anhídridos sucesivamente: acético-propanoico, 20 %, un 40 % de succínico y un 20 % de ftálico), se combina con el polímero biodegradable biocompatible ampliamente disponible poliglicol (el porcentaje de poliglicol fue un 20 %).

25 La capa 1 de polímero activa se preparó y se saturó con excipientes de acuerdo con la descripción del ejemplo 1. La capa 1 de polímero activa se saturó con iones de Ag<sup>+</sup> en la cantidad de un 2,5 %, iones de Ca<sup>2+</sup> en la cantidad de un 1,0 %, iones de Zn<sup>2+</sup> en la cantidad de un 0,1 %. La capa 1 de polímero activa también se saturó con metronidazol (0,3 %).

30 La capa 4 de absorbente se une a la capa exterior 3 y la capa 1 de polímero activa mediante un sistema 2 de adhesivo periférico (adhesivo de polivinilo). Las tres capas se sellan con sus bordes laterales (0,1 - 10 % de adhesivo sobre una superficie de vendaje). La capa 4 de absorbente está hecha de alginatos (Figura 3).

Parámetros técnicos que caracterizan el vendaje de heridas de tres capas, dependiendo del espesor y la porosidad de la capa de polímero activa:

- permeabilidad al oxígeno (cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>)- 200-9000,
- elongación- 0,5- 500 %,
- 35 - resistencia a la tracción (kg/cm<sup>2</sup>)- 1-300,
- absorción de PBS (0,2-70 g de PBS/24 h/100 cm<sup>2</sup> del vendaje);

40 Procedimiento de aplicación: aplicar delicadamente un vendaje biodegradable de tres capas sobre una herida limpiada previamente y presionar. Cuando se satura la capa 4 de absorbente (aumento visible del volumen de la capa 4 de absorbente; dependiendo del tipo de herida y de la cantidad de exudados, el tiempo varía de 5 a 168 horas), la capa 4 de absorbente con la capa exterior 3 se debería retirar delicadamente de la capa 1 de polímero activa, que se deja para biodegradación enzimática, la velocidad de la cual depende del tipo de herida, así como del espesor y la porosidad de la capa.

**Ejemplo 6**

Vendaje de capa individual que comprende la capa 1 de polímero activa completamente biodegradable, preparado con el procedimiento de lixiviación

50 El vendaje poroso de polímero de estructura tridimensional se basa en una mezcla de derivados de quitina obtenidos con los anhídridos propanoico, 20 %, acético, 30 %, y 2-butenoico, 50 %. Los poros se hacen por lixiviación. En el procedimiento, un molde (de una forma que depende de la forma final del vendaje) de NaCl, con cristales de un tamaño (de 100 a 800 μm), se extiende uniformemente (el peso de polímero/peso de sustancia porogénica es de 1/5 a 1/40), y a continuación se aplica delicadamente la solución de acetona de polímero; la concentración de la mezcla de polímero en el disolvente es de 0,02 g/ml. A continuación el disolvente se evapora a 24 °C durante 2 horas. La sustancia porogénica y los restos de disolvente se retiran por lavado con agua, (posiblemente) desionizada, durante 1-24 h. Después de retirada por lavado completa de la sustancia porogénica, se forma una capa 1 de polímero activa porosa de estructura tridimensional y porosidad que varía de un 5 a un 99 % por superficie de vendaje. El tamaño de

los poros obtenidos varía de 50 a 600  $\mu\text{m}$  (figura 4).

La capa 1 de polímero activa se saturó con excipientes de características bactericidas por inmersión de la capa 1 de polímero activa lista en la solución de excipiente y a continuación adsorción de la solución por evaporación del disolvente. La capa 1 de polímero activa contenía iones de  $\text{Ag}^+$  en la cantidad de un 0,2 %, ácido cítrico en la

- 5 cantidad de un 0,003 %. La capa 1 de polímero activa también se saturó con un antibiótico: vancomicina (0,5 %). Un vendaje de este tipo no se retira de la herida sino que se deja para biodegradación enzimática, la velocidad de la cual depende del tipo de herida, así como de la porosidad de la capa 1 de polímero activa.

Parámetros técnicos que caracterizan el vendaje de capa individual, dependiendo del espesor y la porosidad de la capa de polímero:

- 10 - permeabilidad al oxígeno ( $\text{cm}^3/\text{m}^2$ )- 200-9000,  
 - elongación- 0,5- 35 %,  
 - resistencia a la tracción ( $\text{kg}/\text{cm}^2$ )- 1-200,  
 - absorción de PBS (0,2-30 g de PBS/24 h/100  $\text{cm}^2$  del vendaje);

- 15 Procedimiento de aplicación: aplicar delicadamente un vendaje biodegradable de capa individual sobre una herida limpiada previamente y presionar. Un vendaje de este tipo no se retira de la herida sino que se deja para biodegradación enzimática, la velocidad de la cual depende del tipo de herida, así como del espesor y la porosidad del vendaje. Cuando sea necesario, sobre un vendaje degradado se aplica otro vendaje de este tipo, sin la retirada del previo.

### Ejemplo 7

- 20 Vendaje de heridas de dos capas, completamente biodegradable preparado con el procedimiento de lixiviación

- El vendaje consiste en dos capas. La primera (exterior) es una película 3 protectora retirable (disponible en el mercado, perforada o no perforada), mientras que la segunda capa (activa) es una capa 1 porosa de polímero activa de estructura tridimensional, en base a una mezcla de derivados de quitina obtenidos con los anhídridos butanoico, 80 %, y acético, 20 %. Los poros se preparan por lixiviación. En un molde (de una forma que depende de la forma
- 25 final del vendaje) se extiende uniformemente NaCl, con cristales de un tamaño (de 100 a 800  $\mu\text{m}$ ), (el peso de polímero/peso de sustancia porogénica es de 1/5 a 1/40), y a continuación se aplica delicadamente la solución de etanol de polímero; la concentración de la mezcla de polímero en el disolvente es de 0,03 g/ml. El disolvente se evapora a 30 °C y presión reducida, durante aproximadamente 3 horas. La sustancia porogénica y los restos de disolvente se retiran por lavado con agua, (posiblemente) desionizada, durante 1-24 h. Después de la retirada por
- 30 lavado completa de la sustancia porogénica, se forma un vendaje de polímero poroso activo de estructura tridimensional y una porosidad que varía de un 5 un 99 % por superficie de vendaje. El tamaño de los poros obtenidos varía de 50 a 600  $\mu\text{m}$  (Figura 5).

- La capa 1 de polímero activa se saturó además con excipientes con propiedades bactericidas por inmersión de la capa activa lista en la solución de excipiente y a continuación adsorción de la solución por evaporación del disolvente. La capa 1 de polímero activa contenía iones de  $\text{Ag}^+$  en la cantidad de un 1,5 %, un 0,01 % de iones de  $\text{Zn}^{2+}$ , ácido cítrico en la cantidad de un 3,1 %. La capa 1 de polímero activa también se saturó con un antibiótico: cefalosporina (0,1 %).

Parámetros técnicos que caracterizan el vendaje de heridas de dos capas, dependiendo de la porosidad de la capa de polímero activa:

- 40 - permeabilidad al oxígeno ( $\text{cm}^3/\text{m}^2$ )- 200-9000,  
 - elongación- 0,5- 35 %,  
 - resistencia a la tracción ( $\text{kg}/\text{cm}^2$ )- 1-200,  
 - absorción de PBS (0,2-30 g de PBS/24 h/100  $\text{cm}^2$  del vendaje);

- 45 Procedimiento de aplicación: aplicar delicadamente un vendaje biodegradable de dos capas sobre una herida limpiada previamente y presionar, y después de un tiempo predeterminado retirar la película 3 protectora. La capa 1 de polímero activa no se retira de la herida sino que se deja para biodegradación enzimática, la velocidad de la cual depende del tipo de herida, así como del espesor y la porosidad de la capa. Cuando sea necesario, se aplica sobre un vendaje degradado otro vendaje de este tipo, sin la retirada del previo.

### Ejemplo 8

- 50 Vendaje de hidrogel que comprende la capa 1 de polímero activa con moléculas suspendidas de derivados de quitina o sus mezclas

- Un vendaje poroso de este tipo se forma mediante una malla de gelatina tridimensional, comprende la capa 1 de polímero activa en forma de moléculas entremezcladas de derivados de quitina obtenidos con los anhídridos maleico, 60 %, y glutárico, 40 % (0,01-98 % p/p de una mezcla de derivados de quitina por volumen de gel). A la solución de gelatina acuosa preparada anteriormente con la adición de excipientes con propiedades bactericidas
- 55 (solución de gelatina al 5 % en agua, la temperatura de la homogeneización del sol es de 40 °C) se añadió una

mezcla al 5 % de derivados de quitina y se mezcló a 40 °C durante 2 h usando un agitador magnético de velocidad giratoria de 1200 revoluciones por minuto. A continuación, la gelatina con las partículas suspendidas de la mezcla de derivados de quitina se aplicó sobre una superficie no absorbente (en forma de cinta) de un ancho de 100 mm con una velocidad de 0,25-3 l/min por medio de una boquilla de un diámetro de 0,2-10 mm con una velocidad de transporte de 0,3-1,0 metros por minuto y se enfrió a una temperatura de 30 °C. A continuación, la capa de gel obtenida se conformó en la forma destinada dependiendo del tipo y destino del vendaje. Almacena una cantidad significativa de agua (5-85 %). Debido a las posibles propiedades hidrófilas asegura un humedecimiento y una hidratación intensas de una herida seca. Absorbe y une la exudación de la herida solo en una pequeña extensión. Se diseña para heridas que no exudan. La capa de gel se satura con excipientes como se describe en el ejemplo 1 tales como iones de Ag<sup>+</sup> en la cantidad de un 2,5 %, iones de K<sup>+</sup> en la cantidad de un 0,1 %, Ca<sup>2+</sup> en la cantidad de un 1,2 %. La capa de hidrogel también se saturó con un antibiótico: polimixina B (0,2 %).

Un vendaje de este tipo se recomienda para quemaduras de segundo grado, abrasiones y para cubrir las áreas de las que se recogen los injertos de piel.

La forma utilizable de un vendaje de hidrogel con moléculas suspendidas de derivados de quitina es un panel de hidrogel flexible de cualquier forma y de 3 a 6 mm de espesor. El vendaje de este tipo es una barrera eficaz para una herida frente al entorno externo, mientras que es permeable a oxígeno y medicinas (Figura 6).

Parámetros técnicos que caracterizan el vendaje de hidrogel con moléculas suspendidas de derivados de quitina, dependiendo del espesor del vendaje:

- permeabilidad al oxígeno (cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>)- 100-500,
- elongación- 0,5- 60 %,
- resistencia a la tracción (kg/cm<sup>2</sup>)- 1-100,
- absorción de PBS (0,2-20 g de PBS/24 h/100 cm<sup>2</sup> del vendaje);

Procedimiento de aplicación: a diferencia de los ejemplos previos (Ejemplos de 1 a 7), un vendaje de este tipo se debería retirar de una herida después del tiempo especificado (5-168 h, dependiendo de la etapa de curación de la herida) aunque, sin embargo, esta etapa es indolora para el paciente, dado que este tipo de vendaje no se adhiere excesivamente a la herida.

### **Ejemplo 9**

Vendaje de hidrogel que comprende la capa 1 de polímero activa con moléculas suspendidas de derivados de quitina o sus mezclas

Un vendaje no poroso formado mediante la malla de polietilenglicol tridimensional, comprende la capa 1 de polímero activa en forma de moléculas entremezcladas de derivados de quitina obtenidos con los anhídridos maleico, 60 %, y glutárico, 40 % (0,01-98 % p/p de una mezcla de derivados de quitina por volumen de gel). Al sol de polietilenglicol preparado anteriormente con la adición de excipientes con propiedades bactericidas se añadió una mezcla al 8 % de derivados de quitina y se mezcló a temperatura ambiente durante 2 h usando un agitador magnético de una velocidad giratoria de 1200 revoluciones por minuto. A continuación, el sol con las partículas suspendidas de la mezcla de derivados de quitina se aplicó sobre una superficie no absorbente (en forma de cinta) de un ancho de 100 mm con una velocidad de 0,25-3 l/min por medio de una boquilla de un diámetro de 2-10 mm con una velocidad de transporte de 0,3-1,0 metros por minuto y se sometió a formación de gel. A continuación, la capa de gel se formó para tener una forma que dependía del tipo y destino del vendaje. El vendaje en base a tal combinación de derivados de quitina y este tipo de hidrogel acumula una cantidad considerable de agua (5-70 %). Además, debido a las posibles propiedades hidrófilas asegura un humedecimiento y una hidratación intensas de una herida seca. Absorbe y une la exudación de la herida solo en una pequeña extensión. Se diseña para heridas que no exudan. La capa de hidrogel con la capa 1 de polímero activa aplicada sobre la misma, se saturó con los excipientes que se describen en el ejemplo 1. Contenían iones de Ag<sup>+</sup> en la cantidad de un 0,02 %, ácido cítrico en la cantidad de un 0,03 %, sales de bismuto en la cantidad de un 0,01 %. La capa de hidrogel también se saturó con un antibiótico: polimixina B (0,3 %) (Fig. 6).

Parámetros técnicos como en el ejemplo 8.

Procedimiento de aplicación como para el vendaje obtenido en el ejemplo 8.

### **Ejemplo 10**

Vendaje de hidrogel que comprende la capa 1 de polímero activa con moléculas de derivados de quitina o sus mezclas sobre la superficie del vendaje

Un vendaje de hidrogel cubierto sobre un lado con la capa 1 de polímero activa en forma de moléculas de derivados de quitina o sus mezclas. Un vendaje formado por malla 5 de hidrogel tridimensional en base a ácidos poliacrílicos, con la adición de excipientes con propiedades bactericidas, cubierto sobre el lado que está en contacto directo con una herida con una capa de una mezcla de derivados de quitina (0,01-1,5 mm) de espesor. La mezcla de derivados de quitina se obtuvo con los anhídridos hexanoico, 20 %, y heptanoico, 80 % (0,01-98 % p/p de una mezcla de derivados de quitina por volumen de gel). El sol preparado previamente en base a ácidos poliacrílicos se aplicó

sobre una superficie no absorbente (en forma de cinta) de un ancho de 100 mm con una velocidad de 0,25-3 l/min por medio de una boquilla de un diámetro de 2-10 mm con una velocidad de transporte constante de 0,2-1,0 metros por minuto, y a continuación el sol vertido se convirtió en polvo mediante una mezcla molida de polímeros de un tamaño de grano de 100-350  $\mu\text{m}$ . El sistema resultante se sometió a formación de gel (Figura 7) y a continuación se formó en su forma dependiendo del tipo y destino del vendaje.

Parámetros técnicos que caracterizan el vendaje de hidrogel con moléculas de la mezcla de los derivados de quitina sobre la superficie del vendaje, dependiendo del contenido en porcentaje de derivados de quitina y el espesor del vendaje:

- permeabilidad al oxígeno ( $\text{cm}^3/\text{m}^2$ )- 100-500,
- elongación- 0,5- 60 %,
- resistencia a la tracción ( $\text{kg}/\text{cm}^2$ )- 1-100,

Procedimiento de aplicación: a diferencia de los ejemplos previos (Ejemplos de 1 a 7), un vendaje de este tipo se debería retirar de una herida después del tiempo especificado (5-168 h, dependiendo de la etapa de curación de la herida) aunque, sin embargo, esta etapa es indolora para el paciente, dado que este tipo de vendaje no se adhiere excesivamente a una herida.

### **Ejemplo 11**

Vendaje de hidrogel que comprende la capa 1 de polímero activa con moléculas de derivados de quitina o sus mezclas sobre la superficie del vendaje

Un vendaje de hidrogel cubierto sobre un lado con la capa 1 de polímero activa en la forma de moléculas de derivados de quitina o sus mezclas. Un vendaje formado por la malla 5 de hidrogel tridimensional en base a malla de agar, cubierta en el lado que está en contacto directo con una herida con una capa 1 de polímero activa (0,01-1,5 mm) de espesor, de una mezcla de derivados de quitina obtenida con los anhídridos octanoico, 20 %, y heptanoico, 80 % (0,01-98 % p/p de una mezcla de derivados de quitina por volumen de gel) (Figura 7).

El procedimiento de preparación del vendaje es como en el ejemplo 10.  
Los parámetros técnicos son como en el ejemplo 10.  
Procedimiento de aplicación como para el vendaje obtenido en el ejemplo 10.

### **Ejemplo 12**

Vendaje de gel poroso que comprende la capa 1 de polímero activa en base a derivados de quitina

Un vendaje de gel que comprende la capa 1 de polímero activa formada con una mezcla de derivados de quitina obtenida con los anhídridos acético, 30 %, y propanoico, 70 %, y en el sistema LiCl (5-6 %)/DMAc. Los poros se obtienen químicamente con un procedimiento químico (usando la reacción de  $\text{CaCO}_3$  al 2 % con HCl 1 N, dando como resultado la formación de  $\text{CO}_2$  a 28 °C). Se obtienen unos poros del tamaño de 100-1000  $\mu\text{m}$ . Ambos, el tamaño de los poros y la porosidad (5-85 %) están directamente relacionados con el tamaño de los cristales de carbonato de calcio (el tamaño de grano deseado se obtiene usando tamices apropiados de la porosidad seleccionada 20-1000  $\mu\text{m}$ ) y su concentración (0,1-80 %).

Procedimiento de preparación de la capa 1 de gel de polímero activa: a la solución preparada anteriormente de LiCl (5-6 %)/DMAc se añadió una mezcla al 2 % de derivados de quitina (la composición de la mezcla se ha descrito anteriormente). A continuación, la solución se mezcló usando un agitador magnético de una velocidad de 1500 revoluciones por minuto a 8 °C durante 24 h. A la solución preparada se añadió carbonato de calcio al 2 % y se mezcló a temperatura reducida usando los mismos parámetros de revoluciones durante otras 3 h. A continuación, la solución se vertió sobre una superficie no absorbente (en forma de cinta) de un ancho de 100 mm con una velocidad de 0,25-3 l/min por medio de una boquilla de un diámetro de 2-10 mm con una velocidad de transporte de 0,2-1,0 metros por minuto. A continuación, se dejó que el disolvente de la solución se evaporara durante 48 h. Los poros se obtuvieron mediante el lavado múltiple con HCl 1 N a 28 °C. Los residuos traza de cloruro de litio y el disolvente se retiraron mediante extracciones múltiples con agua. La última etapa fue el secado de la capa 1 de gel de polímero porosa activa resultante, posiblemente a temperatura reducida de -40 °C (Figura 8).

Parámetros técnicos que caracterizan el vendaje de gel poroso que comprende la capa 1 de polímero activa dependiendo del contenido en porcentaje de derivados de quitina y el espesor del vendaje:

- permeabilidad al oxígeno ( $\text{cm}^3/\text{m}^2$ )- 100-8000,
- elongación- 0,5- 40 %,
- resistencia a la tracción ( $\text{kg}/\text{cm}^2$ )- 1-200,
- absorción de PBS (0,2-10 g de PBS/24 h/100  $\text{cm}^2$  del vendaje);

Procedimiento de aplicación: a diferencia de los ejemplos previos (Ejemplos de 1 a 7), un vendaje de este tipo se debería retirar de una herida después del tiempo especificado (5-168 h, dependiendo de la etapa de curación de la

herida) aunque, sin embargo, esta etapa es indolora para el paciente, dado que este tipo de vendaje no se adhiere excesivamente a una herida.

### Ejemplo 13

#### Vendaje de gel poroso que comprende la capa 1 de polímero activa en base a derivados de quitina

- 5 Un vendaje de gel que comprende la capa 1 de polímero activa en base a una mezcla de derivados de quitina obtenida con los anhídridos acético, 30 %, y propanoico, 70 %, y en el sistema LiCl (5 %)/DMAc. Los poros se obtienen químicamente con un procedimiento químico (usando reacción de CaCO<sub>3</sub> al 3,5 % con HCl 1 N, dando como resultado la formación de CO<sub>2</sub> a 28 °C. Se obtuvieron unos poros de un tamaño de 100-1000 µm. Ambos, el tamaño de los poros y la porosidad (5-85 %) están directamente relacionados con el tamaño de los cristales de carbonato de calcio (el tamaño de grano deseado se obtiene usando tamices apropiados de la porosidad seleccionada 20-1000 µm) y su concentración (0,1-80 %).

15 Procedimiento de preparación del vendaje anterior: a la solución preparada anteriormente de LiCl (5 %)/DMAc se añadió una mezcla al 4 % de derivados de quitina (la composición de la mezcla se ha descrito anteriormente). A continuación, la solución se mezcló usando un agitador magnético de una velocidad de 1500 revoluciones por minuto a 8 °C durante 24 h. A la solución preparada se añadió carbonato de calcio al 3,5 % y se mezcló a temperatura reducida usando los mismos parámetros de revoluciones durante otras 3 h. A continuación, la solución se vertió sobre una superficie no absorbente de un ancho de 100 mm por medio de una boquilla de un diámetro de 2-10 mm con una velocidad de transporte de 0,2-1,0 metros por minuto. A continuación, se dejó que el disolvente de la solución se evaporara durante 48 h. Los poros se obtuvieron mediante el lavado múltiple con HCl 1 N a 28 °C. Los residuos traza de cloruro de litio y del disolvente se retiraron mediante extracciones múltiples con agua. La última etapa de secado dio como resultado la capa 1 de porosa de polímero activa, posiblemente a temperatura reducida de -40 °C (Figura 8).

Parámetros técnicos como en el ejemplo 12.

Procedimiento de aplicación como para el vendaje obtenido en el ejemplo 12.

### 25 Ejemplo 14

#### Vendaje de gel poroso que comprende la capa 1 de polímero activa en base a derivados de quitina

- 30 Un vendaje de gel que comprende la capa 1 de polímero activa en base a una mezcla de derivados de quitina obtenida con los anhídridos acético, 30 %, y propanoico, 70 %, y en el sistema LiCl (6 %)/DMAc. La porosidad se obtiene con un procedimiento de lixiviación, en el que se usa cloruro sódico como sustancia porogénica. En el molde (el tamaño del molde depende de la forma final del vendaje) se coloca de una forma uniforme NaCl (el peso de polímero/peso de sustancia porogénica es de 1/5 a 1/40), con cristales de tamaños (100-800 µm), y a continuación se aplica de una forma delicada la solución de una mezcla de derivados de quitina disuelta en un sistema LiCl/DMAc preparada anteriormente; en la que la concentración de la mezcla de derivados de quitina en el sistema de disolvente es 0,03 g/ml. La evaporación del disolvente se produce a 30 °C durante 48 h. El disolvente y la sustancia porogénica se retiran a través de extracción con agua y aclarado repetido con agua desionizada (hasta 24 h). A continuación se seca la capa 1 de polímero activa posiblemente a una temperatura reducida (-40 °C). El tamaño de los poros puede variar de 50 a 500 µm. Como resultado del procedimiento, se obtiene la capa 1 de polímero activa porosa de una estructura tridimensional y una porosidad de un 5 a un 99 % sobre una superficie del vendaje (Figura 8).

40 Parámetros técnicos como en el ejemplo 12.

Procedimiento de aplicación como para el vendaje obtenido en el ejemplo 12.

### Ejemplo 15

#### Vendaje de gel poroso que comprende la capa 1 de polímero activa en base a derivados de quitina

- 45 Un vendaje de gel que comprende la capa 1 de polímero activa en base a una mezcla de derivados de quitina obtenida con los anhídridos acético, 30 %, y propanoico, 70 %, y en el sistema LiCl (6 %)/DMAc. Los poros se obtienen físicamente por aireación (Figura 8).

Parámetros técnicos como en el ejemplo 12.

Procedimiento de aplicación como para el vendaje obtenido en el ejemplo 12.

### Ejemplo 16

- 50 Vendaje de heridas de capa individual, que comprende la capa 1 de polímero activa, completamente biodegradable preparado con el procedimiento de lixiviación, enriquecido con células (fibroblastos 7 y/o queratinocitos 6)

La capa 1 de polímero activa se forma de acuerdo con el ejemplo 4. Después de la esterilización de la capa 1 de polímero activa que forma el vendaje con radiación ionizante, los vendajes se sumergen en una solución que contiene un medio de cultivo para fibroblastos 7 y/o queratinocitos 6 humanos, figura 9, junto con las células. La

medida se realizó mediante un contador automático de células que muestran la capacidad de unión de un 80 % colocada en las células de polímero en el intervalo de 100.000 a 500.000 células aplicadas. El vendaje preparado de este modo, protegido de forma que se prevenga la contaminación con contaminantes del entorno externo, y mantenido a la temperatura de 4 °C, se puede transportar para que se aplique a un paciente. Esta combinación  
5 permite una estimulación significativa de las divisiones celulares en un paciente debido al efecto del polímero, así como de los factores quimiotácticos de las células trasplantadas. Los vendajes que contienen el mayor número de células trasplantadas forman un componente del tejido de reconstrucción del paciente, además de ser responsables de la estimulación de sus células.

### Ejemplo 17

10 Vendaje de heridas de capa individual que comprende la capa 1 de polímero activa, completamente biodegradable preparado con el procedimiento de lixiviación, y un procedimiento para aplicar las células

La capa 1 de polímero activa se forma de acuerdo con el ejemplo 4. Después de la esterilización de la capa 1 de polímero activa que forma el vendaje con una ráfaga de vapor sobrecalentado o radiación ionizante, los vendajes se sumergen en una solución que contiene un medio de crecimiento para fibroblastos 7 humanos. El vendaje preparado  
15 de este modo, protegido de forma que se prevenga la contaminación con contaminantes del entorno externo se puede transportar para que se aplique un paciente. Inmediatamente antes de la aplicación del vendaje a un área afectada, el médico que realiza los procedimientos añade células de un recipiente preparado sobre la superficie del vendaje, aplicado previamente a la herida del vendaje. Esta combinación permite una estimulación significativa de las divisiones celulares en un paciente debido al efecto del polímero, así como de los factores quimiotácticos de las  
20 células trasplantadas. Los vendajes que contienen el mayor número de células trasplantadas forman un componente del tejido de reconstrucción del paciente, además de ser responsables de la estimulación de sus células.

### Resultados de soluciones comparativas usadas en la actualidad

Se realizó el análisis comparativo para algunas realizaciones a modo de ejemplo de acuerdo con la invención, que mostraron mejores propiedades que los vendajes preparados en base a tejido no tejido. La comparación se realizó  
25 en condiciones *in vitro* por medio de ensayos aceptados generalmente, entre otros para la evaluación del proceso de curación.

#### 1. Ensayo de renovación de la piel

En la placa de una sección circular se aplicaron dos moldes con forma de media luna y se dejó tal forma seleccionada como después su colocación, entre ellas la zona de espaciado y anchura de 7 mm. Sobre la capa de  
30 polímero limitada con los moldes descritos se aplicaron 250.000 células en un volumen de 0,5 ml. Después de la sedimentación de las células y su unión con el sustrato, se retiraron los moldes. El tiempo de renovación de la piel sobre la superficie vacía entre las áreas ocupadas se presenta en la tabla. El tiempo más rápido de renovación de la piel se evidencia con el mayor potencial medicinal.

#### 2. Estimación de la viabilidad después de cultivo sobre el sustrato seleccionado/análisis funcional

35 Las células (500.000 en cada placa de cultivo) sobre el sustrato construido a partir de los polímeros sometidos a ensayo se cultivaron durante un periodo de 2 semanas. En este tiempo, se realizaron los reemplazos necesarios de medio de cultivo cada 2-3 días, y también se controló por microscopio el estado de crecimiento. Después de este periodo las células se trataron con tripsina-EDTA (PAA) con el fin de su liberación enzimática del sustrato (polímero), con el que estuvieron unidas durante el crecimiento. A continuación, las células se aplicaron a placas de cultivo  
40 idénticas y se evaluó la densidad de células sedimentadas después de 12 horas. Este ensayo permite la evaluación funcional del estado de las células. Las células cultivadas con los derivados, en el apropiado para sus condiciones de cultivo, tienen una capacidad de adhesión y una acción terapéutica muy altas. La mayor densidad de células es evidencia del mantenimiento de las condiciones más adecuadas para crecimiento y función de las células.

#### 3. Evaluación de la viabilidad después de cultivo sobre el sustrato seleccionado/análisis por inmunofluorescencia

45 Las células (500.000 en cada placa de cultivo) sobre el sustrato construido a partir de los polímeros seleccionados se cultivaron durante un periodo de 1 semana. En este tiempo, se realizaron los reemplazos necesarios de medio de cultivo y también se controló por microscopio el estado de crecimiento. Después de este periodo las células se trataron con tripsina-EDTA (PAA) con el fin de su liberación enzimática del sustrato (polímero), con el que estuvieron unidas durante el crecimiento. A continuación, las células suspendidas en tampón PBS se aplicaron a un  
50 portaobjetos de microscopio y se mezclaron con diacetato de fluoresceína (tinción de células vivas) y bromuro de etidio (tinción de células muertas). Estos colorantes se usaron en los ensayos de viabilidad en base a una tinción doble, que permite la visualización simultánea de células vivas y muertas. Después de 3 minutos, en el microscopio de fluorescencia (en luz de azul-violeta) se contaron las células luminosas en el verde (vivas) y luminosas en el rojo (muertas). Un mayor número de células vivas indica mejores propiedades de crecimiento de un polímero dado y su  
55 realización, que se traduce en un mayor potencial terapéutico.

#### 4. Ensayo de adhesión de las células a la superficie de un polímero

Las células (500.000 en cada placa de cultivo) sobre el sustrato construido a partir de los polímeros seleccionados se cultivaron durante un periodo de 3 días. En este tiempo, se realizaron los reemplazos necesarios de medio de cultivo y también se controló por microscopio el estado de crecimiento. A continuación, se retiraron por lavado las células muertas de cada placa mediante reemplazo delicado del medio de cultivo de un modo tal que solo quedaron células vivas sobre la superficie del polímero. De nuevo, se aplicaron 0,5 ml del medio de cultivo a cada una de las placas, realizando esto con la máxima fuerza de lanzamiento de fluido desde la pipeta automática. Se recogió el medio de cultivo por encima del polímero con células separadas. Se realizó la medición de la cantidad de células en el dispositivo digital para el recuento celular ADAM *Mammalian Cell Counter* (ADAM-MC). El número de células en la medición es inversamente proporcional a la fuerza de unión del polímero. Cuanto mayor es la fuerza, mayor es el potencial terapéutico del polímero.

**Tabla. Resultados de los análisis comparativos realizados**

	Ensayo de renovación de piel	Evaluación de la viabilidad después de cultivo sobre el sustrato seleccionado/análisis funcional	Evaluación de la viabilidad después de cultivo sobre el sustrato seleccionado/análisis por inmunofluorescencia	Ensayo de adhesión de células a la superficie del polímero
Tejido no tejido con un 100 % de contenido de DBC (34,8 g/m <sup>2</sup> )	++	+	++	++
Vendaje de capa individual completamente biodegradable preparado mediante procedimiento de lixiviación, contenido de DBC de un 100 % (40,5 g/m <sup>2</sup> )	++	+++	+++	+++++
Elemento activo de los ejemplos 1-5 Vendaje de capa individual completamente biodegradable	++++	+++++	+++++	++
Ejemplos 6-7 Vendaje de capa individual completamente biodegradable preparado mediante procedimiento de lixiviación	++	+++	++++	+++++
Ejemplos 8-9 Vendaje de hidrogel con partículas suspendidas de derivados de quitina o sus mezclas	+++	++++	++++	++
Ejemplos 10-11 Vendaje de hidrogel con las partículas de derivados de quitina o sus mezclas sobre la superficie del vendaje	+++	++++	++++	++
Ejemplos 12-15 Vendaje de gel de una estructura porosa en base a derivados de quitina	+++	+++	++++	+++++
Ejemplo 16 Vendaje de capa individual completamente biodegradable preparado mediante procedimiento de lixiviación enriquecido con células (fibroblastos)	+++++	+++++	+++++	+++++

(continuación)

	Ensayo de renovación de piel	Evaluación de la viabilidad después de cultivo sobre el sustrato seleccionado/análisis funcional	Evaluación de la viabilidad después de cultivo sobre el sustrato seleccionado/análisis por inmunofluorescencia	Ensayo de adhesión de células a la superficie del polímero
Ejemplo 17 Vendaje de capa individual completamente biodegradable preparado mediante procedimiento de lixiviación con el procedimiento de aplicación de células	+++++	+++++	+++++	+++++
+ la menor: velocidad de renovación de la piel, viabilidad, fuerza de unión al polímero ++ +++ ++++ +++++ la mayor: velocidad de renovación de la piel, viabilidad, fuerza de unión al polímero				

- 5 Como se presentan en la tabla, cada uno de los vendajes sometidos a ensayo de acuerdo con la invención muestra mejor funcionamiento biológico con respecto al vendaje de referencia que es el que comprende una capa activa en base a fibras de dibutirilquitina, en la mayoría de los ensayos realizados *in vitro* (ensayo de renovación de la piel, evaluación de la viabilidad después de cultivo sobre el sustrato seleccionado/análisis funcional, evaluación de la viabilidad después de cultivo sobre el sustrato seleccionado/análisis por inmunofluorescencia). Únicamente, el vendaje de hidrogel con las partículas de derivados de quitina o sus mezclas sobre la superficie del vendaje, el vendaje de hidrogel con partículas suspendidas de derivados de quitina o sus mezclas y el vendaje de capa individual completamente biodegradable, muestran un funcionamiento biológico muy cercano en el ensayo de adhesión de células a la superficie del polímero y el vendaje de capa individual completamente biodegradable preparado mediante un procedimiento de lixiviación que contiene un 100 % de DBC (40,5 g/m<sup>2</sup>) y el vendaje de capa individual completamente biodegradable preparado mediante un procedimiento de lixiviación en el ensayo de renovación de piel. Además, se debería subrayar el efecto terapéutico inesperado del vendaje de capa individual completamente biodegradable, preparado mediante un procedimiento de lixiviación, enriquecido con células (fibroblastos) y del vendaje de capa individual completamente biodegradable, preparado mediante un procedimiento de lixiviación junto con el procedimiento de aplicación de células, que mostraron las mayores velocidades de renovación de la piel, viabilidad, así como la mayor fuerza de enlace al polímero en todos los ensayos realizados.
- 10 Los estudios realizados permitieron tal modificación del polímero de capa activa de los vendajes, para crear el conjunto de soluciones únicas y de aplicación de las diferentes heridas. Además, se realizaron ensayos desconocidos y no descritos hasta la fecha en el mundo con respecto a biopolímeros con células. Esto dio como resultado la obtención del vendaje que excedió repetidamente el vendaje no tejido, y se describió el funcionamiento de células y polímeros después del efecto terapéutico sinérgico obtenido de conexión.
- 15 Se realizó del ensayo de estructura de la capa 1 de polímero activa de acuerdo con la invención en comparación con material de vendaje en base a tejido no tejido.
- 20 Las fotografías presentadas en la figura 10 - se obtuvieron con el microscopio de fluorescencia NIKON Eclipse Ci-S y el microscopio óptico inverso Olympus CKX41.
- 25 La fotografía presentada en la figura 10 del microscopio de fluorescencia (ampliación 10 x 10) ilustra un fragmento de un vendaje tejido (fibroso) en base a derivado de quitina. Se aplicaron las células adherentes correctas (con un diámetro medio de 25 µm) sobre el esqueleto del polímero, y sus núcleos se tiñeron con un colorante DAPI. La fotografía presentada en la figura 11 de microscopio óptico (ampliación 4 x 10) ilustra el fragmento de un vendaje tejido (fibroso) en base a derivados de quitina.
- 30 La fotografía presentada en la figura 12 de microscopio de fluorescencia (ampliación 10 x 10) de un fragmento de vendaje muestra la pieza del esqueleto de la capa de polímero activa, en base tridimensional a derivado de quitina preparado mediante un procedimiento de lixiviación. Se aplicaron las células adherentes correctas (con un diámetro medio de 25 µm) sobre el esqueleto del polímero, y sus núcleos se tiñeron con un colorante DAPI. A partir de la fotografía anterior se observa que las células se disponen de una forma diferente, que indica la estructura espacial del vendaje sometido a ensayo. La fotografía presentada en la figura 13 del microscopio óptico (ampliación 4 x 10) de un fragmento de vendaje preparado mediante un procedimiento de lixiviación en base a derivado de quitina.
- 35 La fotografía presentada en la figura 14 de microscopio de fluorescencia (ampliación 20 x 10) de un fragmento de
- 40

5 vendaje muestra la pieza de esqueleto tridimensional de polímero en base a derivado de quitina preparado mediante un procedimiento de lixiviación. La fotografía del esqueleto tridimensional del vendaje con seis poros, cuyo tamaño es de 2 a 4 veces mayor que el espesor de la pared del esqueleto. Se aplicaron las células adherentes correctas con un diámetro medio de 25  $\mu\text{m}$  sobre el esqueleto del polímero, y sus núcleos se tiñeron con un colorante DAPI. La figura anterior da como resultado que las células se disponen a diferentes alturas, lo que indica la estructura espacial del vendaje sometido a ensayo. Las células revistieron las paredes del esqueleto de polímero, permitiendo la visualización de su estructura tridimensional.

## REIVINDICACIONES

1. Una capa (1) de polímero activa, especialmente para un vendaje de heridas, **caracterizada porque** tiene una estructura no fibrosa porosa obtenida mediante un procedimiento de vertido sobre la superficie no absorbente disuelta en el disolvente de al menos uno de los derivados de quitina obtenidos en la reacción de esterificación de quitina en presencia de anhídridos alifáticos de una cadena de una longitud de C2 a C8 lineal saturada, y anhídridos preferentemente, tales como anhídrido acético-propiónico, anhídrido butanoico-propiónico, anhídridos insaturados ramificados preferentemente, tales como anhídrido metacrílico, anhídrido 2-butenoico y anhídridos cíclicos, preferentemente, tales como anhídrido glutárico, anhídrido maleico, anhídrido succínico, anhídrido ftálico e hidroxiaácidos, preferentemente ácido láctico, ácido glicólico.
2. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con la reivindicación 1 es biodegradable.
3. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada porque** los derivados de quitina disustituidos contienen sustituyentes de las mismas longitudes de cadena.
4. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada porque** los derivados de quitina disustituidos contienen sustituyentes de diferentes longitudes de cadena.
5. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, **caracterizada porque** está realizada de un derivado de quitina, con una proporción de un 0,1 a un 100 %, o una mezcla de al menos dos derivados de quitina.
6. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada porque** tiene poros de 0,1 mm a 4,0 mm de diámetro, lineales o en espiral, dependiendo del tipo de herida, o poros de un tamaño diverso, en un vendaje individual varía la proporción en porcentaje de poros de un 1-90 %.
7. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, **caracterizada porque** se obtiene por lixiviación.
8. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con la reivindicación 7, **caracterizada porque** en el procedimiento de lixiviación la sustancia porogénica soluble en agua se extiende uniformemente,  $\left( \frac{\text{peso de polímero}}{\text{peso de agente porogénico}} = \text{de } \frac{1}{5} \text{ a } \frac{1}{40} \right)$ , con cristales de 100 a 800  $\mu\text{m}$  en un molde, y a continuación se aplica una solución de polímero seleccionada entre un grupo de derivados de quitina o una mezcla de derivados de quitina disueltos en un disolvente orgánico, y a continuación el disolvente se evapora a 24 °C - 80 °C, durante 3-20 h, mientras se realiza el procedimiento de retirada por lavado de la sustancia porogénica y los restos de disolvente con agua, durante 1-24 h.
9. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con la reivindicación 8, **caracterizada porque** se usa cloruro sódico (NaCl) como la sustancia porogénica.
10. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con la reivindicación 8, **caracterizada porque** se usan alcoholes alquílicos como las cetonas de disolvente orgánico.
11. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con la reivindicación 8 y 10, **caracterizada porque** una concentración de derivado de quitina/mezcla de derivados de quitina en disolvente es 0,01-0,4 g/ml, preferentemente 0,001-0,15 g/ml.
12. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, **caracterizada porque** se obtiene por disolución de (0,1-99 %) derivado de quitina, o su mezcla en la solución de cloruro de litio (LiCl) (5-6 %) -N,N-dimetilacetamida (DMAc), adición de carbonato de calcio y mezcla a temperatura reducida, y a continuación vertido de tal mezcla preparada en el molde, evaporación del disolvente y lavado con la solución de ácido clorhídrico, agua y secado.
13. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con la reivindicación 12, **caracterizada porque** se usa carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>) en la cantidad de un 0,1-5 %, preferentemente un 1-3,5 %, en la que se obtienen los poros con cursos diferentes y tamaños de 100-1000  $\mu\text{m}$ .
14. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones previas, **caracterizada porque** está saturada con excipientes.
15. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con la reivindicación 14, **caracterizada porque** se usan como excipientes iones de plata Ag<sup>+</sup> (0,01-5 %), y/o iones de potasio K<sup>+</sup> ((0,01-2 %), y/o iones de calcio Ca<sup>2+</sup> (0,01-2 %), y/o iones de Zn<sup>2+</sup> (0,01-1,5 %), y/o ácido cítrico (0,001-5 %), y/o sales de bismuto (0,001-5 %).
16. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones previas, **caracterizada porque** está saturada con sustancias antisépticas.

17. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con la reivindicación 16, **caracterizada porque** se usan como sustancias antisépticas: neomicina, polimixina B, bacitracina, vancomicina, gentamicina, cefalosporina y otros antibióticos de amplio espectro.
- 5 18. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones previas, **caracterizada porque** está saturada con metronidazol.
19. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, **caracterizada porque** se extiende sobre el hidrogel.
20. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con la reivindicación 19, **caracterizada porque** se usan como hidrogel (5) gelatina, agar, polietilenglicol, ácido poliacrílico.
- 10 21. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con la reivindicación 19 y/o 20, **caracterizada porque** se coloca en el interior de la estructura de hidrogel (5) o sobre la superficie del hidrogel (5) en la cantidad de un 0,01-98 % en peso por volumen de hidrogel (5), de un espesor de 0,01-1,5 mm.
22. La capa (1) de polímero activa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones previas, **caracterizada porque** comprende fibroblastos (7) y/o queratinocitos (6).
- 15 23. Uso de la capa (1) de polímero activa de acuerdo con la reivindicación 1 para producir un vendaje que se puede aplicar sobre áreas afectadas, incluyendo ulceraciones superficiales planas limpias **caracterizado por** granulaciones modificables, la arteria femoral patente con insuficiencia leve y moderada y ninguna exudación intensa.
24. Uso de acuerdo con la reivindicación 23 para producir un vendaje para su uso en el tratamiento de seres humanos y en medicina veterinaria.

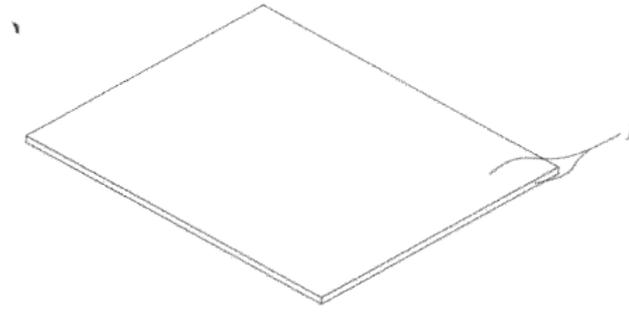


Fig. 1

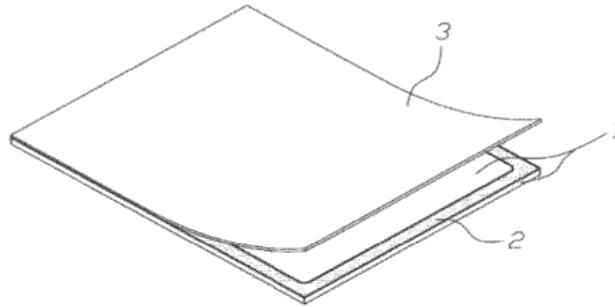


Fig. 2

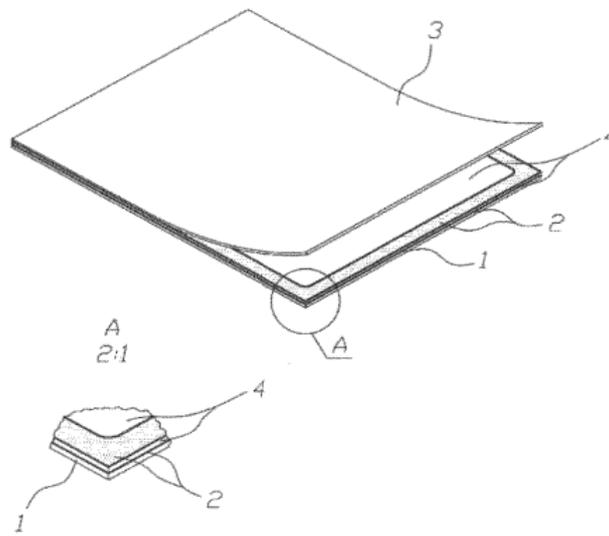


Fig. 3

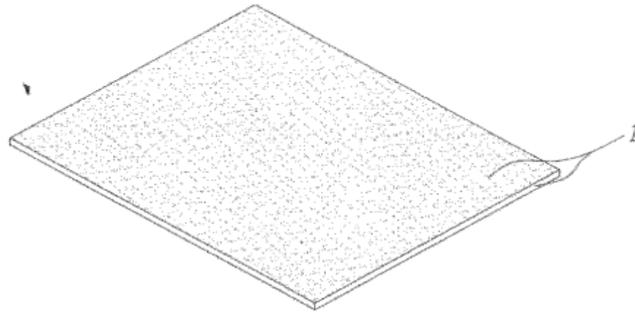


Fig. 4

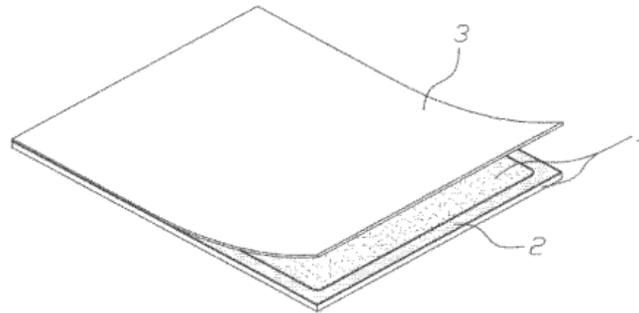


Fig. 5

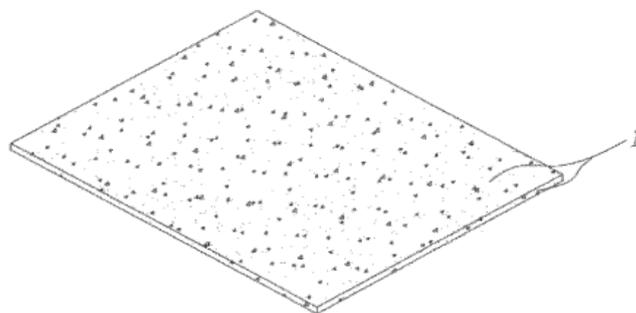


Fig. 6

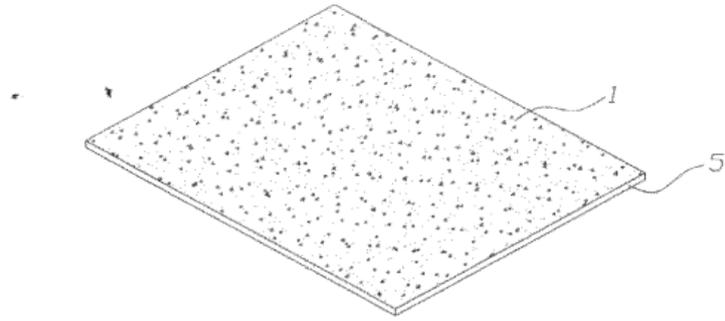


Fig. 7

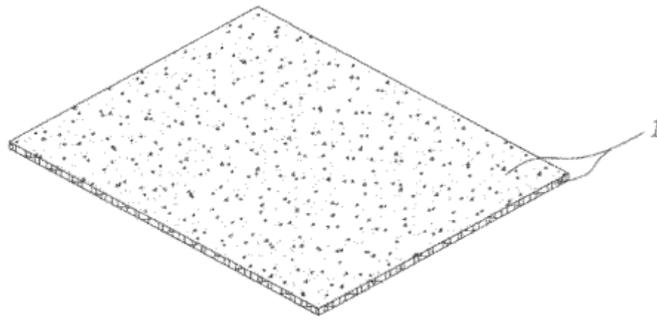


Fig. 8

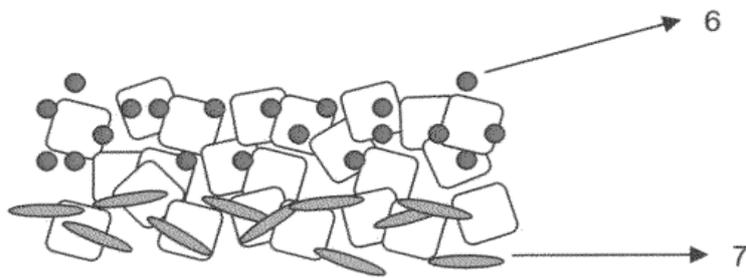


Fig. 9

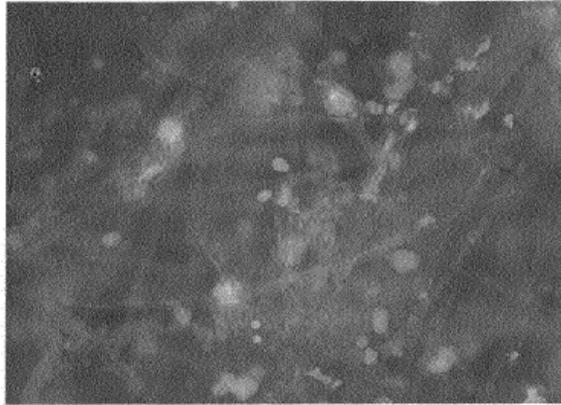


Fig. 10

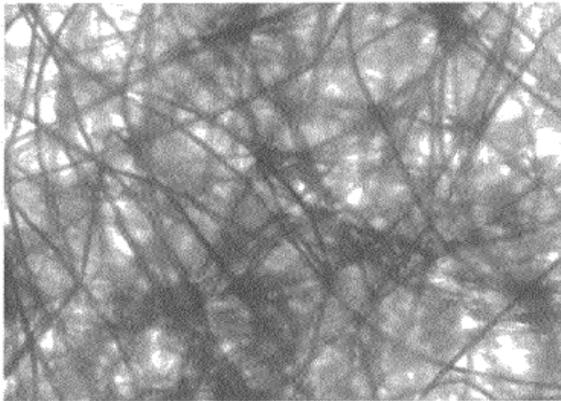


Fig. 11

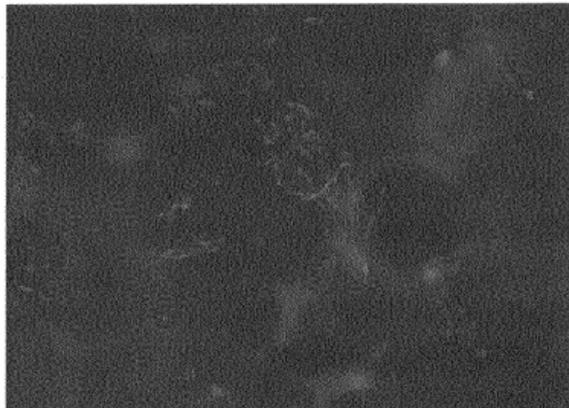


Fig. 12

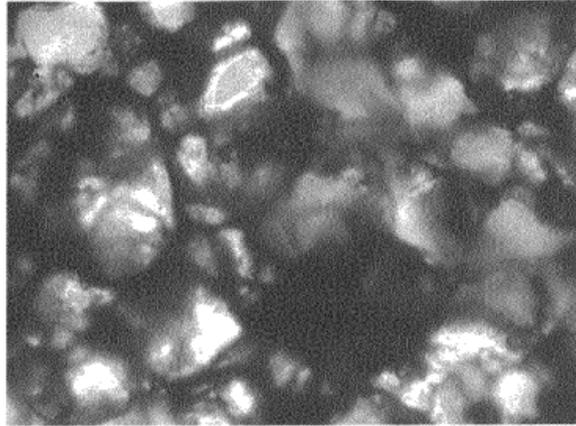


Fig. 13

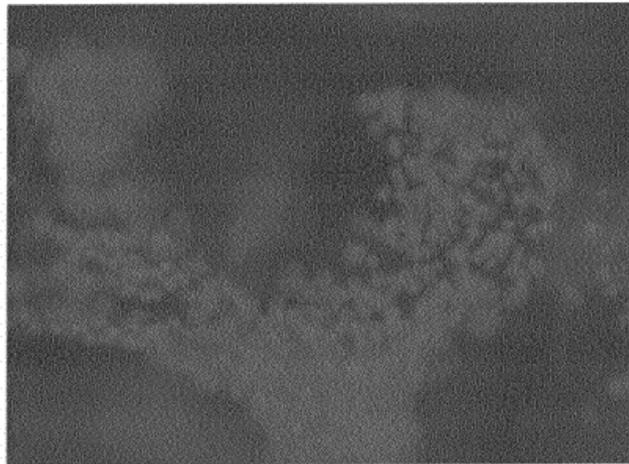


Fig. 14