

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 645 993**

51 Int. Cl.:

A61K 9/70 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 38/39 (2006.01)
A61L 15/28 (2006.01)
A61L 15/32 (2006.01)
A61L 15/44 (2006.01)
A61L 15/22 (2006.01)
A61L 26/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.07.2013 PCT/IB2013/055807**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **23.01.2014 WO14013413**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.07.2013 E 13770508 (3)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.08.2017 EP 2874614**

54 Título: **Película hidrosoluble que posee actividad curativa**

30 Prioridad:

18.07.2012 IT MI20121248

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.12.2017

73 Titular/es:

**MEDIOLANUM FARMACEUTICI S.P.A. (100.0%)
Via S.G. Cottolengo, 15
20143 Milano, IT**

72 Inventor/es:

**DEL BONO, ALESSANDRO;
DEL BONO, CRISTINA y
FERRARI, GIANNI**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 645 993 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

Película hidrosoluble que posee actividad curativa

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a una película hidrosoluble y el dispositivo para uso médico que contiene dicha película hidrosoluble con actividad curativa, en particular adecuada como adyuvante en la terapia farmacológica sistémica de llagas o heridas.

Estado de la técnica

Los proteoglicanos y glicosaminoglicanos son componentes de la matriz extracelular y de la superficie celular.

10 En particular, los proteoglicanos consisten en una nucleoproteína y una o más cadenas de glicosaminoglicanos. Los glicosaminoglicanos (GAGs) son polisacáridos lineales con dos unidades de disacárido repetitivas que consisten respectivamente, en dos familias de aminoazúcares: sulfato de glucosamina (GlcNS, GlcNS,6S, GlcN,6S) acetato de glucosamina (GlcNAc, GlcNAc,6S) y acetato de galactosamina (GalNAc, GalNAc,4S; GalNAc,6S; GalNAc,4S,6S) y de un ácido urónico seleccionado de ácido glucurónico (GlcA) y ácido idurónico (IdoA, IdoA2S).

15 Prácticamente todas las células de mamíferos producen proteoglicanos y/o los excretan en la matriz extracelular, los insertan en la membrana plasmática o los almacenan en los gránulos secretores.

Después de una herida o lesión de la piel, se activan muchos mecanismos de estimulación (inducción) de proteoglicanos de acuerdo con un comportamiento celular específico. Por ejemplo, el sindecán (proteoglicano de dermatán sulfato) aumenta varias veces la concentración del mismo tanto en las células endoteliales como en los queratinocitos hiperproliferantes (Elnius K. et al., J. Cell. Biol. 1991; 114: 585-595. Gallo et al. J. Invest. Dermatol. 1996; 107: 676-683).

25 El análisis de proteoglicanos solubles, extraídos del exudado de heridas y/o lesiones, muestra que el sulfato de galactosaminoglicano que está presente en mayores cantidades es dermatán sulfato (DS). El dermatán sulfato es un fuerte promotor de factores de crecimiento de fibroblastos (FGF-2) (Penc et al., J. Biol. Chem. 1998; 273(43): 28116-28121). Las células endoteliales humanas en cultivo, expuestas a soluciones de dermatán sulfato, respondieron con la producción de NF-KB y aumentaron la adhesión celular de tipo 1 (ICAM-1) de leucocitos endoteliales, mientras esta proteína contribuyó a la acción reparadora de las lesiones (Penc SF et al., J. Clin. Invest. 1999; 103(9): 1329-1335).

30 Los DSPGs, es decir, proteoglicanos de dermatán sulfato, como decorina y biglicano, son fuertes promotores de factores de crecimiento FGF2 y se han asociado con la organización y el crecimiento de la cicatrización de heridas (Garg et al. "Chemistry of Scarring" en "Scarless Wound Repair" Marcel Dekker New York 2000, páginas 1-2.).

35 Las heridas y llagas crónicas contienen una alta concentración de proteasas y menores concentraciones de factores de crecimiento, alta presencia de células secretoras con baja actividad mitogénica y altas concentraciones de citoquinas inflamatorias. Las proteasas originan la degradación de los factores de crecimiento endógenos, de la fibronectina y laminina, que previenen o ralentizan la regresión espontánea de las lesiones (Traversa B. et al. Primary Intention 2001 9(4): 161-167).

El siguiente estudio fue el de comprobar si los glicosaminoglicanos exógenos, ya no así en forma de proteoglicanos, podrían realizar un papel decisivo en el tratamiento de este tipo de llagas y heridas crónicas.

40 Se demostró, como resultado de experimentos llevados a cabo *in vitro* en matrices de colágeno diseñadas para estimular ingeniería tisular, que los fibroblastos y queratinocitos mostraron una mayor capacidad de proliferación sobre matrices de heparina/colágeno o de dermatán sulfato/colágeno en comparación con la matriz de colágeno sola. Este efecto fue cada vez más marcado cuanto mayor era el peso molecular de los GAGs. La presencia de dermatán sulfato en las membranas de colágeno promovió la atracción, el crecimiento y la proliferación de fibroblastos y queratinocitos, mientras la presencia de heparina no fraccionada promovió principalmente la proliferación de fibroblastos (Ruozzi B. et al., Int J. Pharmaceutics 2009; 738(1-2): 108-115). Sin embargo, para todos los dispositivos de uso tópico descritos en el estado de la técnica parece esencial asociar los GAGs antes mencionados con el colágeno, para obtener resultados apreciables.

La US 4837024 describe polvos de colágeno y al menos un glicosaminoglicano a aplicar sobre las heridas.

50 Este documento de la técnica anterior describe la capacidad de diversos GAGs para atraer fibroblastos y promover la neovascularización. De hecho, ambas actividades son parámetros importantes para evaluar la capacidad de los GAGs de promover la curación de heridas. La capacidad de los GAGs en ambas actividades no puede funcionar sin la presencia de colágeno.

También para la US 5.929.050 que describe una composición para tratar heridas que consiste en solución acuosa que contiene condroitín sulfato y un vendaje estéril, parece importante la presencia de colágeno para acelerar la curación ya que este último proporciona todas las sustancias nutritivas para el crecimiento celular.

5 Kirker et al en "Glycosamin hydrogel films as biointeractive dressings for wound healing"-Biomaterials Elsevier Science Publisher BV Barking GB, Vol. 23 N° 17 1 de Septiembre 2002 páginas 3661-3671 describen una película en la que un glicosaminoglicano como ácido hialurónico o condroitín sulfato son una parte integral de la estructura de la película ya que forman enlaces químicos covalentes con el polietilenglicol por medio de los grupos carboxilo del glicosaminoglicano que primero se hacen reaccionar con dihidrazida de ácido adípico antes de reaccionar con polietilenglicol.

10 Esta película no tiene suficientes propiedades de endurecimiento y fuerza ya que se aplica en un vendaje para proteger la herida de infecciones bacterianas. Arosio et al (EUROPEAN JOURNAL OF VASCULAR AND ENDOVASCULAR SURGERY: THE OFFICIAL JOURNAL OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR VASCULAR SURGERY OCT 2001, vol. 22, n° 4, Octubre 2001 (2001-10), páginas 365-372, XP002693997, ISSN: 1078-5884) describe el Mesoglican en el tratamiento de úlceras venosas crónicas.

15 Por último, citamos WO03034993 que describe algunas composiciones para promover el crecimiento celular para proteger los tejidos y promover la curación de heridas sobre la base de:

- a) colágeno hidrolizado, como componente principal,
- b) un polisulfato de GAG,
- c) una sal de ácido hialurónico
- 20 d) una sal de glucosamina

Estas composiciones también pueden estar en forma de película, en este caso el colágeno tiene la función de la sustancia principal que genera película.

25 Como es sabido, el colágeno disponible en el mercado es esencialmente de origen bovino y equino; en algunos individuos puede inducir una respuesta antigénica, una respuesta que se puede reducir substancialmente si en los procesos de extracción y purificación de colágeno se usan enzimas proteolíticas adecuadas que son adecuadas para destruir su telopéptido C-terminal.

30 Además, el colágeno es una sustancia muy cara y por lo tanto no recomendada debido al precio resultante, si se usa en grandes cantidades como por ejemplo las necesarias para la preparación de películas adecuadas para cubrir heridas de grandes dimensiones. Como una demostración del mismo, la antes mencionada WO03034993 abarca el uso de tales tipos de película solamente para heridas de menor tamaño como las dentales.

Por lo tanto se sentía la necesidad de tener un dispositivo para la formación de cicatriz incluso de lesiones de gran tamaño como por ejemplo úlceras de vasculopatías y pié diabético que al mismo tiempo proteja la herida y libere continua y uniformemente los GAGs *in situ* en la lesión sin el inconveniente del estado de la técnica.

US2010/002790 describe películas hidrosolubles que contienen

- 35 a) entre 25 y 60% en peso de alginato sódico
- b) entre 0,1 y 20% en peso de celulosa microcristalina sobre el peso total de la película,
- c) entre 0,1 y 25% en peso de proteínas vegetales.

Cuando se usa para uso tópico sobre la piel, estas películas se pueden usar para tratar pequeñas heridas de la piel y no contienen ingredientes activos que tienen actividad de curación.

40 **Compendio de la invención**

El Solicitante ha encontrado ahora inesperadamente que es posible superar los inconvenientes de dispositivos para uso tópico que contienen GAGs con el dispositivo de la presente invención que comprende una película hidrosoluble o gel sólido que tiene actividad de curación según la presente invención.

Por lo tanto, la presente invención se refiere a una película hidrosoluble que comprende:

- 45 a) entre 25 y 60% en peso de alginato sódico, como principal sustancia filmógena,
- b) entre 0,1 y 20% en peso de celulosa microcristalina sobre el peso total de la película,
- c) entre 0,1 y 25% en peso de proteínas vegetales,

d) al menos un glicosaminoglicano sulfato de tipo natural, como ingrediente activo con actividad de curación.

La presente invención se refiere además a un dispositivo para uso médico que contiene la película hidrosoluble según la presente invención.

5 Este dispositivo es adecuado en particular para cubrir llagas y heridas, incluso las más grandes, protegiéndolas del ambiente exterior, proporcionando continuamente el glicosaminoglicano sulfato del tipo natural en la zona de la piel dañada, ya que realiza una acción de liberación lenta del ingrediente activo en el área requerida y al mismo tiempo protege el sitio de la lesión de agentes bacterianos, contaminantes, cuerpos extraños.

Descripción de las figuras

10 La Figura 1 describe la acción amortiguadora de la biopelícula, después de la adición de HCl o NaOH como se muestra en el experimento descrito en el ejemplo 2 en comparación con agua pura y soluciones acuosas que contienen 30 mg de Mesoglican.

15 La Figura 2 muestra la progresión del pH de la película de la presente invención preparada como se describe en el ejemplo 5, colocada en soluciones convertidas en ácidas con HCl 0,01 M o básicas con NaOH 0,01M, y la comparación de los valores de pH en agua pura y en soluciones acuosas que contienen 30 mg de Mesoglican, después de las adiciones de los correspondientes volúmenes de NaOH y HCl.

Descripción detallada de la invención

20 Para los fines de la presente invención mediante la definición general de "glicosaminoglicano sulfatos y/o galactosaminoglicano sulfatos (GAGs)" nos referimos a ambos glicosaminoglicano sulfatos y/o galactosaminoglicano sulfatos que se encuentran en la naturaleza, por ejemplo, en tejidos animales y particularmente en la matriz extracelular como componentes de los denominados proteoglicanos como por ejemplo condroitín sulfato, dermatán sulfato, heparán sulfato, heparina de bajo, relativamente bajo y/o alto peso molecular, queratán sulfato y mezclas relativas de al menos dos de los componentes antes mencionados.

25 Para los fines de la presente invención por heparina de bajo peso molecular nos referimos a heparina con un peso molecular (Mw) promedio comprendido entre: 4.000 y 6.500 y con un 60% de las moléculas con un peso molecular promedio de menos de 8.000 Da.

Por heparina de relativamente bajo peso molecular nos referimos: a heparina con un peso molecular (Mw) promedio comprendido entre: 6.500 y 10.500 y con un 60% de las moléculas que se caracterizan por un peso molecular promedio de menos de 12.000 Da.

30 Por heparina de alto peso molecular nos referimos a heparina no fraccionada convencional (UFH) que tiene un peso molecular promedio comprendido entre: 12.000 y 18.000 e incluso valores que alcanzan hasta 40.000 Da.

Para los fines de la presente invención mediante la definición de "condroitín sulfato", donde no se especifica expresamente nos referimos al menos a uno de los siguientes isómeros:

condroitín-4-sulfato (Ch-S-A), condroitín-6-sulfato (Ch-S-C), condroitín-2,6-di-sulfato (Ch-S-D), condroitín-4,6-disulfato (Ch-S-E)

35 Según una realización preferida, los dispositivos médicos según la presente invención contienen una mezcla de al menos 2 de los galactosaminoglicano sulfatos antes mencionados de tipo natural.

Según una realización preferida de la invención estos dispositivos médicos contienen las siguientes mezclas:

La mezcla (A), que comprende principalmente:

40 α) heparina de relativamente bajo peso molecular, con posibles trazas de heparina que contiene glucosamina N-desulfato, (GlcN, GlcN,6S)

β) dermatán sulfato

γ) condroitín sulfato;

La mezcla (B), que comprende:

α') heparina de relativamente bajo peso molecular,

45 β') dermatán sulfato,

La mezcla (C) que comprende los siguientes glicosaminoglicanos de bajo peso molecular:

α'') heparán sulfato,

β'') condroitín sulfato

γ'') dermatán sulfato

La mezcla (D) comprende los siguientes componentes:

α''') dermatán sulfato con trazas de heparina de relativamente bajo peso molecular y

5 β''') condroitín sulfato,

La familia de la mezcla (A) incluye, en particular, el producto disponible en el mercado con el nombre comercial Mesoglican®. Preferiblemente, la mezcla de Mesoglican consiste en:

- 55-60% de una mezcla de heparina de relativamente bajo peso molecular de cuyo 2-8% es heparina de alto peso molecular (heparina de movimiento lento) y 47-58% de heparina (heparina denominada de movimiento rápido).

10 • 25-35% de dermatán sulfato,

- 4-8% de condroitín sulfato (principalmente Ch-S-A y cantidades más pequeñas de Ch-S-C.)

La familia de mezclas (B) incluye, en particular, el producto conocido como Sulodexide que contiene 80% de heparina de relativamente bajo peso molecular y 20% de dermatán sulfato.

15 La familia (C) incluye, en particular, el producto más conocido como Danaparoid que consiste en 75-85% de heparán sulfato, no más de 8,5% en peso de condroitín sulfatos (Ch-S-A) y (Ch-S-C), y 8 a 16% de dermatán sulfato.

La familia (C) también incluye el producto conocido como Mistral.

La película hidrosoluble según la presente invención se prepara preferiblemente como se describe en US2010/002790.

20 Para los fines de la presente invención por peso seco de película hidrosoluble nos referimos al peso de los otros componentes en la película final que no sea agua.

25 Para los fines de la presente invención, consideramos como sustancia filmógena principal la sustancia que representa entre el 90 y 100% en peso de sustancia filmógena sobre el peso total de las sustancias filmógenas, preferiblemente entre el 95 y 99,9% en peso sobre el peso total. Preferiblemente, el dispositivo según la presente invención contiene Mesoglican sódico, a concentraciones comprendidas entre 0,1 y 10% en peso, más preferiblemente entre 1 y 7% en peso e incluso más preferiblemente entre 3 y 6% en peso sobre el peso seco de la película hidrosoluble. Según una solución particularmente preferida está contenido en una cantidad de 4,5 y 4,8% en peso calculada sobre el peso seco de la película hidrosoluble.

30 El dispositivo según la presente invención puede también contener dermatán sulfato con trazas de heparina de relativamente bajo peso molecular y condroitín sulfatos, a concentraciones comprendidas entre 0,1 y 10% en peso, más preferiblemente entre 1 y 7% en peso e incluso más preferiblemente entre 3 y 6% en peso sobre el peso seco de la película hidrosoluble. Según una solución particularmente preferida está contenido en una cantidad de 4,5 y 4,8% en peso calculado sobre el peso seco de la película hidrosoluble.

35 Preferiblemente, el alginato sódico o componente (a) de la película hidrosoluble, con propiedades formadoras de película según la presente invención está contenido en cantidades comprendidas entre 28 y 40% en peso, más preferiblemente entre 30 y 38% en peso e incluso más preferiblemente entre 35 y 37% y según con una solución particularmente preferida entre 36,1 y 36,9% en peso calculado sobre el peso seco total de la película hidrosoluble.

La celulosa microcristalina o componente (b) usada como espesante en la película hidrosoluble de la invención está contenida en cantidades preferiblemente comprendidas entre 2,5 y 11% en peso y más preferiblemente comprendidas entre 5 y 8% en peso calculado sobre el peso seco total de la película.

40 Las proteínas vegetales o componente (c) de la película hidrosoluble de la presente invención que están contenidas en la película hidrosoluble por sus propiedades emulsionantes y capacidad de aumentar la consistencia de la misma están presentes en cantidades comprendidas entre 5 y 15%, incluso más preferiblemente entre 10 y 14% en peso sobre el peso seco total de la película.

45 La película también puede contener opcionalmente otros aditivos como derivados de polioxietileno y en particular polisorbato 80, preferiblemente en concentraciones comprendidas entre 5 y 12%, plastificantes y humectantes como polioles y en particular glicerina preferiblemente en concentraciones comprendidas entre 15 y 30%, además agentes espesantes como polivinilpirrolidona a concentraciones preferiblemente comprendidas entre 1 y 5% en peso sobre el peso seco total de la película.

Como filmógeno opcional o sustancia formadora de película es posible usar ácido hialurónico en cualquier caso en cantidades no superiores a 0,2% en peso sobre el peso seco total del polímero.

5 La película contiene humedad residual, que en cualquier caso no excede del 15% en peso sobre el peso total de la película hidrosoluble y de tal manera que la actividad del agua A_w tomada como la relación entre la tensión de vapor en la película y la tensión de vapor en el agua pura, a la misma temperatura, está comprendida entre 0,1 y 0,6.

El Solicitante ha encontrado en particular que la película hidrosoluble según la presente invención tiene una tasa cicatrizante de heridas superior al control ya después de 2 y 4 horas después de la administración.

10 Además, el Solicitante ha encontrado inesperadamente que el dispositivo biomédico sometido a esterilización por medio de rayos gamma es estable, no cambia y también tiene una acción amortiguadora, como se demuestra por los experimento *in vitro* dados en los ejemplos 2 y 5. De hecho, la matriz de la película hidrosoluble se puede preparar a fin de garantizar un pH final, es decir, cuando la película está en presencia de solución acuosa, comprendido en los intervalos de $6,0 \pm 0,4$ hasta pH de $7,0 \pm 0,5$, se mantiene en este intervalo por adición de ambos, ácido clorhídrico e hidróxido sódico a concentraciones de 0,01 N y con volúmenes comprendidos entre 20 μl y 1.000 μl , al sistema que consiste en una membrana entera suspendida en 20 ml de agua destilada.

15 De la técnica anterior se puede obtener la siguiente información.

El pH de la piel intacta es aproximadamente de 5,5; el pH de la mayoría de las células está comprendido entre 6,5 y 8,5; las heridas y lesiones también tienen este intervalo de pH, con la tendencia a alcanzar el valor de 9,0. El pH de la sangre venosa es de 7,35.

20 En presencia de lesiones crónicas el pH del lecho de la herida es de vital importancia para los fines del proceso de curación; de hecho se ha observado que una "acidificación" del lecho de la lesión conduce a un aumento de la tasa de curación en pacientes que padecen úlceras venosas de las extremidades inferiores.

25 Una de las razones es la mayor disponibilidad de oxígeno para los tejidos. La otra se deriva de los altos niveles de proteasas asociados con pHs alcalinos del lecho de la lesión. La expresión excesiva de proteasas es un factor que contribuye a la ralentización del proceso de curación, en algunos casos bloqueando la lesión en un círculo crónico. Por otro lado la reducción del pH o el mantenimiento de los fluidos de la lesión en una zona tendencialmente "ácida", es un método para controlar la actividad de las proteasas, sin causar, además, una desactivación irreversible de las mismas, que determinaría también la desnaturalización de proteínas útiles en los fluidos de la herida, como factores de crecimiento.

30 Existe evidencia de que valores tendencialmente ácidos del exudado de la lesión pueden promover la curación. De hecho, en ambientes tendencialmente alcalinos con pH comprendido entre 7,0 y 9,0, las proteasas muestran el pico máximo de actividad. Catepsina G, elastasa, plasmina, metal-proteinasas de la matriz (MMP-1) pueden degradar el tejido de la matriz extracelular que acababa de ser construido (laminina, fibronectina, colágeno, etc.) y por lo tanto ralentizando la curación. (Greener B et al. J of Wound Care 2005; 14(2): 59-61. Véase también: Rushton I. Role of proteases and of pH in wound healing. Nurs Stand 2007; 21(32): 68, 70, 72. PubMed).

35 Las úlceras y las lesiones crónicas se caracterizan por valores de pH incluso superiores a 9.

Existe por tanto una necesidad de tener un dispositivo médico capaz de inhibir la alcalinidad de la lesión y mantener su pH alrededor de valores de 6,7 – 6,9.

40 Se examinó un estudio de 50 pacientes portadores de lesiones agudas y crónicas en un hospital universitario (Varanasi-India). Se controlaron los valores de pH, se detectaron en el exudado de la herida: al principio más del 50% de los casos tenían un pH superior a 9,0 y ningún caso tiene un pH de menos de 7,5. Durante la evolución hacia la curación los valores de pH cayeron por debajo de 7,5 (14% de los casos) y otros se mantuvieron entre 7,5 – 8,0 (34% de los casos). La evolución del pH hacia valores próximos a neutro era una indicación de curación, y además exudados con valores de pH superiores a 8,0 representaban un buen medio de cultivo para *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* (V.K. Shukla et al. J of Wound Care 2007; 16(7): 291-294. PubMed).

50 Ian A.I. Wilson et al. (en VASA 1979; 8(4): 339-342 a través de: www.scirus.com) en el informe titulado "Relazione fra il pH della superficie delle ulcere varicose and guarigione" muestra los resultados de un experimento de 29 pacientes que padecían úlceras varicosas. El pH promedio de los exudados de las úlceras era aproximadamente $7,7 \pm 0,3$. Se llevó a cabo un tratamiento terapéutico con ungüento tamponado a pH 6,0 frente a un control que consistía en el mismo ungüento a pH 7,3. El tratamiento con ungüento tamponado a pH 6,0 mantuvo la "acidez" de las úlceras venosas por un periodo superior con una ventaja significativa en la tasa de curación medida a través de un "cociente de curación" representado por el área de la parte cubierta por el epitelio, en $\text{mm}^2/\text{día}$. Los valores informados fueron $22,6 \text{ mm}^2/\text{día}$ para aquellos tratados y $3,3 \text{ mm}^2/\text{día}$ para los controles.

55 Alexander L et al. (en el monográfico informado en Arch Dermatol Res 2007; 298: 413-420. PubMed) hipotetiza las condiciones que influyen el pH en la curación de lesiones como una nueva perspectiva de terapia.

Se obtienen incluso mejores resultados en términos de actividad amortiguadora de la película hidrosoluble objeto de la presente invención si se añade un hidroxiaácido orgánico como componente de la mezcla de preparación de la película. Según una realización preferida, se usa un hidroxiaácido orgánico de 3 a 6 átomos de carbono y que contiene de 1 a 2 grupos hidroxilo, como por ejemplo: ácido cítrico, ácido tartárico, ácido tartrónico, ácido hidroxibutírico, etc.

Preferiblemente se usa ácido cítrico.

Se obtuvo esta característica amortiguadora de la película a través de la adición de una cantidad conocida (preferiblemente comprendida entre 1 y 2% sobre el peso total de la película seca) de hidroxiaácido a la mezcla de preparación hasta que se alcance un pH comprendido entre 5,4 y 5,6.

En la práctica, cambiando esta adición, es posible dar a la matriz de la biopelícula la capacidad de mantener las lesiones y llagas "tamponadas" en los ambientes de pH adecuados para acelerar sus curación.

Una propiedad adicional mostrada por las películas hidrosolubles de la invención es la alta estabilidad en el almacenamiento.

El dispositivo para uso médico que consiste en la película según la presente invención es en particular adecuado para el tratamiento de lesiones secundarias a eventos patológicos, como por ejemplo úlceras de las extremidades inferiores en sujetos con insuficiencia venosa crónica, úlcera de pie diabético, úlceras arteriales, lesiones secundarias a eventos traumáticos como por ejemplo úlceras de decúbito, abrasiones, lesiones secundarias a eventos ambientales como por ejemplo lesiones por escaldaduras, quemaduras, siendo todas estas lesiones también grandes.

Con fines ilustrativos pero no limitantes damos algunos ejemplos de composición del dispositivo para uso médico que consiste en la película hidrosoluble según la presente invención.

Ejemplo 1

Preparación de la biopelícula de Mesoglican

En un mezclador que contiene agua destilada necesaria para formar 100 partes, precalentada entre 50°C y 70°C, se dispersan los siguientes: 2,5 partes de sorbitol, 5 partes de glicerina, 2 partes de polisorbato 80 hasta completa solubilización. Se añaden los siguientes por aspersion: 8,7 partes de alginato sódico, 1,7 partes de celulosa microcristalina, 3 partes de proteína vegetal, 0,5 partes de polivinilpirrolidona, 1,1 partes de Mesoglican sódico, 0,025 partes de hialuronato sódico. La mezcla se agita lentamente durante 30 minutos hasta dispersión y homogeneización completa del gel. Comienza un enfriamiento lento a 25°C bajo agitación lenta. Se comprueba el pH de la masa gelatinosa, que debe ser 7,0 ± 0,5; en este caso era pH 7,0.

La masa se deja reposar durante una noche para la desaireación, a continuación se transfiere, bajo agitación y a través de una bomba peristáltica a un recipiente adecuado de la máquina de distribución y después se deposita en película sobre un soporte de banda de siliconato de polietileno. La banda se hace pasar a un horno túnel ventilado equipado con cuatro estaciones de calentamiento sucesivas con temperaturas en aumento hasta 120°C. A la salida del túnel se obtiene un rollo que consiste en soporte de siliconato de tereftalato de polioxietileno (PET) y una película sólida de gel. El producto se seca durante al menos 24 horas. El rollo se corta en rollos más pequeños de bandas en relación con el tamaño de la pieza deseada.

Se obtiene así una película hidrosoluble de 8 x 12 cm que pesa en promedio 650 mg y que tiene la composición expresada sobre la sustancia seca como se informa en la siguiente tabla.

Nombre comercial de los ingredientes	Nombre químico de los ingredientes	mg de composición /película
Protanal GP 2650	Alginato sódico	237,86
Avicel PH 105	Celulosa microcristalina	46,48
Pisane M9	Proteína vegetal (guisantes)	82,01
Sorbitolo 70%	Sorbitol	47,84
Pricerina 9095	Glicerina 99,95%	136,70
Tween 80	Polisorbato 80	54,68
Kollidon 90 F	Polivinilpirrolidona	13,67

ES 2 645 993 T3

Nombre comercial de los ingredientes	Nombre químico de los ingredientes	mg de composición /película
Mesoglycan sodico	Mesoglican sódico	30,10
Crystal Hyal	Hialuronato sódico	0,68

La película tiene un contenido de agua, medido con la técnica de Karl Fischer de 12% - 15%.

Ejemplo 2

Análisis del efecto amortiguador de la película hidrosoluble de la invención

- 5 La película hidrosoluble preparada como se describe en el ejemplo 1 se trituró en pequeños trozos y se suspendió en 20 ml de agua destilada, bajo agitación. Después de 5-10 minutos, se formó una "solución" con una modesta cantidad de material en suspensión. El pH de dicho sistema fue en promedio de 6,75. Al mismo tiempo se prepararon dos vasos de precipitado que contenían 20 ml de agua destilada, en cada uno de los cuales se midió el valor de pH y a los cuales se añadieron progresivamente y por separado 0,1, 0,2, 0,4, 1,0 ml de hidróxido sódico o
- 10 ácido clorhídrico 0,01 M, respectivamente. En paralelo a esta prueba se hicieron las mismas adiciones sobre agua destilada, por separado, en dos suspensiones del mismo número de membranas de película en 20 ml de agua destilada. Se midieron los valores de pH para cada adición.

Los resultados se dan en las siguientes tablas 1a y 1b:

Tabla 1a

NaOH 0,01 N añadido (µl)	pH de la biopelícula (*)			pH H ₂ O (**) (20 ml)
	Lot. P1251A0	Lot. P1270C0	Lot. P1271C0	
-	6,7	6,7	6,7	N.D.
20	6,8	6,7	6,8	6,6
100	6,8	6,8	6,8	8,6
200	6,9	6,8	6,9	9,1
400	7,0	7,0	7,1	9,5
1000	7,5	7,4	7,7	10,0

15

Tabla 1b

HCl 0,01 N añadido (µl)	pH de la biopelícula (*)			pH H ₂ O (**) (20 ml)
	Lot. P1251A0	Lot. P1270C0	Lot. P1271C0	
-	6,9	6,8	6,8	N.D.
20	6,8	6,8	6,8	6,2
100	6,8	6,7	6,7	4,6
200	6,7	6,6	6,6	4,2
400	6,6	6,5	6,5	3,8
1000	6,3	6,2	6,2	3,4

(*) biopelícula disuelta en 20 ml de H₂O

(**) promedio de tres mediciones

N.D. = incapaz de determinarse (después de 30 minutos la lectura no era todavía estable)

5 A partir de este modelo experimental se encontró que la película disuelta/suspendida en agua tiene un pH de aproximadamente 6,75. Su efecto tamponador permitiría que el pH del "sistema de lesión" se mantuviera alrededor de este valor o como máximo comprendido entre 6,1 y 7,5; como se ha demostrado a partir de estos sistemas, los sistemas acuosos no tamponados previamente alcanzarían pH 3,4 y 10,0 respectivamente.

Análisis comparativo llevado a cabo con Mesoglican en agua.

10 Se disolvió una cantidad de Mesoglican correspondiente a la cantidad contenida en una membrana, 30 mg, en 20 ml de agua destilada. Se midió el pH. Se añadió dicha solución a 20, 100, 200, 400, 1000 µl de NaOH 0,01 M y se midió el pH de las respectivas soluciones. Se añadió una solución de Mesoglican similar en 20 ml de agua a los volúmenes correspondientes de HCl 0,01 M y se detectaron los pHs respectivos. Los valores obtenidos se dan en la Tabla 1c.

pH de 30 mg de Mesoglican en 20 ml de soluciones alcalinizadas (con NaOH 0,01 M) y acidificadas (con HCl 0,01 M) a través de la adición de las cantidades indicadas al lado				
NaOH 0,01 M añadido (µl)	Mesoglican En 20 ml de agua + NaOH 0,01 M		Mesoglican en 20 ml de agua + HCl 0,01 M	HCl 0,01 M añadido (µl)
-	7,5		7,6	-
20	7,6		7,3	20
100	9,0		6,8	100
200	9,6		6,4	200
400	10,2		5,9	400
1000	10,6		5,3	1000

15 Los valores de la Tabla 1c demuestran que la solución sola de Mesoglican no es capaz de tamponar la zona de la lesión.

La Figura 1 resume los resultados obtenidos con el experimento del ejemplo 2, del que se puede ver claramente también gráficamente que la acción amortiguadora sólo se obtiene con las películas hidrosolubles según la presente invención.

20 La Fig. 1 muestra los valores de pH tomados por las tres muestras P1251A0 ◆, P1270C0 ■, P1271C0 ▲ en comparación con soluciones acuosas ■, y soluciones de 30 mg de Mesoglican en 20 ml de agua ●, después de cada adición de las cantidades respectivas de NaOH y HCl 0,01M.

Ejemplo 3

Estudio de estabilidad

25 El propósito de este experimento fue evaluar el contenido de Mesoglican a lo largo del tiempo por medio de su actividad anti-factor Xa activado.

3.1. Materiales

Se sometieron los siguientes lotes experimentales de dispositivo al estudio de estabilidad:

Lote de película P1251A0 producida con lote de Mesoglican 08-O-041

Lote de película P1270C0 producida con lote de Mesoglican 08-O-023

30 Lote de película P1271C0 producida con lote de Mesoglican 09-O-051

Contenido teórico 30,10 mg de Mesoglican.

3.2. Programa de estabilidad

Las condiciones de almacenamiento y los tiempos en los que se llevaron a cabo los análisis son los siguientes:

25°C – 60% hr

0 meses, 1 mes, 3 meses, 6 meses y 12 meses

5 30°C – 65% hr

1 mes, 3 meses, 6 meses, 9 meses y 12 meses

40°C – 75% hr

1 mes, 3 meses y 6 meses

10 3.3. Método para determinar el contenido de Mesoglican en la biopelícula evaluado a través de su actividad anti-factor Xa activado

Como es conocido, la heparina es capaz de inhibir el factor Xa (FXa) activado, a través de la interacción con la serin proteasa Antitrombina III (ATIII).

El método para determinar la actividad anti-factor Xa, desarrollado para determinar la actividad de la heparina, si se aplica a Mesoglican es capaz de indicar la actividad del producto ya que uno de sus componentes es heparina.

15 El ensayo se lleva a cabo en sistemas purificados.

En el sistema *in vitro*, se añade una muestra que contiene cantidades conocidas de Mesoglican y ATIII con un exceso de FXa. El FXa residual se mide gracias a su actividad amidolítica sobre el sustrato cromogénico. Las cantidades de FXa residual es inversamente proporcional a la cantidad de Mesoglican presente en la muestra.

3.3.1. Reactivos.

20 - Kit Stachrom Heparin DIAGNOSTICA STAGO cod. 00906 que consiste en:

- Tampón Tris EDTA pH 8,4 concentrado (normalmente diluir 10 ml a 100 ml con agua desionizada)
- Sustrato cromogénico CBS 31.39 (que se prepara con 4 ml de agua desionizada)
- ATIII bovina (que se prepara con 2 ml de tampón diluido)
- FXa bovino (que se prepara con 4 ml de agua desionizada) para preparar al menos 30 minutos antes de su uso.

25 - Lote de Heparina de Trabajo Estándar 2247 que se le atribuyó la cantidad de 196 Unidades Internacionales de actividad anti-Xa (UIanti-Xa/mg) frente al Estandar de Referencia Internacional 3.1 en cantidad de 1010 Unidades Internacionales de actividad anti-coagulante (UI/ml), según el método del documento EP, párrafo 2.7.5.

- Biopelícula de dimensiones 8x12 cm, peso teórico de 650 mg y contenido teórico de 30,10 mg de Mesoglican

30 - Lote de Mesoglican sódico usado para la preparación de la biopelícula

- Emulsión código de referencia 9756904 de Instrumentation Laboratory

3.3.2. Aparatos

Analizador de coagulación Instrumentation Laboratory mod. ACL 300R o equivalente

Rotores Instrumentation Laboratory código 68000

35 Copas de muestra Instrumentation Laboratory código 67992

Escala AX 105DR fijada en 4 cifras decimales

Cristalería e instrumentos de laboratorio convencionales

3.4. Preparación de las soluciones para la construcción de la Heparina estándar de trabajo

40 Preparar una solución de heparina Estándar de Trabajo, a la concentración de 10 mg/ml (igual a 1960 UI/ml) en agua destilada. Preparar a partir de esta solución, mediante dilución con tampón Tris-EDTA a pH 8,4, otras soluciones a concentraciones de:

0,15 UI/ml,
 0,125 UI/ml,
 0,1 UI/ml,
 0,075 UI/ml, 0,05 UI/ml.

5 3.5. Preparación de las soluciones para calcular la actividad de Mesoglican

Preparar una solución de Mesoglican sódico, lote usado para la preparación de la biopelícula, a la concentración de 10 mg/ml.

Diluir con tampón Tris-EDTA a pH 8,4, dicha solución a las concentraciones de

4 µg/ml,

10 3 µg/ml, 2,5 µg/ml,

2 µg/ml,

1,25 µg/ml,

3.5.1. Disolución de la película y preparación de la muestra

15 La película se separa del soporte plastificado, se pesa, se corta en trozos pequeños y se transfiere a un vaso de precipitados de 600 ml. Se añaden 300 ml de agua desionizada y se dejan bajo agitación sostenida durante aproximadamente 5 minutos hasta que esté completamente disuelto. La solución obtenida es turbia pero no particularmente densa (concentración teórica de Mesoglican: 30,10 mg/300 ml, es decir, 100,33 µg/ml).

Preparar una solución con una concentración final de 3,01 µg/ml.

3.5.2. Proceso de uso del analizador de coagulación

20 En los rotores del analizador de coagulación, según las instrucciones descritas por los procedimientos, se colocan las copas de muestra que contienen los reactivos para cada una de las 5 concentraciones de heparina estándar de trabajo, de las 5 concentraciones de Mesoglican usadas como materia prima para ese lote correspondiente de dispositivo y de las 5 muestras a la misma concentración teórica de 3,01 µg/ml de biopelícula.

25 En la reacción la heparina modifica alostéricamente la antitrombina III que inhibirá al factor Xa. La reacción se controla a partir de la absorbancia detectada a 405 nm.

3.6. Cálculos para obtener el contenido de Mesoglican

Se construye el estándar de calibración de trabajo, en base a la actividad de la Heparina usada (UI/ml) y en la absorbancia correspondiente obtenida. A partir de este estándar, conociendo la absorbancia de las soluciones de Mesoglican se puede extrapolar la actividad en Unidades Internacionales anti-Xa (UaXa/ml).

30 Con el fin de calcular la actividad anti-Xa expresada en UaXa/mg, se usó la siguiente fórmula:

Actividad (UaXa/mg)=	a	X 1000
	c	

en donde:

a= actividad Mesoglican extrapolada a partir de la curva expresada en UaXa/ml

c= concentración del Mesoglican expresada en µg/ml

35 Los valores calculados para las concentraciones correspondientes de Mesoglican ensayadas se promedian para obtener el contenido (T) expresado en UaXa/mg.

Cálculos para obtener el contenido de Mesoglican en la biopelícula

Se construye la calibración estándar de trabajo en base a la actividad de la Heparin usada (UI/ml) y a la absorbancia correspondiente obtenida. Para este estándar, sabiendo la absorbancia de las soluciones de la película, se extrapola

la actividad en UaXa/ml. Con el fin de calcular la concentración de Mesoglican presente en la solución de biopelícula expresada en µg/ml se usó la siguiente fórmula:

Concentración de Mesoglican (µg/ml) =	a	X 1000
	T	

en donde:

5 a= actividad de biopelícula extrapolada a partir de la curva expresada en UaXa/ml

T= contenido de Mesoglican expresado en UaXa/mg

Los cinco valores calculados, obtenidos en las 5 réplicas de la dilución de la biopelícula a prueba, se promedian para obtener la concentración (C) de Mesoglican en la solución de biopelícula expresada en µg/ml.

10 Con el fin de obtener el contenido de Mesoglican en la biopelícula, expresado en porcentaje sobre el valor teórico de 30,10 mg, se usó la siguiente fórmula:

Mesoglican % =	C	X 100
	3,01	

en donde:

C = concentración (C) de Mesoglican encontrada en la película expresada en µg/ml

3,01 concentración teórica de Mesoglican expresada en µg/ml

15 Hacer la media de los valores obtenidos de las diferentes películas (al menos 3) para obtener el contenido de Mesoglican en la película.

Se usaron 3 películas hidrosolubles diferentes, preparadas como se describe en el ejemplo 1 para cada vez; se usaron 5 de ellas para los lotes P1270C0 y P1271C0 a T₀ y para el lote P1251A0 a T_{1 mes}.

3.6.1. Resultados

20 La Tabla 3 muestra los resultados relativos a la película P1251A0 colocada en estabilidad a 25°C y 60% de humedad relativa (h.r.), a 30°C y 65% de h.r., durante 12 meses y a 40°C y 75% de h.r. durante 6 meses.

Tabla 3. Lote de biopelícula pf P1251A0

Condiciones	Meses	Porcentaje de recuperación de actividad anti-Xa en relación con el peso teórico de la membrana Promedio ± (t . CV%)/(g.l.)^{1/2} ooo	Contenido de Mesoglican Lote 08-O-041 UI-anti-Xa/mg
	0	86,37 ± 2,87 %	39
25°C 60% h.r.	1	85,47 ± 4,06 %	41
	3	86,45 ± 5,20 %	45
	6	86,45 ± 4,52 %	46
	12	82,69 ± 4,28 %	47
30°C 65% h.r.	1	81,12 ± 5,39 %	41
	3	90,35 ± 3,89 %	45
	6	84,32 ± 2,33 %	45

ES 2 645 993 T3

Condiciones	Meses	Porcentaje de recuperación de actividad anti-Xa en relación con el peso teórico de la membrana Promedio ± (t . CV%)/(g.I.)^{1/2} ooo	Contenido de Mesoglican Lote 08-O-041 UI-anti-Xa/mg
	9	88,09 ± 5,73 %	41
	12	81,20 ± 2,29 %	47
40°C	1	82,29 ± 4,17 %	41
75% h.r.	3	87,39 ± 2,78 %	45
	6	77,29 ± 1,86 %	44
	6 **	88,88 ± 3,60 %	

Nota para la Tabla 3: la t de Students para la probabilidad de 95% y para n-1 (15-1) grados de libertad es 2,15;

ooo para métodos complejos el error del método se puede representar por $X\% \pm t.CV\%/(n-1)^{1/2}$. En donde (n-1)^{1/2} para 15 mediciones = 3,74.

** Replicación del análisis llevado a cabo en otras 3 membranas mantenido mientras tanto a 20°C.

- 5 En el periodo de análisis a 1 mes el Mesoglican 08-O-041 dio 41 UI/mg con CV% 3,52. En el periodo analítico de 12 meses dio 47 UI/mg con CV% = 6,25.

La Tabla 4 muestra los resultados relativos a la película P1270C0 colocada en estabilidad en las condiciones indicadas anteriormente

Tabla 4. Lote de biopelícula P1270C0

Condiciones	Meses	Porcentaje de recuperación de actividad anti-Xa en relación con el peso teórico de la membrana Promedio ± (t . CV%)/(g.I.)^{1/2} ooo	Contenido de Mesoglican Lote 08-O-023 UI anti-Xa
	0	82,19 ± 3,57 % ▲	41
25°C	1	85,68 ± 4,02 %	42
60% h.r.	3	76,99 ± 4,51 %	44
	6	89,53 ± 2,36 % **	42
	12	74,64 ± 3,42 %	45
30°C	1	71,66 ± 4,17 %	42
65% h.r.	3	73,31 ± 5,85 %	44
	6	81,06 ± 3,58 % **	42
	9	84,97 ± 3,46 %	41
	12	83,83 ± 3,30 %	45
40°C	1	79,80 ± 2,92 %	42
75% h.r.	3	78,01 ± 2,36 %	44
	6	84,12 ± 2,07 %	42

- 10 Nota para la Tabla 4:

▲ 25 mediciones se llevaron a cabo. Para 25 mediciones $(n-1)^{1/2} = 4,90$ y la $t_{student} = 2,06$.

(**) solamente 14 valores. Para 14 valores la $t_{student} = 2,16$. Para 14 valores $(n-1)^{1/2} = 3,60$.

El lote de Mesoglican 08-O-023 en el periodo de análisis de 9 meses dio el valor de 41 UI/mg, (anti-Xa) con CV% de 6,16. En el periodo analítico de 12 meses dio 45 UI/mg con CV% de 6,83.

- 5 La Tabla 5 muestra los resultados relativos a la película P1271C0 colocada en estabilidad a 25°C y 60% de h.r., a 30°C y 40% de h.r. durante 12 meses y durante 6 meses a 40°C y 75% de h.r.

Tabla 5. Lote de biopelícula P1271C0

Condiciones	Meses	Porcentaje de recuperación de actividad anti-Xa en relación con el peso teórico de la membrana Promedio \pm (t . CV%)/(g.l.)^{1/2} ○○○	Contenido de Mesoglican Lote 09-O-051 UI anti-Xa/mg
	0	75,21 \pm 2,85 % ▲	39
25°C 60% h.r.	1	78,87 \pm 3,31 %	44
	3	73,05 \pm 8,61 %	45
	6	82,80 \pm 5,01 %	44
	12	76,04 \pm 3,40 %	46
30°C 65% h.r.	1	76,52 \pm 3,33 %	44
	3	77,38 \pm 5,75 %	45
	6	75,55 \pm 3,0 %	44
	9	77,70 \pm 2,82 %	45
	12	76,28 \pm 2,01 %	46
40°C 75% h.r.	1	73,99 \pm 2,06 %	44
	3	73,76 \pm 2,99 %	45
	6	80,92 \pm 2,17 %	45

Nota para la Tabla 5:

▲ 25 mediciones se llevaron a cabo. Para 25 mediciones $(n-1)^{1/2} = 4,90$ y la $t_{student} = 2,06$.

- 10 El lote de Mesoglican 09-O-051 en el periodo de análisis de 9 meses dio 45 UI/mg con CV% de 7,39 y en el periodo de 12 meses, 46 UI/mg con CV% = 5,91.

La tercera columna de cada tabla indica el contenido de Mesoglican en cada película ensayada (promedio de 5 réplicas llevadas a cabo en 3 o en 5 membranas diferentes).

- 15 Puesto que el peso experimental de los tres lotes de película era 550 mg \pm 15 mg, igual a aproximadamente 85% del teórico; se consideró esta diferencia en el cálculo del porcentaje de recuperación de la actividad por la biopelícula.

Los límites de confianza de un método complejo se pueden cuantificar a través de la siguiente fórmula: $\pm (t \cdot CV\%)/(n-1)^{1/2}$ en la que n es el número de réplicas llevadas a cabo y la t de Student se calcula a 95% de probabilidad para n-1 grados de libertad.

- 20 Ya que es un método biológico bastante complejo y por lo tanto sujeto a errores, se decidió, para cada sesión de trabajo, probar el también ingrediente activo usado para la preparación de cada lote de película hidrosoluble; con la intención de verificar la fiabilidad de los resultados obtenidos en cada sesión. La cuarta columna de cada tabla muestra los contenidos del lote de Mesoglican usado para ese lote de película. Generalmente, todas las 3 películas se evaluaron en una única sesión y por lo tanto el contenido de Mesoglican es sólo uno, donde se hace necesario llevar a cabo el análisis en muchas sesiones, se da el contenido de Mesoglican para cada sesión.

- 25 3.6.2. Discusión

Todas las biopelículas ensayadas en el estudio de estabilidad tenían un contenido de agua de alrededor de 14% - 16%. Por lo tanto la recuperación de Mesoglican de la matriz se puede aproximar al 90%, como en el caso del lote P1271C0 o al 100% del contenido teórico, como en el caso del lote P1251C0. Esta evidencia experimental confirma la estabilidad del Mesoglican en la matriz, pero en particular demuestra la tendencia de la película de liberar el ingrediente activo en el área de la lesión donde se necesita.

El método ha mostrado una cierta imprecisión que deriva de la complejidad del análisis y de la falta de paralelismo entre los estándares de trabajo de Heparina y los de Mesoglican. Habiendo comprobado así la razón de los amplios límites de confianza, se puede considerar el dispositivo médico estable en el tiempo en todas las condiciones ensayadas.

Ejemplo 4

Evaluación de la curación de la herida de la película hidrosoluble

El experimento consistió en la evaluación de la curación de la herida de la biopelícula en la reducción/cerrado de la herida inducida artificialmente. El experimento se llevó a cabo en una monocapa de células de queratinocitos humanos (hacat); en la que se creó un rasguño pasando una cuchilla a lo largo de la monocapa entera. La eficiencia de curación y de regeneración del dispositivo a las concentraciones de 5 mg/ml, 2,5 mg/ml y 1,25 mg/ml de película hidrosoluble se determinó tomando fotografías de los medios celulares a los tiempos T₀, T_{2h}, T_{4h}, T_{8h} y T_{24h} en comparación con el mismo medio celular no tratado. Se obtuvo evidencia experimental de que los bordes de la herida comenzaron espontáneamente a curarse en el control, pero a las concentraciones de 5 mg/ml, 2,5 mg/ml y 1,25 mg/ml de película, la tasa de curación era mayor ya después de 2 horas, 4 horas y 8 horas con respecto a la tasa de curación espontánea detectada en los controles. Las variaciones en el tamaño de la herida, entendida como la mayor tasa de curación, en los medios tratados con respecto al medio control son significativas a tiempos T_{2h} y T_{4h}. La película hidrosoluble aumenta sus propiedades de regeneración celular, estimulando su proliferación y migración haciendo así su capacidad de curación más rápida y más eficaz.

Ejemplo 5

Modulación del efecto tamponador de la película.

Ejemplo 5. Modulación del efecto tamponador de la película.

Se preparó una muestra de película hidrosoluble según la receta del ejemplo 1, con la diferencia de que en la mezcla de preparación en el momento del control del pH se añadió una cantidad adecuada de hidroxácido orgánico ácido cítrico, hasta que se obtuvo un pH del sistema igual a pH 5,6 (se añadieron 0,25 g de ácido cítrico a 100 g de matriz de biopelícula que contiene 76% de agua. Por lo tanto, el ácido cítrico añadido representaba 1,04% en peso sobre el peso seco total de los componentes).

En la preparación descrita en el ejemplo 1, el pH fue en este punto de 7,0. La película hidrosoluble obtenida, sometida al modelo de evaluación como se describe en el ejemplo 2, demostró que logró mantener los valores de pH variables solamente en el intervalo de pH 6,0 ± 0,4, aunque con las adiciones de ácido clorhídrico o hidróxido sódico 0,01 M, en las soluciones respectivas y a las cantidades descritas en el experimento del ejemplo 2.

La Tabla 6a muestra los valores de pH de cada una de las soluciones acuosas preparadas mediante solubilización en 20 ml de agua, de una membrana de biopelícula, que contiene una cantidad conocida de un hidroxácido orgánico (ácido cítrico) además de la mezcla dada en el ejemplo 1 e inspirado en US2010/0029790.

Tabla 6a

valores de pH de membranas preparadas según el ejemplo 5, solubilizadas en 20 ml de agua y alcalinizadas (NaOH 0,01 M) y acidificadas (HCl 0,01 M) con la adición de las cantidades indicadas al lado				
NaOH 0,01 M añadido (μl)	Membrana en 20 ml de agua + NaOH 0,01 M		Membrana en 20 ml de agua + HCl 0,01 M	HCl 0,01 M añadido (μl)
-	5,9		5,9	-
20	5,9		5,9	20
100	5,95		5,9	100
200	6,0		5,8	200

	valores de pH de membranas preparadas según el ejemplo 5, solubilizadas en 20 ml de agua y alcalinizadas (NaOH 0,01 M) y acidificadas (HCl 0,01 M) con la adición de las cantidades indicadas al lado			
NaOH 0,01 M añadido (μl)	Membrana en 20 ml de agua + NaOH 0,01 M		Membrana en 20 ml de agua + HCl 0,01 M	HCl 0,01 M añadido (μl)
400	6,1		5,8	400
1000	6,35		5,6	1000

El grado de variabilidad del pH de una preparación tal se incluye en el intervalo $5,9 \pm 0,5$. Por lo tanto, también incluye pH 6,0, el resultado óptimo para una ventaja significativa en la velocidad de curación de úlceras varicosas, como se muestra en VASA 1979; 8(4): 339-349, en la página 14 de la presente solicitud, de la línea 24 en adelante.

5 La Figura 2 da los resultados del efecto tamponador de la biopelícula preparada como se describe en el ejemplo 5.

La Figura 2 muestra la progresión de los pHs de dicha matriz colocada en soluciones acidificadas con HCl y alcalinizadas con NaOH 0,01M ♦, y la comparación de los valores de pH en soluciones acuosas ■, y en soluciones acuosas que contienen 30 mg de Mesoglican ●, después de la adición de los volúmenes correspondientes de NaOH y HCl.

10 Esta característica amortiguadora de la película se obtuvo a través de la adición de una cantidad conocida de hidroxiaácido orgánico a la mezcla de preparación. En la práctica, cambiando la calidad y cantidad de esta adición, es posible dar a la matriz de la biopelícula la capacidad de mantener las lesiones y llagas "tamponadas" en los entornos de pH adecuados para acelerar su curación.

REIVINDICACIONES

1. Película hidrosoluble que contiene:
 - a) entre 25 y 60% en peso sobre el peso total de la película de alginato sódico como sustancia filmógena principal;
 - 5 b) entre 0,1 y 20% en peso de celulosa microcristalina sobre el peso total de la película;
 - c) entre 0,1 y 25% en peso de proteínas vegetales;
 - d) al menos un glicosaminoglicano sulfato y/o galactosaminoglicano sulfato, como ingrediente activo con actividad curativa.
- 10 2. Película hidrosoluble según la reivindicación 1, caracterizada porque dicho glicosaminoglicano sulfato y/o galactosaminoglicano sulfato se selecciona de la clase que consiste en: condroitín sulfato, dermatán sulfato, heparán sulfato, heparina, queratán sulfato y mezclas relativas de al menos dos de los componentes antes mencionados.
- 15 3. Película hidrosoluble según la reivindicación 2, caracterizada porque dicha heparina tiene un peso molecular promedio comprendido entre 4.000 y 6.500 y con 60% de moléculas que tienen pesos de menos de 8.000 Da.
4. Película hidrosoluble según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, caracterizada porque la heparina tiene un peso molecular promedio comprendido entre: 6.500 y 10.500 y con al menos 60% de las moléculas caracterizadas por un peso molecular promedio de menos de 12.000 Da.
5. Película hidrosoluble según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, caracterizada porque la heparina tiene un peso molecular promedio comprendido entre 12.000 y 18.000 Da.
- 20 6. Película hidrosoluble según cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 4, caracterizada porque el glicosaminoglicano sulfato y/o galactosaminoglicano sulfato consiste en una mezcla (A) que comprende:
 - α) heparina con peso molecular de 6.500 y 12.000 y con al menos 60% de las moléculas caracterizadas por un peso molecular promedio de menos de 12.000 Da.
 - β) dermatán sulfato
 - 25 γ) condroitín sulfato
7. Película hidrosoluble según la reivindicación 6, caracterizada porque la mezcla (A) consiste en:
 - 55-60% de una mezcla de heparina con peso molecular promedio comprendido entre 6.500 y 10.500 Da
 - 25-35% de dermatán sulfato,
 - 4-8% de condroitín sulfato (mayoritariamente Ch-S-A)
- 30 8. Película hidrosoluble según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde el glicosaminoglicano sulfato y/o el galactosaminoglicano sulfato consiste en la mezcla (B) que consiste en:
 - α') heparina con relativamente bajo peso molecular,
 - β') condroitín sulfato
- 35 9. Película hidrosoluble según la reivindicación 8, caracterizada porque la mezcla (B) consiste en 80% de heparina con relativamente bajo peso molecular y 20% de dermatán sulfato.
10. Película hidrosoluble según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde el glicosaminoglicano sulfato y/o el galactosaminoglicano sulfato es una mezcla (C) que consiste en:
 - α'') heparán sulfato,
 - β'') condroitín sulfato
 - 40 γ'') dermatán sulfato.
11. Película hidrosoluble según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el glicosaminoglicano y/o galactosaminoglicano sulfato es una mezcla (D) que consiste en:

α ''') dermatán sulfato,

β ''') condroitín sulfato

- 5
12. Película hidrosoluble según la reivindicación 10, en donde dicha mezcla (C) consiste en 75-85% de heparán sulfato, no más de 8,5% en peso de condroitín sulfatos (Ch-S-A) y (Ch-S-C), y entre 8 y 16% de dermatán sulfato.
13. Película hidrosoluble según la reivindicación 6, en donde la mezcla (A) está contenida en la película hidrosoluble en concentraciones comprendidas entre 0,1 y 10% en peso calculado sobre el peso seco de dicha película.
14. Película hidrosoluble según cualquiera de las reivindicaciones 1-13 que comprende un hidroxiácido orgánico.
- 10 15. Película hidrosoluble según la reivindicación 14 en donde dicho hidroxiácido tiene entre 3 y 6 átomos de carbono y entre 1 y 2 grupos hidroxilo.
16. Película hidrosoluble según cualquiera de las reivindicaciones 14 y 15, caracterizada porque este hidroxiácido orgánico se selecciona de: ácido cítrico, ácido tartárico, ácido tartrónico, ácido hidroxibutírico, etc.
17. Película hidrosoluble según cualquiera de las reivindicaciones 14-16, en donde dicho hidroxiácido orgánico se añade a la mezcla en cantidades tales que la mezcla alcanza un pH comprendido entre 5,4 y 5,6.
- 15 18. Dispositivo para uso médico que comprende la película hidrosoluble según cualquiera de las reivindicaciones 1-17.
19. Dispositivo para uso médico según la reivindicación 18, caracterizada porque consiste en la película hidrosoluble según cualquiera de las reivindicaciones 1-17.
- 20 20. Dispositivo para uso médico según cualquiera de las reivindicaciones 18 o 19, para el tratamiento de:
- lesiones secundarias después de eventos patológicos, seleccionados de úlceras de las extremidades inferiores en sujetos con insuficiencia venosa crónica, úlcera de pie diabético, úlceras arteriales,
 - lesiones secundarias después de eventos traumáticos seleccionados de úlceras de decúbito, abrasiones,
 - lesiones secundarias después de eventos ambientales seleccionados de lesiones por escaldaduras, quemaduras.

25

Fig. 1

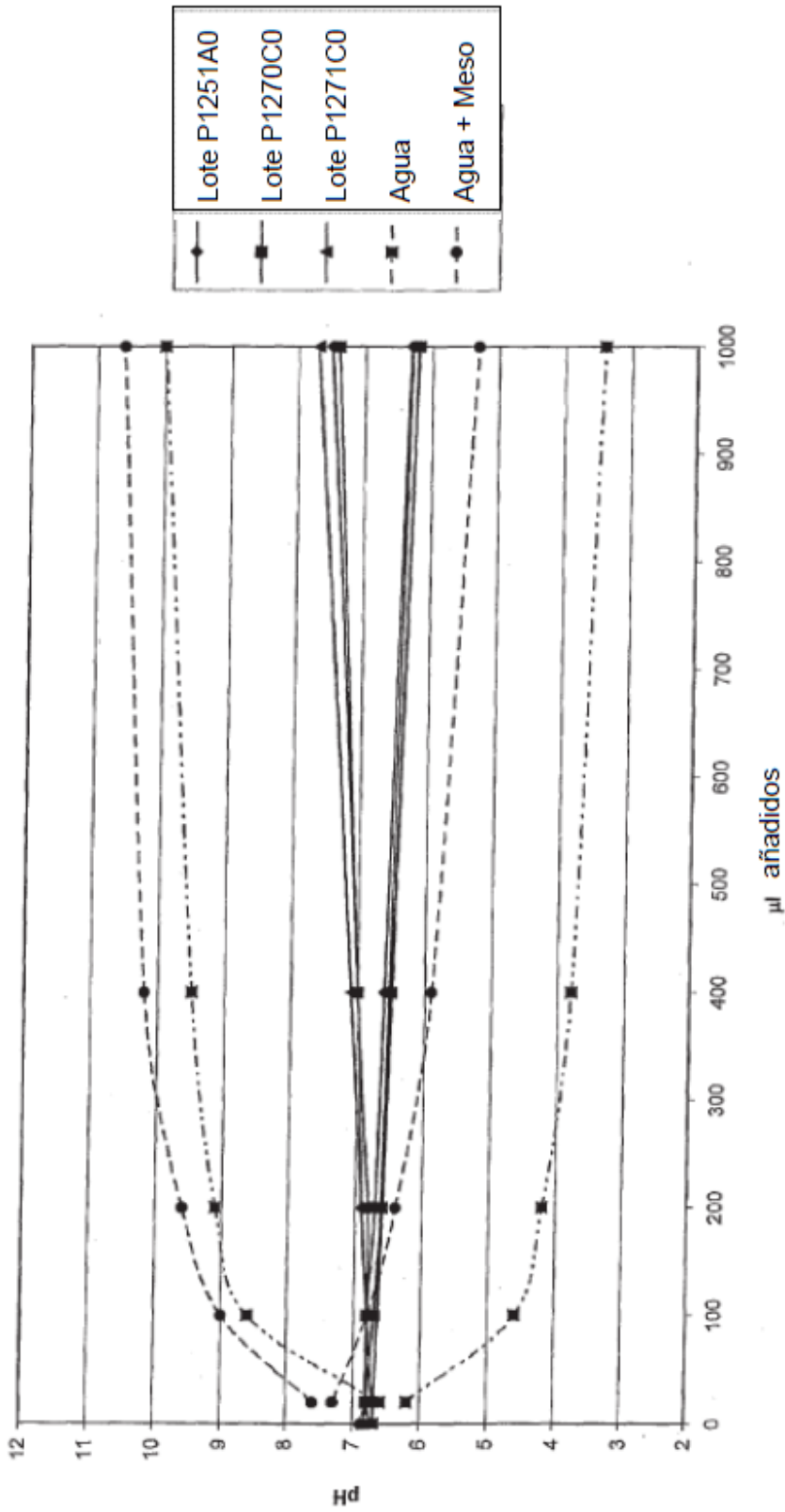


Fig. 2

