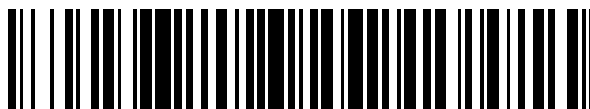


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 690 133**

51 Int. Cl.:

A61L 26/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.10.2007 PCT/US2007/080849**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.06.2008 WO08070270**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.10.2007 E 07871141 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.07.2018 EP 2073854**

54 Título: **Apósito para heridas de hidrogel y biomateriales formados in situ y sus utilizaciones**

30 Prioridad:

13.10.2006 US 581049

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

19.11.2018

73 Titular/es:

**ULURU INC. (100.0%)
4410 Beltway Drive
Addison, TX 75001, US**

72 Inventor/es:

**ST. JOHN, JOHN V. y
MORO, DANIEL G.**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 690 133 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

Apósito para heridas de hidrogel y biomateriales formados *in situ* y sus utilizaciones.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a los campos de la química orgánica, la fisicoquímica, la química de polímeros, la química farmacéutica, la medicina y la ciencia de los materiales.

10 **Antecedentes de la invención**

La función principal de un apósito para heridas es proporcionar un ambiente óptimo para la cicatrización. Ningún apósito es apropiado para todas las heridas, y la elección de un apósito para heridas depende de la causa, la presencia de una infección, el tipo y el tamaño de la herida, la etapa de la cicatrización de la herida, el coste, y la aceptación por parte del paciente (Findlay D., Aust. Fam Physician, 1994:23(5):824-839). De acuerdo con Lawrence (Lawrence, J.C., Injury, 1982; 13:500-512), el material del apósito debería ser estéril, fuerte, absorbente, protector, barato y acorde con los contornos del cuerpo. No debería ser tóxico, debería ser hipoalergénico, y debería estar libre de cualquier material en partículas que pudiera ser liberado en la herida. También, debería ser fácil de retirar, sin que se adhiriera a la herida, y debería tener una apariencia aceptable para los pacientes, el personal a cargo de ellos, y otros.

Los apósitos para heridas pueden clasificarse como primarios o secundarios. Los apósitos primarios se colocan directamente sobre la herida. Proporcionan protección, soporte y absorción, previenen la desecación y las infecciones, y sirven como una base adhesiva para los apósitos secundarios. Los apósitos secundarios proporcionan soporte, absorción, protección, compresión y oclusión adicionales. A menudo, el apósito secundario sirve como apósito de compresión.

Existe una amplia variedad de apósitos disponibles para alcanzar los objetivos esenciales de la terapia tópica, que son proporcionar una oxigenación y una circulación apropiada a los tejidos, aislar y proteger la herida que cicatriza, eliminar la infección clínica al eliminar el exudado en exceso, mantener un ambiente limpio y húmedo, y obtener un cierre completo de la herida. Pueden ser necesarios varios tipos de productos a medida que la herida progresa a través de sus etapas de cicatrización. Estos productos incluyen alginatos, que forman un gel que cubre la herida, limpiadores, que limpian el sitio de la herida, colágeno, un recubrimiento no adherente que estimula la migración celular, desbridadores compuestos y enzimáticos, que facilitan la desbridación autolítica, absorbentes de exudado y espumas, que llenan el espacio vacío en una herida, productos de gasa medicinal, para tratar y controlar las infecciones, hidrocoloides e hidrogeles, que reducen el dolor y facilitan la desbridación autolítica, bolsas, para recolectar y contener el drenaje, selladores de piel, y películas transparentes que reducen la fricción y facilitan la desbridación autolítica (Robert G. Smith, Wound Care Product Selection, U.S. Pharmacist, 4/2003). Estos productos tienen atributos que permiten tratar etapas diversas y diferentes de las heridas; sin embargo, todos tienen limitaciones. Por ejemplo, los alginatos potencialmente pueden deshidratar el lecho de la herida y despedir olores fétidos, y están contraindicados para uso en presencia de costras secas, en quemaduras de tercer grado e implantes quirúrgicos. Los apósitos de colágeno también están contraindicados para uso en quemaduras de tercer grado y heridas necróticas. Los vendajes de gasa, que se tornan no adherentes al incorporar vaselina, aún tienen una tendencia a desgarrar la piel nueva al retirarlos, y desprenden pelusa en la herida. Además, no son absorbentes. Los apósitos de hidrocoloides son difíciles de retirar, y debajo de ellos típicamente se acumula un fluido de drenaje amarillo-marrón con mal olor. Las espumas no se recomiendan para heridas sin exudados o heridas con costras secas. Los apósitos de hidrogel actuales tienen muchas ventajas en comparación con otros productos, pero como contienen una gran cantidad de agua (80-90%), no son absorbentes y no se recomiendan para uso en heridas con exudación masiva, y si se usan solos, no mantienen las bacterias fuera de la herida.

Se ha presentado esta revisión con respecto a heridas y a distintas modalidades de tratamiento, y también es importante que se proporcione una descripción detallada de hidrogeles poliméricos, ya que esta invención se refiere a apósitos de hidrogel para heridas y biomateriales.

Un gel es una red polimérica tridimensional que tiene un líquido absorbido para formar una composición estable, comúnmente suave y flexible, que tiene un módulo de elasticidad distinto de cero. Cuando el líquido absorbido por un gel es agua, el gel se denomina hidrogel. El agua puede comprender un porcentaje en peso significativo de un hidrogel. Esto, además del hecho de que muchos polímeros formadores de hidrogel son inertes desde el punto de vista biológico, da como resultado la utilidad particular de los hidrogeles en una amplia variedad de aplicaciones biomédicas.

Por ejemplo, los hidrogeles se usan ampliamente en las lentes de contacto blandas. También se usan como apósitos para quemaduras y heridas, con y sin fármacos incorporados, que pueden liberarse de la matriz del gel para ayudar en el proceso de cicatrización (por ejemplo, véanse las patentes US nº 3.063.685 y 4.272.518). Los hidrogeles han sido usados como recubrimientos para mejorar la humectabilidad de las superficies de

dispositivos médicos tales como filtros para sangre (patente US nº 5.582.794). También han podido ser utilizados como dispositivos para la liberación sostenida de sustancias con actividad biológica. Por ejemplo, la patente US nº 5.292.515 describe un método para preparar un dispositivo para administrar un fármaco a partir de un depósito hidrófilo. En la patente '515 se describe que las velocidades de liberación del fármaco pueden controlarse cambiando el contenido de agua del implante de hidrogel subcutáneo, lo que afecta directamente su coeficiente de permeabilidad.

En todas las solicitudes anteriores, el gel o hidrogel toma la forma de una masa, es decir, una masa amorfa de material sin una estructura interna regular discernible. Los hidrogeles en masa tienen velocidades de hinchamiento bajas, debido al gran volumen interno con relación al área superficial a través de la cual ha de absorberse el agua. Además, una sustancia disuelta o suspendida en el agua absorbida se difundirá hacia el exterior del gel a una velocidad que dependerá de la distancia que deba recorrer para alcanzar la superficie del gel. Es decir, las moléculas cerca de la superficie del hidrogel escaparán rápidamente, mientras que las moléculas localizadas a mayor profundidad en la matriz demorarán más en alcanzar la superficie externa del gel. Esta situación puede mejorarse en cierto grado usando geles de partículas. Si cada partícula es suficientemente pequeña, las sustancias dispersadas en las partículas difundirán hacia la superficie y serán liberadas aproximadamente al mismo tiempo.

Los geles de partículas pueden formarse mediante una cantidad de procedimientos, tales como polimerización por emulsión directa o inversa (Landfester, et al., *Macromolecules*, 2000, 33:2370), o pueden crearse a partir de geles en masa, secando el gel y triturando luego el xerogel resultante para obtener partículas de un tamaño deseado. Después, las partículas pueden volver a solvarse para formar geles de partículas. De este modo, es posible producir partículas con tamaños en el intervalo de diámetros entre micro (10^{-6} metros (m)) y nano (10^{-9} m). Todas las moléculas de una sustancia ocluida por partículas estos intervalos de tamaño tendrán que recorrer la misma distancia para alcanzar la superficie externa de la partícula, y presentarán cinéticas de liberación cercanas al orden cero. Sin embargo, los geles de partículas tienen sus problemas. Por ejemplo, es difícil de controlar la diseminación de las partículas y su localización en un sitio diana seleccionado. Además, si bien los hidrogeles en masa pueden prepararse de modo que retengan la forma, haciéndolos útiles como biomateriales en una variedad de aplicaciones médicas, esto es imposible de hacer con los geles de partículas disponibles en la actualidad.

La publicación de solicitud de patente US nº US 2004/0086548A1, en trámite junto con la presente, describe un agregado capaz de retener la forma formado por partículas de hidrogel, combinando de este modo la capacidad de retener la forma de los hidrogeles en masa con el control de la liberación de sustancias de los geles de partículas. La solicitud '548 describe un método para formar los agregados que retienen la forma, que comprende preparar una suspensión de partículas de hidrogel en agua u otro líquido polar, y concentrar la suspensión hasta que las partículas fusionen en un agregado capaz de retener la forma, que se mantiene unido por fuerzas físicas basadas en enlaces no covalentes, incluyendo, pero sin limitarse a, interacciones hidrófobas/hidrófilas y enlaces de hidrógeno. Los dispositivos de esta invención son particularmente útiles, por ejemplo, como implantes para administración de fármacos, armazones tisulares para la reparación de cartílago o hueso, y lentes de contacto y catéteres moldeables que eluyen fármacos.

En la publicación de solicitud de patente US nº US 2005/0118270A1, en trámite junto con la presente, se describe un método para formar agregados capaces de retener la forma *in situ*, de modo que la forma del agregado sea dictada por la forma del sitio de aplicación. La formación de los agregados se efectúa introduciendo una suspensión de partículas de gel dispersadas en un líquido polar, preferentemente agua, en la que las partículas de gel tienen un potencial zeta absoluto que permite que las partículas permanezcan dispersas, en un medio receptor en el que se reduzca el potencial zeta absoluto de las partículas de gel. Las partículas de gel fusionan en un agregado capaz de retener la forma, que se mantiene unido por fuerzas físicas basadas en enlaces no covalentes que comprenden interacciones hidrófobas-hidrófilas y enlaces de hidrógeno. Las aplicaciones incluyen, pero sin limitarse a, usos biomédicos, tales como la reconstrucción de articulaciones, la reparación de heridas, implantes para administrar fármacos formado *in situ*, y cirugía cosmética y reconstructiva.

El documento WO2006/041967 describe un método para formar agregados capaces de retener la forma de partículas de gel en el que una suspensión de partículas de gel dispersas en un líquido polar se tratan de manera que las partículas sufren una reducción en el potencial zeta absoluto de manera que las partículas fusionan en un agregado capaz de retener la forma.

Exposición de la invención

En un aspecto, la presente invención reivindica un polvo seco de nanopartículas poliméricas biocompatibles que formarán un agregado capaz de retener la forma al exponerlas a un medio fisiológico u otro medio de mayor fuerza iónica, como se expone en las reivindicaciones. En otro aspecto, la presente invención reivindica un procedimiento para preparar un polvo seco de dichas nanopartículas poliméricas biocompatibles, como se expone en las reivindicaciones. Los solicitantes describen un agregado integral, de forma adaptable y capaz de

retener la forma, que forma un apósito directamente sobre una herida *in situ*, y para otras aplicaciones, forma un biomaterial *in vivo* en o sobre un tejido húmedo del organismo. En la solicitud anterior, el polvo de nanopartículas de hidrogel utiliza la sangre o el exudado de una herida, que está sustancialmente compuesto por agua y otros compuestos biológicos, tales como suero, fibrina y leucocitos, absorbe este líquido polar y fusiona para formar una red muy intrincada formada por las nanopartículas y el fluido de la herida, los cuales se mantienen juntos merced a fuerzas físicas basadas en enlaces no covalentes que comprenden interacciones hidrófobas-hidrófilas y enlaces de hidrógeno. Los apósitos agregados obtienen sus propiedades características de adaptación a las heridas y retención de forma en virtud de fuerzas de atracción entre partículas fuertes, tales como, pero sin limitarse a, enlaces de hidrógeno, y en virtud de la formación de enlaces de hidrógeno entre las partículas y el líquido en los espacios vacíos entre las partículas. Los apósitos permanecen intactos como películas integrales durante las etapas de cicatrización de la herida, y se desprenden cuando la herida ya no está húmeda o cuando ha ocurrido la cicatrización. En esta última aplicación, el polvo utiliza cualquier fluido del organismo *in vivo* para formar un biomaterial agregado capaz de retener la forma que se mantiene unido merced a las mismas fuerzas descritas con anterioridad. La siguiente descripción se basará primariamente en apósitos para heridas formados *in situ*, pero es posible obtener las mismas propiedades con biomateriales formados *in vivo* para un conjunto amplio de aplicaciones médicas.

Una característica importante de estos apósitos y biomateriales es que es posible incorporar fácilmente una variedad de agentes biológicos y/o farmacéuticos mezclando el polvo en nanopartículas con una sustancia activa o una combinación de éstas, y aplicando el material mezclado directamente en el sitio de la herida, o colocándolo en o sobre un tejido húmedo del organismo *in vivo*. Después, el vendaje proporcionará la liberación sostenida de los uno o más compuestos terapéuticos durante un período de tiempo prolongado en el lecho de la herida subyacente, para contribuir en el tratamiento, el manejo y la cicatrización eventual de la herida y/o el alivio del dolor. La capacidad de formar apósitos protectores, no oclusivos, biocompatibles, de forma adaptable y capaces de retener la forma *in situ*, con o sin compuestos con actividad terapéutica, para una variedad de heridas exudativas, tales como quemaduras, abrasiones cutáneas, sitios donantes de piel, biopsias por punción, úlceras por decúbito y vasculares, y similares, representa un avance importante en el tratamiento y el manejo de las heridas. Estos apósitos tienen todos los atributos ideales que deberían presentar los apósitos para heridas, a saber, proporcionan una oxigenación apropiada al tejido subyacente, ya que estos apósitos no oclusivos son porosos porque están compuestos por nanopartículas y exudados de heridas, protegen la herida de las bacterias exógenas, eliminan el potencial de infección al utilizar el exudado de la herida en la formación del apósito, mantienen un ambiente limpio y húmedo, ya que son hidrogeles, y permiten obtener el cierre completo de la herida.

Por lo tanto, la presente invención proporciona un polvo seco de nanopartículas poliméricas que se prepara con un método que comprende polimerizar una cantidad eficaz de un monómero o dos o más monómeros, seleccionados de entre el grupo que consiste en un ácido 2-alquenoico, un 2-alquenoato de hidroxialquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de dihidroxialquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de hidroxialcoxi (2C-4C) alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de alcoxi (1C-4C) alcoxi (2C-4C) alquilo (2C-4C) o un 2-alquenoato de vicinil epoxi alquilo (1C-4C), en un líquido polar o una mezcla de dos o más líquidos miscibles, por lo menos uno de los cuales es polar, y una cantidad eficaz de un agente tensioactivo, para producir una suspensión de una pluralidad de nanopartículas poliméricas, en la que las nanopartículas poliméricas tienen un diámetro medio menor que 1×10^{-6} m; y después eliminar el o los líquidos de la suspensión mediante un procedimiento que comprende secar por pulverización o liofilizar para prevenir la agregación, y de tal modo que la cantidad remanente de líquido(s) en el polvo seco sea menor que 10% en peso, en el que el porcentaje se basa en el peso total del polvo seco. En otro aspecto, la presente invención proporciona el producto de polvo seco para uso para tratar *in situ* o *in vivo* un sitio de herida húmeda.

Breve descripción de las figuras y tablas

La figura 1 es una fotografía en la que se ilustra el polvo de nanopartículas de hidrogel, el polvo aplicado en disolución salina amortiguada con fosfato, y la película del agregado resultante una vez hidratado el polvo.

La figura 2 es una representación gráfica en la que se ilustra la masa relativa de un agregado formado con 500 mg de polvo en nanopartículas aplicado en disolución salina amortiguada con fosfato, y los cambios en la masa de dichos agregados a lo largo del tiempo a temperatura y humedad constante. Los agregados tenían composiciones químicas diferentes.

La figura 3 es una representación gráfica en la que se ilustra la liberación de lidocaína a partir de apósitos de agregados en nanopartículas para quemaduras compuestos por pHEMA y copolímeros de HEMA y GMA.

La figura 4 es una representación gráfica en la que se ilustra la liberación de eritromicina a partir de apósitos de agregados en nanopartículas para quemaduras compuestos por pHEMA y copolímeros de HEMA y GMA.

La figura 5 es una representación gráfica en la que se ilustra la liberación de 1,10-fenantrolina a partir de polvos en nanopartículas compuestos por mezclas de partículas de pHEMA y pHPMA con distintos

diámetros.

La figura 6 ilustra la inhibición de bacterias *Staphylococcus aureus* en una placa de Petri, producida por un agregado de nanopartículas cargado con doxiciclina y rifampina.

La figura 7 ilustra la inhibición de bacterias *Staphylococcus aureus* en una placa de Petri, producida por un agregado de nanopartículas de control sin antibióticos.

La figura 8 ilustra representaciones gráficas de la inhibición de cepas de bacterias *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* a lo largo del tiempo, producida por agregados en nanopartículas que contienen doxiciclina y rifampina, en comparación con un vendaje impregnado con un antibiótico de plata comercial.

La figura 9 ilustra el polvo de nanopartículas aplicado a una herida que toma todo el espesor del tejido en un modelo porcino.

La figura 10 ilustra el polvo de nanopartículas y un apósito de hidrogel comercial aplicado a sitios donantes de injertos de piel en un modelo porcino, con la cicatrización a lo largo del tiempo.

La figura 11 ilustra la histología de heridas tratadas con un agregado de nanopartículas que contiene factor de crecimiento derivado de plaquetas y un agregado de control que no contiene factor de crecimiento.

La figura 12 ilustra la histología de heridas tratadas con un agregado de nanopartículas que contiene factor de crecimiento endotelial vascular y un agregado de control que no contiene factor de crecimiento.

La figura 13 ilustra la histología de heridas tratadas con un agregado de nanopartículas que contiene una combinación de factor de crecimiento derivado de plaquetas y factor de crecimiento endotelial vascular, y un agregado de control que no contiene factor de crecimiento.

La Tabla 1 ilustra las relaciones de monómeros de HEMA y HPMA, expresadas en masa y mmoles, usadas para formar nanopartículas de hidrogel que consisten en copolímeros.

La Tabla 2 ilustra las relaciones de monómeros de HEMA y GMA usados para formar nanopartículas de hidrogel que consisten en copolímeros.

La Tabla 3 ilustra la elongación relativa y tensión en el punto de ruptura para agregados formados con nanopartículas con distintas composiciones químicas.

La Tabla 4 ilustra los tamaños de las nanopartículas usadas para formar agregados de mezclas de nanopartículas con distintas composiciones químicas para la liberación controlada de 1,1-fenantrolina.

Modos para poner en práctica la invención

Definiciones

Como se usa en la presente memoria, el término “que comprende” denota que las composiciones y los métodos incluyen los elementos mencionados, pero no excluyen otros. El término “que consisten esencialmente en”, cuando se usa para definir composiciones y métodos, denota la exclusión de otros elementos de cualquier significación esencial para la combinación. Por lo tanto, una composición que consiste esencialmente en los elementos definidos en la presente no excluirá contaminantes traza provenientes del método de aislamiento y purificación, y vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como disolución salina amortiguada con fosfato, conservantes, y similares. El término “que consiste en” denotará la exclusión de más elementos traza que de otros ingredientes y las etapas de los métodos sustanciales para administrar las composiciones de esta invención. Las formas de realización definidas por cada uno de estos términos de transición están dentro del alcance de esta invención.

Todas las designaciones numéricas, por ejemplo pH, temperatura, tiempo, concentración y peso molecular, son aproximaciones que varían (+) o (-) en incrementos de 0,1. Aunque no siempre se indique explícitamente, ha de interpretarse que todas las designaciones numéricas están precedidas por el término “aproximadamente”. También, aunque no siempre se indique explícitamente, ha de comprenderse que los reactivos descritos en la presente se proporcionan meramente a modo de ejemplos, y que en la técnica se conocen equivalentes de aquellos.

Como se usa en la presente memoria, el término “gel” hace referencia a una estructura polimérica tridimensional que en sí misma es insoluble en un líquido particular, pero que puede absorber y retener grandes cantidades del líquido para formar una estructura estable, comúnmente blanda y flexible, pero siempre capaz de retener la

forma de un modo u otro. Cuando el líquido es agua, el gel se conoce como hidrogel. A menos que se indique expresamente lo contrario, el término “gel” se usará en esta solicitud para hacer referencia a estructuras poliméricas que han absorbido un líquido distinto de agua y a estructuras poliméricas que han absorbido agua, y para aquellos expertos en la materia será evidente a partir del contexto si la estructura polimérica es simplemente un “gel” o un “hidrogel”.

El término “líquido polar”, como se usa en la presente memoria, tiene el significado que generalmente le dan aquellos expertos en la materia química. En resumen, un líquido polar es aquel en el que los electrones están distribuidos de forma no pareja entre los átomos de sus moléculas, con lo que se crea un dipolo eléctrico. Para que sea polar, una molécula debe contener por lo menos un átomo que sea más electronegativo que otros átomos en la molécula. Los ejemplos de líquidos polares incluyen, pero sin limitarse a, agua, en la que el átomo de oxígeno tiene una carga negativa parcial y los átomos de hidrógeno contienen una carga positiva parcial, y alcoholes, en los que el resto de O-H está polarizado de forma similar.

Como se usa en la presente memoria, una “partícula de gel” hace referencia a una cantidad microscópica o submicroscópica de un gel en una forma discreta, comúnmente, pero no necesariamente, esférica o sustancialmente esférica. Como se usa en la presente memoria, una “partícula de gel” incluye pequeñas agrupaciones de partículas individuales que se mantienen unidas por fuerzas físicas basadas en enlaces no covalentes, tales como interacciones hidrófilas/hidrófobas y enlaces de hidrógeno, en la que las agrupaciones no afectan de forma adversa la estabilidad de la suspensión de partículas de gel (sistema de suspensión) que las contiene o el comportamiento del polvo de nanopartículas en los métodos de esta invención. Las agrupaciones son el resultado de cambios en la concentración de las partículas de gel en la suspensión y durante la etapa de secado para aislar las nanopartículas. Es decir, a mayores concentraciones es más probable que las partículas individuales se acerquen unas a otras lo suficiente para que las fuerzas basadas en enlaces no covalentes provoquen su coalescencia.

Como se usa en la presente memoria, una “suspensión” hace referencia a una dispersión estable de distribución uniforme de un sólido en un líquido, en la que el sólido no es soluble. Es posible añadirle un agente tensioactivo al líquido para contribuir a la estabilización de la dispersión. Como se usa en la presente memoria, un “sistema en suspensión” hace referencia a una suspensión en la que las partículas de gel de esta invención son el sólido dispersado. “Estable” denota que el sólido permanece uniformemente disperso durante por lo menos 24 horas, a menos que lo someta a fuerzas perturbadoras externas, tales como, pero sin limitarse a, centrifugación o filtración.

Como se usa en la presente memoria, un “agente tensioactivo” tiene el significado generalmente aceptado por aquellos expertos en la materia química. Es decir, un agente tensioactivo es un compuesto soluble que puede ser aniónico, catiónico, bipolar, anfotérico o de carga neutra, y que reduce la tensión superficial del líquido en el que se disuelve, o reduce la tensión interfacial entre dos líquidos, o un líquido y un sólido.

Como se usa en la presente memoria, el término “agregado de forma adaptable y capaz de retener la forma” hace referencia a una estructura formada *in situ* en una herida húmeda o un biomaterial formado *in vivo* en o dentro de un tejido húmedo del organismo, compuesto por una gran cantidad de partículas de gel que se mantienen unidas por fuerzas entre las partículas y entre las partículas y el líquido, tales como, pero sin limitarse a, interacciones hidrófilas/hidrófobas y enlaces de hidrógeno, en el que la estructura se mantiene indefinidamente siempre que permanezca hidratada.

Como se usa en la presente memoria, el término “monómero” tiene el significado que le dan aquellos expertos en la materia química. Es decir, un monómero es un compuesto químico pequeño que puede formar una macromolécula con estructuras repetidas de sí mismas, es decir, un polímero. Dos o más monómeros diferentes pueden reaccionar para formar un polímero en el que cada uno de los monómeros está repetido numerosas veces, en el que el polímero se denomina copolímero para reflejar el hecho de que está compuesto por más de un monómero.

Como se usa en la presente memoria, el término “tamaño”, cuando se emplea para describir una partícula de gel de esta invención, hace referencia al volumen de una partícula esencialmente esférica, representada por su diámetro, que por supuesto está relacionado directamente con su volumen. Cuando se hace referencia a una pluralidad de partículas de gel, el tamaño se refiere al volumen promedio de las partículas en la pluralidad, representadas por su diámetro medio.

Como se usa en la presente memoria, el término “polidispersidad” hace referencia al intervalo de tamaños de las partículas en un sistema en suspensión. Una “polidispersidad estrecha” hace referencia a un sistema en suspensión en el cual el tamaño de las partículas individuales, representadas por sus diámetros, se desvía 10% o menos del diámetro medio de las partículas en el sistema. Si se establece que dos o más pluralidades de partículas en un sistema en suspensión tienen una polidispersidad estrecha, ha de interpretarse que hay dos conjuntos diferentes de partículas, en los que las partículas de cada conjunto tienen un diámetro que no varía más de 10% respecto del diámetro medio de las partículas en dicho conjunto, y que los dos promedios son

claramente diferentes. Un ejemplo no limitativo de un sistema en suspensión de este tipo sería aquel que comprendiera un primer conjunto de partículas en el que cada partícula tuviera un diámetro de $20 \text{ nm} \pm 10\%$, y un segundo conjunto de partículas en el que cada partícula tuviera un diámetro de $40 \text{ nm} \pm 10\%$.

5 Como se usa en la presente memoria, el término “polidispersidad ancha” hace referencia a un sistema en suspensión en el que el tamaño de las partículas individuales de un conjunto de partículas se desvía más de 10% del tamaño medio de las partículas del conjunto.

10 Como se usa en la presente memoria, el término “pluralidad” simplemente hace referencia a más de uno, es decir, dos o más.

15 Como se usa en la presente memoria, una “composición química”, relacionada con una partícula de gel de esta invención, hace referencia a la composición química de los monómeros que se polimerizan para proporcionar las cadenas de polímeros de la partícula, a la composición química y relaciones de los monómeros diferentes si se usan dos o más monómeros para preparar las cadenas de polímeros de las partículas, y/o a la composición química y cantidad de cualquier agente o agentes de reticulación usados para conectar las cadenas de partículas.

20 Como se usa en la presente memoria, una “cadena de partículas” hace referencia a una única molécula de polímero, o si el sistema en el que existe la cadena contiene un agente de reticulación, dos o más moléculas de polímero interconectadas. El número promedio de cadenas de polímero que se reticularán y el número promedio de reticulaciones entre dos cadenas de polímero cualesquiera en una partícula de gel particular dependerá de la cantidad de reticulador en el sistema y de la concentración de cadenas de polímero.

25 Como se usa en la presente memoria, una “sustancia de trabajo” hace referencia a cualquier sustancia que sea ocluida por una partícula de gel, o que sea atrapada en un apósito de agregado capaz de retener la forma o biomaterial de esta invención. Los ejemplos de sustancias de trabajo, sin limitarse a, incluyen agentes biomédicos; sustancias con actividad biológica, tales como agentes farmacéuticos, genes, proteínas, péptidos, polisacáridos, factores de crecimiento, anticuerpos monoclonales, fragmentos de anticuerpos, antígenos, polipéptidos, ADN, ARN, y ribozimas.

30 Como se usa en la presente memoria, la frase “agente farmacéutico” hace referencia a pequeñas moléculas y a compuestos macromoleculares usados como fármacos. Entre las primeras se encuentran, pero sin limitarse a, los antibióticos, las sustancias quimioterapéuticas (en particular, los compuestos de platino y taxol, y sus derivados), los analgésicos, los antidepresivos, los antialérgicos, los antiarrítmicos, los compuestos antiinflamatorios, los estimuladores del SNC, los sedantes, los anticolinérgicos, los antiarterioscleróticos, y similares. Los compuestos macromoleculares incluyen, pero sin limitarse a, anticuerpos monoclonales (mAbs), Fabs, proteínas, péptidos, células, antígenos, ácidos nucleicos, enzimas, factores de crecimiento, y similares. Un agente farmacéutico puede estar dirigido a un uso tópico o sistémico.

40 Como se usa en la presente memoria, un “hidroxi” hace referencia a un grupo -OH.

45 Como se usa en la presente memoria, el término “alquilo” hace referencia a un hidrocarburo alifático saturado de cadena lineal o ramificada, es decir, un compuesto que consiste solamente en carbono e hidrógeno. El tamaño de un alquilo, en término de cuántos átomos de carbono contiene, se indica con la fórmula alquilo (“a”C-“b”C), en la que a y b son números enteros. Por ejemplo, un alquilo (1C-4C) hace referencia a un alquilo de cadena lineal o ramificada que consiste en 1, 2, 3 o 4 átomos de carbono. Un grupo alquilo puede estar sustituido o no sustituido.

50 Como se usa en la presente memoria, el término “alcoxi” hace referencia al grupo -O-alquilo, en el que el alquilo es como se define en la presente memoria. El tamaño de un alcoxi, en término de cuántos átomos de carbono contiene, se indica con la fórmula alcoxi (“a”C-“b”C), en la que a y b son números enteros. Por ejemplo, un alcoxi (1C-4C) hace referencia a un -O-alquilo de cadena lineal o ramificada que consiste en 1, 2, 3 o 4 átomos de carbono. Un grupo alcoxi puede estar sustituido o no sustituido.

55 Como se usa en la presente memoria, un “éster” hace referencia al grupo -C(O)O-alquilo, en el que el alquilo es como se define en la presente.

Como se usa en la presente memoria, un “éter” hace referencia al grupo alquilo-O-alquilo, en el que el alquilo es como se define en la presente.

60 Como se usa en la presente memoria, el “ácido 2-alquenoico” hace referencia al grupo $(R^1)(R^2)C=C(R^3)-C(O)OH$, en el que cada uno de R^1 , R^2 , R^3 se selecciona independientemente de hidrógeno y alquilo, en el que el alquilo es como se define en la presente memoria. Los ejemplos de estos ácidos 2-alquenoicos incluyen, por ejemplo, ácido acrílico, ácido metacrílico, etc.

65 Como se usa en la presente memoria, “2-alquenoato” hace referencia al grupo $(R^1)(R^2)C=C(R^3)-C(O)OH$ -alquilo, en el que cada uno de R^1 , R^2 , R^3 se selecciona independientemente de hidrógeno y alquilo, en el que el alquilo

es como se define en la presente.

Como se usa en la presente memoria, las frases “espacios entre las nanopartículas de hidrogel” o “entre las nanopartículas” hacen referencia al espacio abierto generado cuando las partículas esencialmente esféricas de gel se tocan en sus circunferencias al formar apósitos de agregado capaz de retener la forma de esta invención. El volumen de los espacios puede ser aproximadamente 0,414 veces el radio promedio de las esferas si las esferas tienen una polidispersidad estrecha y se empaquetan en una disposición muy compacta.

Como se usa en la presente memoria, un “agente de reticulación” hace referencia a una entidad química di-, tri-, o tetrafuncional que es capaz de formar enlaces covalentes con los grupos funcionales en las cadenas de polímero, lo que da como resultado una estructura tridimensional.

Un “enlace de hidrógeno” hace referencia a la atracción electrostática entre un átomo de hidrógeno enlazado covalentemente a un átomo muy electronegativo y otro átomo electronegativo que tiene por lo menos un par de electrones solitarios. La fuerza de un enlace de hidrógeno, de aproximadamente 23 kJ (kilojulios) mol⁻¹, se halla entre la de un enlace covalente, de aproximadamente 500 kJ mol⁻¹, y una atracción de Van der Waals, de aproximadamente 1,3 kJ mol⁻¹. Los enlaces de hidrógeno tienen un efecto marcado sobre las características físicas de una composición que puede formarlos. Por ejemplo, el etanol tiene un átomo de hidrógeno enlazado covalentemente a un átomo de oxígeno, que también tiene un par de electrones no compartidos (es decir, un “par solitario”), por lo que el etanol es capaz de formar enlaces de hidrógeno consigo mismo. El etanol tiene un punto de ebullición de 78°C. En general, se espera que los compuestos de pesos moleculares similares tengan puntos de ebullición similares. Sin embargo, el éter dimetilico, que tiene exactamente el mismo peso molecular que el etanol pero no es capaz de formar enlaces de hidrógeno entre sus moléculas, tiene un punto de ebullición de -24°C, casi 100 grados menor que el etanol. Los enlaces de hidrógeno entre las moléculas de etanol son la causa de que el etanol actúe como si tuviera un peso molecular sustancialmente mayor.

Como se usa en la presente memoria, un “excipiente” hace referencia a una sustancia inerte que se le añade a una composición farmacéutica para facilitar su administración. Los ejemplos no limitativos de excipientes incluyen carbonato de calcio, fosfato de calcio, diversos azúcares y tipos de almidón, polímeros solubles en agua, derivados de celulosa, gelatina, aceites vegetales y polietilenglicoles. Un “excipiente farmacéuticamente aceptable” hace referencia a un excipiente que no provoca una irritación significativa en un organismo y no anula la actividad biológica y las propiedades del compuesto administrado.

Como se usa en la presente memoria, la frase “útil en el tratamiento de” significa que se sabe que el agente farmacéutico inhibe directa o indirectamente, preferentemente destruye o desactiva, el agente etiológico de la enfermedad indicada, o por lo menos mejora, preferentemente elimina, los síntomas de esa enfermedad. Con relación a la cicatrización de heridas, se sabe que el agente por lo menos disminuye el tiempo transcurrido hasta el cierre de la herida.

Como se usa en la presente memoria, el término “cáncer” hace referencia neoplasias malignas, las cuales a su vez abarcan un gran grupo de enfermedades que pueden aparecer virtualmente en cualquier tejido compuesto por células que pueden dividirse. La característica básica del cáncer es una anomalía transmisible de las células, que se manifiesta en un control reducido de su crecimiento y su función, lo que da como resultado efectos serios potencialmente mortales sobre el huésped que se manifiestan como crecimientos invasivos y metástasis.

Como se usa en la presente memoria, una “enfermedad ocular” hace referencia a una enfermedad en la cual los ojos no funcionan apropiadamente, por lo que se ve afectada la visión. Los ejemplos de enfermedades oculares incluyen, pero sin limitarse a, glaucoma, degeneración macular, retinopatía diabética y cataratas. Los ejemplos de agentes farmacéuticos útiles en el tratamiento de las enfermedades oculares incluyen, pero sin limitarse a, agentes antiinflamatorios, antibióticos, antimicrobianos y agentes que disminuyen la presión.

Como se usa en la presente memoria, una “infección” hace referencia a un estado mórbido causado por un microorganismo tal como, pero sin limitarse a, una bacteria, un virus, un prión, un hongo, una ameba o un protozoo. Los ejemplos de agentes farmacéuticos útiles en el tratamiento de las infecciones incluyen, pero sin limitarse a, antimicrobianos, antibióticos y agentes bacteriostáticos.

Los apósitos de agregados capaces de retener la forma o biomateriales de esta invención pueden manipularse usando las descripciones en la presente memoria, con el fin de que puedan ocluir y/o atrapar virtualmente cualquier agente farmacéutico actualmente conocido, o que pueda ser conocido en el futuro, por aquellos expertos en la materia como eficaces en el tratamiento y/o prevención de cualquiera de las enfermedades anteriores, y todos estos agentes farmacéuticos están dentro del alcance de esta invención.

Como se usa en la presente memoria, el término “aproximadamente” denota $\pm 15\%$ del valor modificado con el término.

Como se usa en la presente memoria, el término “*in situ*” hace referencia al proceso o el procedimiento de formación de un apósito para heridas directamente en un lugar en o dentro de un mamífero, en particular un ser humano.

5 Como se usa en la presente memoria, el término “biomaterial” hace referencia al material capaz de retener la forma y de forma adaptable que se forma cuando el polvo de nanopartículas de hidrogel se introduce *in vivo* en el tejido de una herida húmeda en un mamífero, en particular un ser humano.

10 Como se usa en la presente memoria, el término “interacciones hidrófilas/hidrófobas” hace referencia a la asociación inter o intramolecular de entidades químicas a través de fuerzas físicas, con lo que los compuestos hidrófilos o las regiones hidrófilas de los compuestos tienden a asociarse con otros compuestos hidrófilos u otras regiones hidrófilas de los compuestos, y los compuestos hidrófobos o las regiones hidrófobas de los compuestos tienden a asociarse con otros compuestos hidrófobos u otras regiones hidrófobas de los compuestos.

15 Como se usa en la presente memoria, el término “ocluye” tiene el significado que generalmente le dan aquellos expertos en la materia química, es decir, que absorbe y retiene una sustancia durante un período de tiempo. Con relación a esta invención, las sustancias pueden ser absorbidas y retenidas, es decir, ocluidas, por las partículas de gel de esta invención durante su formación.

20 Como se usa en la presente memoria, el término “atrapado” hace referencia a la retención durante un período de tiempo de una sustancia en los espacios entre las partículas de gel que constituyen los apósitos de agregados capaces de retener la forma o biomateriales de esta invención.

25 Como se usa en la presente memoria, el término “peso molecular promedio” hace referencia al peso de las cadenas de polímeros individuales o las cadenas de polímeros reticuladas de esta invención. Para los fines de esta invención, el peso molecular promedio se determina por cromatografía de permeación sobre gel con una detección por dispersión de luz láser.

30 Como se usa en la presente memoria, los “factores de crecimiento” hacen referencia a determinados polipéptidos que, cuando se unen mediante los receptores de factores de crecimiento en la superficie de las células, las estimulan para que crezcan en tamaño y se dividan. Los receptores de factores de crecimiento son específicos para cada factor de crecimiento, por lo que solamente las células que expresan el receptor exacto para un factor de crecimiento particular serán estimuladas por dicho factor de crecimiento. Los ejemplos de factores de crecimiento incluyen, pero sin limitarse a, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF).

40 Como se usa en la presente memoria, una “matriz de tejido” hace referencia a una matriz extracelular tridimensional artificial muy porosa que se usa *in vivo* como un esqueleto al que pueden unirse las células y crecer para regenerar los tejidos perdidos debido a la herida o la enfermedad.

45 Como se usa en la presente memoria, una “herida húmeda” hace referencia a cualquier herida de la cual sale un fluido, que puede ser sangre o un exudado.

Como se usa en la presente memoria, un “fluido corporal” hace referencia a cualquier líquido presente en los tejidos corporales de los mamíferos, preferentemente el hombre.

50 Como se usa en la presente memoria, un “exudado” hace referencia al fluido presente en el sitio de una herida, que está compuesto sustancialmente por agua y otros materiales biológicos, tales como leucocitos, fibrina y suero.

55 Como se usa en la presente memoria, “un material compuesto de sustancia de trabajo/polvo en partículas” hace referencia a una mezcla del polvo seco de nanopartículas y cualquier sustancia de trabajo y/o excipiente farmacéutico.

Realizaciones

60 La presente invención proporciona un polvo seco de nanopartículas poliméricas biocompatibles; un procedimiento para preparar el polvo seco de nanopartículas poliméricas biocompatibles; y el producto del polvo seco para uso en el tratamiento de un sitio de una herida húmeda *in situ* o *in vivo*. Estas y otras formas de realización se tratan a continuación en forma detallada.

65 En una forma de realización, la presente invención proporciona un polvo seco de nanopartículas poliméricas preparadas por polimerización de una cantidad eficaz de un monómero o de dos o más monómeros seleccionados de entre el grupo que consiste en un ácido 2-alquenoico, un 2-alquenoato de hidroxil alquilo (2C-

4C), un 2-alquenoato de dihidroxi alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de hidroxialcoxi (2C-4C) alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de alcoxi (1C-4C) alcoxi (2C-4C) alquilo (2C-4C) o un 2-alquenoato de vicinil epoxi alquilo (1C-4C), en un líquido polar o una mezcla de dos o más líquidos miscibles, por lo menos uno de los cuales es polar, y una cantidad eficaz de un tensioactivo para producir una suspensión de una pluralidad de nanopartículas poliméricas, en la que las nanopartículas poliméricas tienen un diámetro medio de menos de 1×10^{-6} m. Después de la polimerización, los líquidos se eliminan de la suspensión mediante un procedimiento que comprende secado por pulverización o liofilización para prevenir la agregación, y de manera que la cantidad del o de los líquidos remanentes en el polvo seco es inferior al 10% en peso, en la que el porcentaje se basa en el peso total del polvo seco.

En algunas formas de realización, las partículas de gel de los métodos antes descritos tienen un diámetro medio de aproximadamente 1 nanómetro hasta aproximadamente 1 micrómetro, mientras que en otras las partículas de gel tienen un diámetro medio de aproximadamente 20 hasta aproximadamente 800 nanómetros. En formas de realización alternativas, el diámetro medio de las partículas de gel es de aproximadamente 100 hasta aproximadamente 700 nanómetros, o como alternativa desde aproximadamente 40 hasta aproximadamente 300 nanómetros, o como alternativa desde aproximadamente 100 hasta aproximadamente 800 nanómetros, o como alternativa desde aproximadamente 300 hasta aproximadamente 800 nanómetros, o como alternativa desde aproximadamente 600 hasta aproximadamente 800 nanómetros, o como alternativa desde aproximadamente 50 hasta aproximadamente 700 nanómetros. En todavía otras formas de realización, el diámetro medio de las partículas de gel es mayor que aproximadamente 35 nanómetros, o aún adicionalmente 55 nanómetros, o aún adicionalmente mayor que aproximadamente 75 nanómetros, o aún adicionalmente mayor que aproximadamente 100 nanómetros, o aún adicionalmente mayor que aproximadamente 150 nanómetros, o aún adicionalmente mayor que aproximadamente 200 nanómetros, o aún adicionalmente mayor que aproximadamente 250 nanómetros, 300 nanómetros, o aún adicionalmente mayor que aproximadamente 350 nanómetros, o aún adicionalmente mayor que aproximadamente 400 nanómetros.

En algunas formas de realización, las partículas de gel de los métodos antes descritos tienen aproximadamente el mismo diámetro medio, están formadas a partir de uno o más monómeros y tienen una polidispersidad estrecha. En algunas formas de realización, la pluralidad de partículas de gel de los métodos descritos anteriormente está en una concentración en el intervalo del 5-20% que da como resultado la formación de agrupaciones. Concentraciones alternativas dentro del alcance de la presente invención incluyen el intervalo de aproximadamente 5-10%, o como alternativa aproximadamente 5-15%, o como alternativa aproximadamente 10-20%, o como alternativa aproximadamente 15-20%, o como alternativa aproximadamente 10-15%, o como alternativa aproximadamente 6-19%, o como alternativa aproximadamente 7-18%, cada una de las cuales da como resultado la formación de agrupaciones. En algunas formas de realización, las pluralidades de partículas de gel de los métodos antes descritos tienen diámetros promedio diferentes, están formadas a partir de uno o más monómeros y tienen una polidispersidad estrecha, mientras que en otras tienen una polidispersidad amplia.

En otra forma de realización, el polvo seco se obtiene añadiendo una o más primeras sustancias de trabajo en una cantidad eficaz para dar un líquido que contiene la primera sustancia de trabajo, en el que después de la polimerización, una porción del líquido que contiene la primera sustancia de trabajo es ocluida por las nanopartículas poliméricas, y después añadiendo una o más segundas sustancias de trabajo en una cantidad eficaz a las nanopartículas poliméricas secas, y mezclando en seco para dar un polvo en partículas que contiene la segunda sustancia de trabajo, en el que las primeras sustancias de trabajo pueden ser iguales o diferentes a las segundas sustancias de trabajo.

En otra forma de realización, el polvo seco se obtiene añadiendo de 0,01 a 10 por ciento en moles de un tensioactivo a un sistema de polimerización que comprende un monómero, o dos o más monómeros diferentes, en el que el monómero o por lo menos uno de los dos o más monómeros comprende(n) uno o más grupos hidroxil y/o uno o más grupos éster, en un líquido polar o una mezcla de líquidos polares, en el que el líquido polar o por lo menos uno de los dos o más líquidos polares comprende(n) uno o más grupos hidroxil, y polimerizando el o los monómeros para formar una pluralidad de nanopartículas poliméricas, comprendiendo cada partícula una pluralidad de cadenas de polímero, en el que la adición se hace en ausencia de un agente de reticulación, y el polímero o copolímero no reticulado resultante es insoluble en agua pero hinchable en agua, y secando las nanopartículas para obtener el polvo seco. En formas de realización alternativas, la cantidad eficaz del tensioactivo es desde aproximadamente 0,01 por ciento en peso hasta aproximadamente 0,1 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 0,01 por ciento en peso hasta aproximadamente 0,2 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 0,01 por ciento en peso hasta aproximadamente 0,3 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 0,01 por ciento en peso hasta aproximadamente 0,4 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 0,1 por ciento en peso hasta aproximadamente 1,0 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 0,1 por ciento en peso hasta aproximadamente 3,0 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 0,1 por ciento en peso hasta aproximadamente 5,0 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 0,1 por ciento en peso hasta aproximadamente 7,0 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 0,1 por ciento en peso hasta aproximadamente 9,0 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 0,02 por ciento en peso hasta aproximadamente 9,5 por ciento en peso.

En otra forma de realización, el o los monómeros para el procedimiento descrito anteriormente se seleccionan de entre el grupo que consiste en un ácido 2-alquenoico, un 2-alquenoato de hidroxí alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de dihidroxí alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de hidroxí alcoxi (2C-4C) alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de alcoxi (1C-4C) alcoxi (2C-4C) alquilo (2C-4C) y un 2-alquenoato de vicinil epoxi alquilo (1C-4C), y una combinación de dos o más de los mismos. En otra forma de realización, el o los monómeros se seleccionan de entre el grupo que consiste en ácido acrílico, ácido metacrílico, acrilato de 2-hidroxietilo, metacrilato de 2-hidroxietilo, monoacrilato de dietilenglicol, monometacrilato de dietilenglicol, acrilato de 2-hidroxipropilo, metacrilato de 2-hidroxipropilo, acrilato de 3-hidroxipropilo, metacrilato de 3-hidroxipropilo, monoacrilato de dipropilenglicol, monometacrilato de dipropilenglicol, metacrilato de 2,3-dihidroxipropilo, acrilato de glicidilo, metacrilato de glicidilo, y una combinación de dos o más de los mismos. En otra forma de realización, el o los monómeros se seleccionan de entre el grupo que comprende ácido metacrílico, metacrilato de 2-hidroxietilo, metacrilato de 2-hidroxipropilo, metacrilato de 3-hidroxipropilo, metacrilato de glicerol, y una combinación de dos o más de los mismos.

En otra forma de realización, el o los líquidos para el procedimiento descrito anteriormente se seleccionan de entre el grupo que consiste en agua, un alcohol (1C-10C), un poliol (2C-8C), un éter alquílico (1C-4C) de un poliol (2C-8C), un éster de ácido (1C-4C) de un poliol (2C-8C), un polióxido de etileno terminado en hidroxí, un polialquilenglicol y un éster hidroxialquílico (2C-4C) de un ácido mono, di o tricarbónico. En otra forma de realización, el o los líquidos se seleccionan de entre el grupo que consiste en agua, metanol, etanol, alcohol isopropílico, etilenglicol, dietilenglicol, trietilenglicol, polietilenglicol 200-600, propilenglicol, dipropilenglicol, 1,4-butanodiol, 2,3-butanodiol, 1,6-hexanodiol, 2,5-hexanodiol, éter monometílico de etilenglicol, éter monoetilico de etilenglicol, éter de metilcelosolve, monoacetato de etilenglicol, éter monometílico de propilenglicol, glicerina, monoacetato de glicerol, citrato de tri(2-hidroxietilo), oxalato de di(hidroxipropilo), diacetato de glicerilo, y monobutirato de glicerilo. En una forma de realización particular, el líquido es agua.

En otra forma de realización, el polvo seco se obtiene mediante un procedimiento que comprende añadir de 0,01 a 10 por ciento en moles de un tensioactivo a un sistema de polimerización que comprende un monómero, o dos o más monómeros diferentes, en el que el monómero o por lo menos uno de los dos o más monómeros comprende(n) uno o más grupos hidroxí y/o uno o más grupos éster, en un líquido polar o una mezcla de líquidos polares, en el que el líquido polar o por lo menos uno de los dos o más líquidos polares comprende(n) uno o más grupos hidroxí; añadir de 0,01 a 10 por ciento en moles de un tensioactivo al sistema de polimerización; polimerizar el o los monómeros para formar una pluralidad de nanopartículas de gel, comprendiendo cada partícula una pluralidad de cadenas de polímero, de modo que el polímero o copolímero no reticulado resultante es insoluble en agua pero hinchable en agua, y secar las nanopartículas para obtener el polvo seco, en el que el procedimiento comprende además añadir desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 15% por ciento en moles de un agente de reticulación al sistema de polimerización que da como resultado la reticulación de las cadenas de polímero. El agente de reticulación se selecciona de entre el grupo que consiste en diacrilato de etilenglicol, dimetacrilato de etilenglicol, dimetacrilato de 1,4-dihidroxibutano, dimetacrilato de dietilenglicol, dimetacrilato de propilenglicol, dimetacrilato de dietilenglicol, dimetacrilato de dipropilenglicol, diacrilato de dietilenglicol, diacrilato de dipropilenglicol, divinilbenceno, diviniltolueno, tartrato de dialilo, maleato de dialilo, tartrato de divinilo, trialil melamina, N,N'-metilen bisacrilamida, maleato de dialilo, éter divinílico, citrato de 1,3-dialilo y 2-(2-hidroxietilo), citrato de vinil alilo, maleato de alil vinilo, itaconato de dialilo, itaconato de di(2-hidroxietilo), divinil sulfona, hexahidro-1,3,5-trialil triazina, fosfito de trialilo, bencenofosfonato de dialilo, aconitato de trialilo, citraconato de divinilo, trimetacrilato de trimetilolpropano y fumarato de dialilo.

En otra forma de realización, las cadenas de polímero reticuladas tienen un peso molecular promedio de aproximadamente 3.000 hasta aproximadamente 2.000.000. En formas de realización alternativas, las cadenas de polímero reticuladas tienen un peso molecular promedio de aproximadamente 3.000 hasta aproximadamente 200.000, o como alternativa de aproximadamente 3.000 hasta aproximadamente 20.000, o como alternativa de aproximadamente 30.000 hasta aproximadamente 2.000.000, o como alternativa de aproximadamente 300.000 hasta aproximadamente 2.000.000, o como alternativa de aproximadamente 100.000 hasta aproximadamente 1.000.000, o como alternativa de aproximadamente 50.000 hasta aproximadamente 1.500.000.

En otra forma de realización, el procedimiento descrito anteriormente comprende además añadir una cantidad eficaz para oclusión de una o más sustancias de trabajo al o a los líquidos polares del sistema de polimerización antes de la polimerización. En otra forma de realización, la cantidad eficaz de las nanopartículas de gel que contienen la sustancia de trabajo ocluye desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 90 por ciento en peso del líquido que contiene la o las sustancias de trabajo. En formas de realización alternativas, la cantidad eficaz de las partículas de gel que contienen la sustancia de trabajo ocluye desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 90 por ciento en peso del líquido que contiene la sustancia de trabajo, o como alternativa desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 90 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 70 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 50 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 20 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 50 por ciento en peso.

En otra forma de realización, el método comprende añadir una cantidad eficaz de una o más primeras sustancias de trabajo al sistema de polimerización para dar un líquido que contiene la primera sustancia de trabajo, en el que después de la polimerización, una porción del líquido que contiene la primera sustancia de trabajo es ocluida por las nanopartículas poliméricas; y añadir una cantidad eficaz de una o más segundas sustancias de trabajo al polvo en partículas y mezclar en seco para dar un polvo en partículas que contiene la segunda sustancia de trabajo, en el que las primeras sustancias de trabajo pueden ser iguales o diferentes a las segundas sustancias de trabajo. En otra forma de realización, de 0,1 a 90 por ciento en peso de las primeras sustancias de trabajo es ocluido por la pluralidad de partículas de hidrogel, y de 0,1 a 90 por ciento en peso de la o las segundas sustancias de trabajo queda atrapado entre las nanopartículas.

En otra forma de realización, se añaden una o más sustancias de trabajo al polvo seco y se mezcla para proporcionar un material compuesto de sustancia(s) de trabajo/polvo en partículas. En otra forma de realización, el material compuesto de sustancia(s) de trabajo/polvo en partículas contiene desde aproximadamente 1 a 90 por ciento en peso de sustancia(s) de trabajo.

En otra forma de realización, la o las sustancias de trabajo comprenden uno o más agentes biomédicos, que pueden ser iguales o diferentes. En otra forma de realización, el o los agentes biomédicos comprende(n) células, plaquetas o uno o más materiales de matriz para el crecimiento de tejidos. En otra forma de realización, el uno o más agentes biomédicos comprende(n) uno o más agentes farmacéuticos. En otra forma de realización, el o los agentes farmacéuticos comprenden además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. En otra forma de realización, el o los agentes farmacéuticos comprenden un péptido, una proteína o un polisacárido. En otra forma de realización, el o los agentes farmacéuticos son útiles para el tratamiento de heridas, cáncer, dolor, infección o enfermedades del ojo. En otra forma de realización, el o los agentes farmacéuticos son factores de crecimiento.

En otra forma de realización, el método comprende además añadir uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables al polvo seco. En una forma de realización, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables representan de aproximadamente 1 hasta aproximadamente 50 por ciento en peso del polvo seco. En formas de realización alternativas, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables comprenden desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 50 por ciento en peso del polvo seco, o como alternativa desde aproximadamente 20 hasta aproximadamente 50 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 30 hasta aproximadamente 50 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 40 hasta aproximadamente 50 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 1,0 hasta aproximadamente 40 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 1,0 hasta aproximadamente 30 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 1,0 hasta aproximadamente 20 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 1,0 hasta aproximadamente 10 por ciento en peso, o como alternativa desde aproximadamente 5,0 hasta aproximadamente 45 por ciento en peso.

En otra forma de realización, el o los excipientes farmacéuticamente aceptables son materiales de carga solubles en agua.

Las composiciones de la presente invención son útiles para tratar heridas mediante la aplicación del polvo seco de nanopartículas poliméricas preparadas con un método que comprende polimerizar una cantidad eficaz de un monómero o de dos o más monómeros seleccionados de entre el grupo que consiste en un ácido 2-alquenoico, un 2-alquenoato de hidroxil alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de dihidroxil alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de hidroxil alcoxi (2C-4C) alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de alcoxi (1C-4C) alcoxi (2C-4C) alquilo (2C-4C) o un 2-alquenoato de vinil epoxi alquilo (1C-4C), en un líquido polar o una mezcla de dos o más líquidos miscibles, por lo menos uno de los cuales es polar, y una cantidad eficaz de un tensioactivo, y liofilizar para eliminar líquidos de modo que la cantidad de líquido remanente en las nanopartículas poliméricas sea inferior al 10% p/p. En otra forma de realización, el polvo seco comprende además uno o más materiales de matriz para el crecimiento de tejidos o agente o agentes farmacéuticos. En otra forma de realización, el polvo seco comprende además colágeno, ácido hialurónico, agente o agentes farmacéuticos útiles para el tratamiento de heridas, para el tratamiento del cáncer, para el tratamiento del dolor, para el tratamiento de enfermedades oculares, o el o los agentes farmacéuticos que son factores de crecimiento y antibióticos. En otra forma de realización, el agente farmacéutico es lidocaína, eritromicina, doxiciclina o rifampicina. En otra forma de realización, los agentes farmacéuticos son polipéptidos VEGF y PDGF.

Los apósitos y biomateriales para heridas de la presente invención se pueden formar polimerizando primero monómeros específicos en un sistema de suspensión que comprende un líquido o una mezcla de líquidos polares miscibles y un tensioactivo, que da como resultado nanopartículas discretas de gel, en el que las partículas después se purifican, se aíslan, se secan y se aplican a la herida húmeda formando apósitos *in situ* que quedan integrados, adaptados a la forma y manteniendo la forma. Las propiedades químicas y físicas únicas de estas nanopartículas de hidrogel les permiten absorber parte de la sangre o del exudado de la herida, provocando su coalescencia y su cohesión en forma de un apósito integrado. Es decir, las partículas de la

presente invención, una vez expuestas a un líquido polar como sangre o exudado, que consiste primordialmente en agua, leucocitos, fibrina y otros compuestos biológicos, absorben parte del líquido, fusionan y mantienen su cohesión por medio de fuertes interacciones entre partículas y entre partículas y líquido tales como, sin limitación, interacciones hidrófobas-hidrófilas y enlaces de hidrógeno, estos últimos en virtud del hecho de que por lo menos uno de los monómeros usados para producir las cadenas poliméricas que constituyen la partícula de gel de la presente invención debe comprender uno o más grupos hidroxilo y/o uno o más grupos éster. Además, parte del exudado no absorbido permanece atrapado en los espacios vacíos entre las partículas después de su coalescencia y, puesto que el exudado es un material polar, se forman fuertes enlaces de hidrógeno entre las partículas y el exudado. Un requisito importante para la formación de apósitos para heridas *in situ* usando polvo en nanopartículas seco es que el sitio de la herida esté húmedo, es decir, que haya fluido de la herida presente, ya que de otro modo no puede producirse la agregación de las partículas *in situ*.

Sin embargo, también es posible formar un apósito para heridas de agregado que retiene la forma, con un agente medicinal o sin él, en un tejido corporal que no esté húmedo o que libere una cantidad mínima de exudado. En este caso, usando las enseñanzas de la antes citada publicación de solicitud de patente US n° US 2004/0086548A1 y las enseñanzas de la presente memoria, el polvo en nanopartículas seco se mezcla con un líquido polar o con una mezcla de dichos líquidos y se aplica inmediatamente a un tejido corporal.

Las nanopartículas fusionan en un apósito de agregado que retiene la forma y se adapta a la forma, en virtud de las fuertes interacciones partícula-partícula y partícula-líquido en la forma antes descrita. Los únicos requisitos para utilizar estos tipos de apósitos son que el disolvente polar o la mezcla de dichos disolventes sean seguros, no tóxicos y estén aprobados por la FDA para usos tópicos y sistémicos.

Además, también se puede añadir un disolvente volátil a una mezcla del polvo seco en nanopartículas y un líquido polar, plastificante o mezcla de dichos líquidos, homogeneizar los componentes y envasar la mezcla resultante en un envase que se pueda sellar para impedir la evaporación del disolvente. Al aplicar a la superficie de una herida no exudativa o de piel intacta, el disolvente volátil se evapora dejando en el sitio de aplicación un apósito de agregado que retiene la forma.

Las nanopartículas de gel se preparan en un sistema de polimerización que consiste en uno o más monómeros seleccionados generalmente entre aquellos monómeros que, al ser polimerizados, proporcionan un polímero que es insoluble en agua, esté o no reticulado, y que es capaz de formar enlaces de hidrógeno. Las clases generales de monómeros que poseen esta capacidad incluyen, sin limitación, un 2-alquenoato de hidroxilo alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de dihidroxilo alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de hidroxilo alcoxi (2C-4C) alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de alcoxi (1C-4C) alcoxi (2C-4C) alquilo (2C-4C) y un 2-alquenoato de vicinil epoxi alquilo (1C-4C), y sus combinaciones.

Los monómeros incluyen acrilato de 2-hidroxietilo, metacrilato de 2-hidroxietilo, monoacrilato de dietilenglicol, monometacrilato de dietilenglicol, acrilato de 2-hidroxipropilo, metacrilato de 2-hidroxipropilo, acrilato de 3-hidroxipropilo, metacrilato de 3-hidroxipropilo, metacrilato de glicerol, monometacrilato de dipropilenglicol, monoacrilato de dipropilenglicol, metacrilato de glicidilo, metacrilato de 2,3-dihidroxipropilo, y sus mezclas. Monómeros en particular son el metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA), metacrilato de 2-hidroxipropilo, metacrilato de 3-hidroxipropilo y el metacrilato de glicerol.

Se pueden añadir al sistema de polimerización comonómeros que no tienen capacidad de formar enlaces de hidrógeno, para modificar las características físicas y químicas de las partículas de gel resultantes. Ejemplos de comonómeros que se pueden usar junto con los monómeros anteriores son, sin limitación, acrilamida, N-metilmetacrilamida, N,N-dimetacrilamida, metilvinilpirrolidona, metacrilato de N,N-dimetilaminoetilo, acrilato de N,N-dimetilaminoetilo. Otros comonómeros capaces de formar enlaces de hidrógeno, sin limitación, como el ácido acrílico y el ácido metacrílico, también se pueden añadir al sistema de polimerización para modificar si se desea el carácter iónico y el pH de las nanopartículas de gel resultantes.

Además, se pueden añadir a la reacción de polimerización aditivos no polimerizantes, tales como, sin limitación, alcanos de alquilo, como por ejemplo butirato de metilo, acetato de butilo, etc., a fin de introducir otras modificaciones a las características físicas y químicas de las partículas de gel resultantes.

También se puede añadir al sistema de polimerización un agente de reticulación para fortalecer la estructura tridimensional de las partículas de gel resultantes. El agente de reticulación puede ser no degradable, tal como, sin limitación, diacrilato o dimetacrilato de etilenglicol, dimetacrilato de 1,4-butileno, dimetacrilato de dietilenglicol, dimetacrilato de propilenglicol, dimetacrilato de dietilenglicol, dimetacrilato de dipropilenglicol, diacrilato de dietilenglicol, diacrilato de dipropilenglicol, divinilbenceno, diviniltolueno, trietil melamina, N,N'-metilen bisacrilamida, maleato de dialilo, éter divinílico, citrato de dialil monoetilenglicol, citrato de vinil alilo, maleato de alil vinilo, divinilsulfona, hexahidro-1,3,5-trialiltriazina, fosfito de trialilo, fosfonato de dialil benceno, un poliéster de anhídrido maleico con trietilenglicol, aconitrato de dialilo, citraconato de divinilo, trimetacrilato de trimetilolpropano y fumarato de dialilo. Otros agentes de reticulación no degradables se harán evidentes para los expertos en la materia sobre la base de las descripciones de la presente y están comprendidos en el alcance de la presente invención.

La composición química de los polímeros que constituyen las partículas individuales de gel que comprenden los agregados para apósitos de heridas formados *in situ* son estables y no se degradan fácilmente bajo un amplio intervalo de condiciones ambientales o fisiológicas. Los apósitos de agregado formados *in situ* permanecen en el lugar hasta que la herida cicatriza y/o hasta que la herida se seca. Por otra parte, los apósitos de agregado y/o biomateriales formados *in vivo* se pueden diseñar, en base a la aplicación específica, de modo que pierdan resistencia o integridad bajo condiciones seleccionadas y de manera controlada. Por ejemplo, sin limitación, seleccionando aditivos apropiados, pueden quedar atrapados en la matriz de agregado a medida que se va formando, de modo tal que los apósitos de agregado resultantes se vuelvan más porosos a medida que el o los aditivos cambian su estructura, composición y/o reactividad ante la exposición a una variedad de condiciones ambientales y/o fisiológicas.

Cuando el líquido que se usa en el sistema de polimerización de la presente invención es agua, las partículas son partículas de hidrogel.

Ciertos líquidos orgánicos también se pueden usar en el sistema de polimerización de la presente invención. En general deberán tener puntos de ebullición por encima de aproximadamente 60°C, o como alternativa por encima de aproximadamente 80°C, 100°C, 120°C, 140°C 160°C, 180°C, o aproximadamente 200°C. Líquidos orgánicos de la presente que se pueden usar son líquidos orgánicos biológicamente inertes, no tóxicos, polares y miscibles en agua, tales como, sin limitación, etilenglicol, propilenglicol, dipropilenglicol, 1,3-butanodiol, 1,4-butanodiol, 2,5-hexanodiol, 2-metil-2,4-pentanodiol, 2,4-heptanodiol, 2-etil-1,3-hexanodiol, dietilenglicol, trietilenglicol, tetraetilenglicoles, y los polietilenglicoles superiores y otros homopolímeros y copolímeros de oxialquileo con un peso molecular hasta aproximadamente 2000, preferentemente hasta aproximadamente 1600. Por ejemplo, se pueden usar, sin limitación, polímeros de óxido de etileno terminado en hidroxilo con pesos moleculares promedio de 200-1000, polímeros de oxietilenoisopropileno poliol (especialmente glicol) solubles en agua con pesos moleculares hasta aproximadamente 1500, preferentemente hasta aproximadamente 1000, monoacetina, glicerina, citrato de tri(hidroxietilo), éter monometílico de etilenglicol, oxalato de di(hidroxipropilo), acetato de hidroxipropilo, triacetato de glicerilo, tributirato de glicerilo, aductos líquidos de sorbitol y óxido de etileno, aductos líquidos de glicerina y óxido de etileno, éter monoetilico de dietilenglicol, y diacetato de etilenglicol.

En una forma de realización de la presente invención, partículas de hidrogel con tamaños nominales en el intervalo de 10^{-9} metros a 10^{-6} m se producen por polimerización redox, por radicales libres, o fotoiniada, en agua que contiene un tensioactivo. De esta manera se pueden producir partículas de polidispersidad relativamente estrecha. En el caso en que, para una aplicación particular, tal como, sin limitación, resulta deseable la liberación de sustancias biológicamente activas a lo largo de un período de tiempo prolongado, puede resultar ventajoso producir y aislar partículas de polidispersidad amplia que comprendan un apósito medicado para heridas formado *in situ* o material bioterapéutico producido *in vivo*.

Si, en cambio, el objetivo es la liberación secuencial de un fármaco o la liberación por ráfagas en diferentes momentos y no la liberación continua, se pueden usar dos o más grupos de partículas de diferentes tamaños pero con polidispersidad estrecha dentro de cada tamaño.

Por ejemplo, sin limitación, se pueden formar partículas de gel de diferentes tamaños pero con polidispersidad estrecha usando las técnicas descritas en la presente en sistemas de polimerización separados que contienen una determinada sustancia biológicamente activa. Las partículas que contienen las sustancias, después de su aislamiento y secado, se pueden combinar entonces en forma de polvo único y se pueden aplicar a una herida y producir un apósito medicado que retiene la forma. Debido a la diferencia de tamaño de las partículas, la sustancia biológicamente activa será liberada en ráfagas en momentos diferentes. De forma similar, usando la misma técnica pero añadiendo una primera sustancia biológicamente activa a uno de los sistemas de polimerización y una sustancia biológicamente activa diferente al segundo sistema de polimerización, se obtendrán partículas que liberarán su sustancia activa particular en momentos diferentes, es decir, con una liberación de tipo secuencial.

Las sustancias biológicamente activas también se pueden introducir en los apósitos para heridas y biomateriales descritos en la presente invención mezclando nanopartículas aisladas y secas con dichas diversas sustancias activas. Después de su aplicación a una herida húmeda, el apósito se forma *in situ* y parte de la o de las sustancias activas queda atrapada en los espacios vacíos entre las partículas que forman el apósito. Estas sustancias activas serán liberadas del apósito a lo largo de un período de tiempo prolongado para mejorar la cicatrización de la herida y la o las velocidades de liberación serán afectadas por las propiedades físicas de la sustancia activa, tal como su peso molecular y su solubilidad en agua, además del tamaño de las nanopartículas que forman el apósito. Es evidente para el experto en la materia que se pueden producir una variedad de apósitos medicados y/o biomateriales, por ejemplo usando nanopartículas secas de diversos tamaños que contienen sustancias activas ocluidas en combinación con o sin otros compuestos biológicamente activos que se mezclan juntos en forma de polvo y se aplican a una herida, y todos dichos apósitos están dentro del alcance de la presente invención.

Hay numerosos factores que afectarán las características físicas y químicas de los agregados de la presente invención. Uno es el peso molecular del polímero usado para formar las nanopartículas individuales de hidrogel. Se ha comprobado que las partículas de hidrogel integradas por polímeros de bajo peso molecular generalmente no forman apósitos de agregado para heridas estables y fuertes *in situ*. Por lo tanto, en la presente invención se usan polímeros de mayor peso molecular. Aunque el uso de agentes de reticulación puede mejorar algunos de los problemas asociados con los polímeros de bajo peso molecular, un exceso de agente de reticulación puede ser perjudicial. Si las partículas de hidrogel contienen una gran cantidad de agente de reticulación, y/o si el agente de reticulación es altamente hidrófobo, la red polimérica resultante puede no permitir la absorción y oclusión óptimas de la sangre o el exudado, dando como resultado apósitos para heridas menos convenientes. Por lo tanto, los polímeros que comprenden las partículas de gel de la presente invención tienen pesos moleculares en el intervalo de aproximadamente 3.000 hasta aproximadamente 2.000.000 Da. Esto se puede obtener seleccionando un monómero comercial adecuado, usando un sistema de polimerización que da polímeros dentro del intervalo deseado de pesos moleculares, o incluyendo un reticulador en el sistema de polimerización para cohesionar cadenas poliméricas cortas que alcancen el intervalo deseado de pesos moleculares.

El tamaño de las partículas también afectará las características de los apósitos de agregado para heridas. Se ha determinado que las partículas de gel más pequeñas generalmente absorberán y atraparán líquido más fácil y rápidamente debido a su superficie y darán una matriz más resistente del apósito. Se pueden usar partículas de gel con tamaños, nuevamente caracterizados por sus diámetros promedio, en el intervalo de aproximadamente 1 hasta aproximadamente 1.000 nm, o como alternativa desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 800 nm.

Si se usa un agente de reticulación, su composición química y la cantidad utilizada, es decir, la densidad resultante de reticulación, afectará las características de las partículas como se describió anteriormente y, en consecuencia, afectará las características del apósito para heridas formado. Por ejemplo, un exceso de reticulador dará cadenas de polímero de mayor peso molecular, pero también puede dar lugar a un exceso de características hidrófobas y dominios hidrófobos en todas las nanopartículas del hidrogel, limitando así las fuertes interacciones entre partículas y entre partícula y líquido que son críticas, tales como, sin limitación, las interacciones hidrófoba-hidrófila y la formación de enlaces de hidrógeno que ocurren durante la formación de los apósitos para heridas preparados *in situ* sobre una herida o en los biomateriales formados *in vivo*. La cantidad de agente de reticulación usada en la preparación de las partículas de gel de la presente invención está preferentemente en el intervalo de aproximadamente 0,001 hasta aproximadamente 10, preferentemente aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 2 por ciento en moles de monómero.

La composición química y la cantidad del tensioactivo presente en el polvo seco en nanopartículas aislado afectarán la velocidad de agregación cuando quede expuesto a un líquido polar y las características físicas y químicas de los apósitos de agregado para heridas resultantes de la presente invención. Durante el proceso de aislamiento, se requiere cierta cantidad de tensioactivo para prevenir la autoagregación de las partículas a medida que se van concentrando durante el ciclo de secado. Sin embargo, un exceso de tensioactivo impedirá que las partículas secas formen agregados óptimos de apósito para heridas al quedar expuestas a la sangre, el exudado de las heridas o a otros líquidos polares. La cantidad de tensioactivo presente en el polvo en nanopartículas está preferentemente en el intervalo de aproximadamente el 0,1 al 6 por ciento en peso del polvo en nanopartículas. También es importante señalar que los procesos de aislamiento y secado que se realizan sobre estas nanopartículas de gel deben prevenir o minimizar la concentración y autoagregación de las partículas, punto en el cual las fuertes interacciones partícula-partícula y partícula-líquido superan la capacidad inherente del tensioactivo para impedir la coalescencia de las partículas. Se usan procedimientos de aislamiento y secado tales como deshidratación por vaporización y liofilización, pero no la evaporación directa, ya que se acompaña de una importante autoagregación y el polvo seco resultante no formará un apósito viable *in situ* cuando se aplique a una herida húmeda. Resulta evidente para el experto en la materia que se pueden usar otros procedimientos de aislamiento y secado, siempre y cuando se prevenga o minimice la autoagregación. Por supuesto, los diversos parámetros mencionados anteriormente son interdependientes.

En una forma de realización de la presente invención, las nanopartículas de hidrogel se producen polimerizando monómeros no iónicos en agua que contiene un tensioactivo. La suspensión de partículas de hidrogel se trata para eliminar el monómero sin reaccionar y otras impurezas. Las partículas se aíslan, se secan, y el polvo en partículas se aplica a una herida o a un tejido corporal *in vivo*, absorbiendo parte de exudados, sangre u otros fluidos corporales, y fusiona en un apósito para heridas que retiene la forma y se adapta a la forma o biomaterial. El apósito se mantiene integrado y retiene la forma en virtud de las fuertes interacciones entre partículas y entre partículas y líquido, tales como, sin limitación, interacciones hidrófobas-hidrófilas y formación de enlaces de hidrógeno. Es decir, al aplicar el polvo de nanopartículas de hidrogel a un medio de mayor fuerza iónica, por ejemplo PBS, suero, exudado de heridas u otro fluido corporal, las partículas se autoensamblan formando un apósito de agregado compacto, elástico y que retiene la forma. En una forma de realización, el medio es *in vivo*, es decir, un tejido corporal, y el agregado que retiene la forma asume y retiene la forma de la región del cuerpo a la que se aplicó el polvo. Si el medio es *ex vivo*, se puede, sin limitación, conformar a presión, extrudir o moldear en la forma deseada, que se conservará siempre que el agregado se mantenga en estado hidratado.

Los apósitos de agregado para heridas de la presente invención tienen muchas aplicaciones, incluyendo, sin limitación, la administración de una o más sustancias biológicamente activas en una localización predeterminada, como una herida. El objetivo puede ser veterinario, que incluye la administración de medicamentos a animales como reptiles, mamíferos y aves. En particular, el objetivo puede ser humano, que incluye la administración controlada y directa de agentes farmacéuticos al paciente.

Otra forma de realización de la presente invención incluye disolver o suspender el agente biológicamente activo en el sistema de polimerización antes de la polimerización. A medida que avanza la reacción de polimerización y se forman las nanopartículas de hidrogel, el líquido que contiene la sustancia biológicamente activa resulta ocluido por las partículas en formación. Después se elimina el agente biológicamente activo no ocluido cuando las partículas se tratan para eliminar el exceso de monómero y tensioactivo. Después se aísla y se seca la suspensión de partículas que contienen la sustancia biológicamente activa para producir el polvo en nanopartículas. El procedimiento de secado se realiza con los medios tradicionales, incluyendo, sin limitación, la deshidratación por vaporización y la liofilización. Después, el polvo se puede introducir *ex vivo* o *in vivo*, y en este último caso la introducción se realiza preferentemente aplicando el polvo a una herida con lo que las partículas fusionan en un apósito de agregado medicado de forma adaptable y capaz de retener la forma.

También es una forma de realización de la presente invención eliminar el agente biológicamente activo no ocluido del sistema de la suspensión junto con el exceso de monómero y de tensioactivo, aislar y secar las nanopartículas que contienen el agente biológicamente activo ocluido, y después añadir una sustancia biológicamente activa totalmente diferente al polvo en nanopartículas antes de formar un apósito para heridas *in situ* a fin de atrapar a esta última durante la formación del agregado. La sustancia atrapada en los espacios en el agregado normalmente se liberará a una velocidad muy diferente de la de la sustancia ocluida por las partículas. De esta manera, se puede obtener un amplio intervalo de velocidades de administración. La diversidad en el perfil de administración también se puede obtener variando la composición química y el tamaño de partícula de las partículas individuales de hidrogel que integran los agregados de apósitos para heridas.

Si el agregado del biomaterial se produce *in vivo*, una determinada cantidad de sustancia biológicamente activa quedará atrapada en los espacios vacíos entre las partículas, lo que dependerá de las propiedades físicas, tales como el tipo y el tamaño de la sustancia biológicamente activa y de la velocidad de formación del agregado. La velocidad de formación del agregado es función del tamaño de la partícula y de la composición de las nanopartículas de gel, del tipo y la cantidad de tensioactivo o de la combinación de tensioactivos presente en el polvo en nanopartículas seco, del medio polar al que se aplica el polvo y de la temperatura del medio.

Además de las anteriores, se pueden añadir otras sustancias solubles en agua a las nanopartículas de gel secas de la presente invención para modificar la agregación y la velocidad del agregado que retiene la forma que se forma al introducir las en un medio y, por lo tanto, también así se puede controlar la cantidad y la posterior velocidad de liberación del agente activo atrapado. Asimismo, estos excipientes solubles en agua se pueden usar para modificar la porosidad a lo largo del tiempo del apósito para heridas formado *in situ*, a medida que salen disueltos del agregado cuando queda expuesto a exudados o sangre de heridas. Usando uno o más de los procedimientos antes mencionados, se podrán obtener velocidades de liberación de orden cero, o por lo menos de orden pseudocero, para un amplio intervalo de agentes biológicamente activos.

El tipo y la cantidad de agente que puede ser ocluido por una partícula de gel o quedar atrapado en un apósito de agregado que retiene la forma o biomaterial de la presente invención depende de una variedad de factores. El primero y principal es que el agente no puede interferir, por su tamaño, cargas de superficie, polaridad, interacciones estéricas, etc., con la formación de partículas de gel discretas o con la coalescencia de las partículas de gel en un agregado que retiene la forma después de su introducción a un medio, como una herida, ya que cualquiera de estos factores anularía el propósito de la presente invención. Una vez que se determina que los mencionados no constituyen un problema, lo que más directamente afecta la cantidad de sustancia que se puede incorporar a la partícula es el tamaño de las partículas de hidrogel. El tamaño de las partículas determinará la cantidad máxima de agente que puede ser ocluido, mientras que la polidispersidad de las partículas afectará el tamaño resultante del poro de los apósitos de agregado formados *in situ*. Agentes relativamente pequeños, como moléculas individuales de antibiótico, agentes antimicrobianos y analgésicos se pueden ocluir en pequeñas nanopartículas de gel y quedar fácilmente atrapados en los agregados formados a partir de estas pequeñas partículas de gel, en tanto que agentes sustancialmente más grandes, como anticuerpos monoclonales, proteínas, péptidos, polisacáridos y otras macromoléculas, pueden ser difíciles de ocluir dentro de estas nanopartículas y requerirán apósitos de agregado integrados por partículas mucho mayores y/o con polidispersidad más amplia para quedar atrapados de manera eficaz.

Usando los métodos de la presente se puede obtener un control preciso de la cinética de administración. Es decir, partículas de gel de tamaños y composiciones químicas diferentes se pueden cargar con un determinado agente, y el agente se puede liberar en el curso de diferentes períodos de tiempo. Además, parte de la sustancia podría ser ocluida en las partículas de gel y parte podría quedar atrapada en los espacios entre partículas del agregado del apósito para heridas que retiene la forma a fin de suministrar aún mayor flexibilidad para la

administración.

Usando los métodos antes mencionados se pueden cargar diferentes agentes, incluso agentes normalmente incompatibles, en las partículas de gel de la presente invención, y se pueden liberar secuencial o simultáneamente. La liberación secuencial impedirá que agentes incompatibles se encuentren entre sí. La liberación simultánea permite la administración de dos o más agentes no bioactivos o mínimamente activos que, al combinarse, forman un fármaco potente. De esta manera, la formación de la especie activa se puede postergar hasta que se haya formado el agregado que contiene los precursores en el sitio de la herida cuando las nanopartículas se combinan con sangre o exudado y fusionan para proporcionar liberación prolongada de la sustancia activa en el lecho de la herida subyacente.

En otro aspecto de la presente invención, se usan partículas de gel de dos o más tamaños diferentes y polidispersidad estrecha entre sí para formar agregados de apósitos para heridas que retienen la forma de la presente invención. La eficacia del atrapamiento de sustancias y su posterior velocidad de liberación serán sustancialmente diferentes de las de los agregados formados que usan partículas de tamaño único y polidispersidad estrecha. Sin adherirse a ninguna teoría particular, se considera que esta característica puede deberse a la posibilidad de que, durante la agregación en presencia de una sustancia que se va a atrapar, los espacios entre las partículas que comprenden el agregado de apósito para heridas son llenados con mayor eficiencia por partículas con polidispersidad mixta. Los ejemplos que siguen demuestran que, para un agente específico de un determinado tamaño, el tamaño y la relación de tamaños de las partículas que forman un agregado afectan significativamente la eficiencia del agregado en formación para atrapar un agente y su posterior velocidad de liberación. Aplicando este criterio, la velocidad de liberación de una determinada sustancia se podría adaptar a un método de cinética de orden pseudocero usando los tamaños de partícula y las relaciones de tamaños adecuados.

De este modo, la presente invención proporciona una plataforma para la administración de sustancias extremadamente versátil para apósitos para heridas formados *in situ*, en particular con respecto a la administración de un agente biológicamente activo y, más aún, con respecto a la administración de un agente farmacéutico. En una forma de realización en particular, apósitos para heridas para úlceras por decúbito, úlceras vasculares, quemaduras de segundo, tercero y cuarto grado, y sitios donantes de piel, con o sin antibióticos, analgésicos, factores de crecimiento o agentes de señalización vascular incorporados, se podrían formar directamente en el sitio de una herida *in situ* mediante la introducción del polvo en nanopartículas en o sobre una herida húmeda y un sitio donante de piel. Un agente farmacéutico o una combinación de agentes se puede administrar en forma continua a lo largo de un período prolongado, en ráfagas a intervalos especificados, simultáneamente después de un retardo predeterminado a fin de que dos o más agentes puedan interactuar sinérgicamente después de la formación del apósito de agregado que los contiene en el sitio deseado, o secuencialmente, de modo que un agente puede actuar en el sitio buscado antes de que se libere el siguiente agente o de modo que dos o más agentes puedan actuar sinérgicamente.

Otra forma de realización de la presente invención es el uso de materiales de agregado que retienen la forma formados *in situ* mediante la introducción de nanopartículas en polvo a un fluido corporal, como biomateriales útiles en aplicaciones ortopédicas, tal como las matrices para formación de tejidos. La estructura macroporosa de los agregados que retienen la forma y se adaptan a la forma la presente invención proporciona una composición que permitirá un sustancial crecimiento hacia el interior del tejido, propiedad que no se encuentra en los hidrogeles en masa microporosos típicos. Además, los agregados de la presente invención exhiben propiedades físicas, tales como módulos elástico, de cizallamiento y de masa, que son significativamente superiores a las de los hidrogeles convencionales en masa. Posibles aplicaciones ortopédicas de los métodos de la presente invención incluyen, sin limitación, reparación de cartílagos y huesos, reparación/reemplazo de meniscos, discos intervertebrales artificiales, tendones y ligamentos artificiales, y rellenos para defectos óseos.

La propiedad de retener la forma de los materiales de agregado de la presente invención y su capacidad de ser formados *in situ* y retener agua sugieren otros numerosos usos *in vivo*. Por ejemplo, se podría moldear un agregado medicado o no medicado en una lente de contacto blanda. Se podría formar *in situ* un dispositivo para administrar fármacos que es blando, flexible, biocompatible, para el tratamiento de enfermedades oculares graves, colocando detrás del ojo las nanopartículas de hidrogel en polvo en las que se ha ocluido o atrapado un agente farmacéutico ocular. Se podría formar un agregado que retiene la forma en un saco periodontal introduciendo el polvo en nanopartículas en el que un factor de crecimiento óseo está ocluido por las partículas o atrapado en el agregado en formación. El agregado también podrá contener ocluido o atrapado un antibiótico para el control de infecciones mediante la liberación sostenida del antibiótico mientras se estimula la regeneración ósea a través de la liberación controlada del factor de crecimiento óseo. Como beneficio adicional, el agregado blando, biocompatible que retiene la forma podría proporcionar comodidad en el sitio gracias a su inherente suavidad y capacidad de adaptación a la forma.

Los agregados de la presente invención producidos con los métodos descritos en la presente memoria se podrían usar como vehículos para una cantidad de materiales que no son agentes biomédicos. Por ejemplo, sin limitación, metales o iones metálicos se podrían ocluir en las partículas de gel, ser atrapados por el agregado, o

mediante ambos mecanismos. Los metales y/o iones permitirían conferir grados variables de conductividad y radiopacidad a los agregados que podrían tener otros usos, como la estimulación eléctrica de la cicatrización de heridas.

- 5 Los usos mencionados y muchos otros para los apósitos para heridas de agregado que se adaptan a la forma y retienen la forma y biomateriales de la presente invención resultarán evidentes para los expertos en la materia a partir de las descripciones de la presente memoria. Dichos usos están dentro del alcance de la presente invención.

10 Ejemplo 1

Síntesis de nanopartículas hidrogel de usando HEMA

- 15 Se cargó un frasco para medios de 500 ml equipado con una barra agitadora con 4,52 g (34,8 mmoles) de monómero de metacrilato de hidroxietilo (HEMA), 77,74 mg (0,428 mmoles) de dimetacrilato de etilenglicol (EGDM), 0,2123 g (0,634 mmoles) de dodecilsulfato de sodio (SDS) y 240 ml de H₂O milli-Q. El frasco se cerró con una tapa para pasaje y se purgó con N₂ durante 1 h a temperatura ambiente con agitación. Después se disolvieron 0,166 g de persulfato de potasio (K₂S₂O₈) en 21 ml de H₂O milli-Q, y se añadió al frasco para medios con agitación. Después, el frasco se transfirió a un baño de agua a 40°C y se mantuvo allí durante 12 horas. La
20 suspensión de partículas de hidrogel resultante presentó un color azul opalescente. Las partículas se analizaron por dispersión dinámica de luz, y se descubrió que tenían un radio promedio de 36,5 nm, como se ilustra en la figura 1. Las partículas se purificaron por filtración de flujo tangencial y se almacenaron en una suspensión acuosa. No se observó floculación durante varios meses.

25 Ejemplo 2

Síntesis de nanopartículas de hidrogel usando HPMA

- 30 Se cargó un frasco para medios de 150 ml equipado con una barra agitadora con 2,532 g (17,5 mmoles) de monómero de metacrilato de hidroxipropilo (HPMA), 52,73 mg (0,266 mmoles) de reticulador de dimetacrilato de etilenglicol (EGDM), 107,6 mg (0,3730 mmoles) de dodecilsulfato de sodio (SDS) y 118 ml de H₂O Milli-Q desgasificada con nitrógeno. El frasco se cerró y se agitó para formar una disolución transparente. En un vial separado, se disolvieron 83 mg de K₂S₂O₈ en 2 ml de H₂O Milli-Q, y se añadieron al frasco para medios con agitación. El frasco para medios con la disolución transparente se transfirió a un baño de agua a 40°C y se
35 mantuvo a temperatura constante durante 12 horas. La suspensión de nanopartículas de hidrogel resultante presentó un color azul opalescente. Las partículas se analizaron por dispersión dinámica de luz, y se descubrió que tenían un tamaño de partícula promedio de 21,3 nm y un intervalo de tamaños de 14 nm a 41 nm. La suspensión presentó aproximadamente 1% de polímeros sólidos en masa. Hasta la fecha, la suspensión de nanopartículas de hidrogel resistió la floculación o la agregación durante dos años a temperatura ambiente.

40

Ejemplo 3

Síntesis de copolímero de nanopartículas de hidrogel usando HEMA y HPMA

- 45 Usando el método de síntesis del Ejemplo 1, se produjeron nanopartículas de copolímero usando un monómero de HEMA y un monómero de HPMA. La Tabla 1 muestra las masas relativas y los mmoles de monómeros añadidos a los frascos para medios de 150 ml:

Tabla 1

50

Muestra	Masa de HEMA	mmoles de HEMA	Masa de HPMA	mmoles de HPMA
95:5 pHEMA:HPMA	4,30 g	33,06	0,251 g	1,74
90:10 pHEMA:HPMA	4,07 g	31,32	0,501 g	3,48
85:15 pHEMA:HPMA	3,85 g	29,58	0,752 g	5,22
75:25 pHEMA:HPMA	3,40 g	26,10	1,25 g	8,70
50:50 pHEMA:HPMA	2,26 g	17,40	2,51 g	17,40

- Después, cada frasco para medios se cargó con 52,73 mg (0,266 mmoles) de EGDM, 107,6 mg (0,3730 mmoles) de dodecilsulfato de sodio (SDS) y 118 ml de H₂O Milli-Q desgasificada con nitrógeno. Los frascos se cerraron con una tapa y se agitaron durante 30 minutos a temperatura ambiente. En 5 viales separados, se disolvieron 83
55 mg de K₂S₂O₈ en 2 ml de H₂O Milli-Q, respectivamente, y se añadieron a cada frasco para medios con agitación.

Los frascos para medios con disoluciones transparentes se transfirieron a un baño de agua a 40°C y se mantuvieron a temperatura constante durante 12 horas. La suspensión de nanopartículas de hidrogel resultante presentó un color azul opalescente.

5 Ejemplo 4

Síntesis de nanopartículas de hidrogel usando GMA

Se cargó un frasco para medios de 2000 ml equipado con una barra agitadora con 44,5 g (277 mmoles) de monómero de metacrilato de glicerol (GMA), 92 mg (0,464 mmoles) de reticulador de dimetacrilato de etilenglicol (EGDM), 2,04 g (0,3730 mmoles) de dodecilsulfato de sodio (SDS) y 118 ml de H₂O Milli-Q desgasificada con nitrógeno. El frasco se cerró y se agitó para formar una disolución transparente. En un vial separado, se disolvieron 83 mg de K₂S₂O₈ en 2 ml de H₂O Milli-Q, y se añadieron al frasco para medios con agitación. El frasco para medios con la disolución transparente se transfirió a un baño de agua a 40°C y se mantuvo a temperatura constante durante 12 horas. La suspensión de nanopartículas de hidrogel resultante presentó un color azul opalescente. Las partículas se analizaron por dispersión dinámica de luz, y se descubrió que tenían un tamaño de partícula promedio de 21,3 nm y un intervalo de tamaños de 14 nm a 41 nm. La suspensión presentó aproximadamente 1% de polímero sólido en masa. Hasta la fecha, la suspensión de nanopartículas de hidrogel resistió la floculación o la agregación durante dos años a temperatura ambiente.

Ejemplo 5

Síntesis de copolímero de nanopartículas de hidrogel usando HEMA y GMA

Usando los métodos de síntesis anteriores, se produjeron nanopartículas usando HEMA y monómeros de metacrilato de glicerol. La Tabla 2 muestra las masas relativas y los mmoles de monómeros añadidos a los frascos para medios de 2000 ml.

Tabla 2

Muestra	Masa de HEMA	mmoles de HEMA	Masa de GMA	mmoles de GMA
90:10 pHEMA:GMA	40,0 g	307,36	4,47 g	27,78
75:25 pHEMA:GMA	33,35	256,30	11,11 g	69,46

Después, cada frasco para medios se cargó con 80 mg (0,404 mmoles) de reticulador EGDM, 20,4 g (7,09 mmoles) de dodecilsulfato de sodio (SDS) y 2000 ml de H₂O Milli-Q desgasificada con nitrógeno. Los frascos se cerraron y se agitaron para formar disoluciones transparentes. En dos viales separados, se disolvieron 1,44 g (6,31 mmoles) de (NH₄)₂S₂O₈ en 20 ml de H₂O Milli-Q, y se añadieron a los frascos para medios de 2000 ml con agitación. Los frascos para medios con la disolución transparente se transfirieron a un baño de agua a 50°C y se mantuvieron a temperatura constante durante 12 horas. Las suspensiones de nanopartículas de hidrogel resultantes presentaron un color azul opalescente. Las partículas se analizaron por dispersión dinámica de luz, y la Tabla 4 muestra los tamaños promedio de partículas y los intervalos de tamaños.

Ejemplo 6

Liofilización de suspensiones de nanopartículas

Las suspensiones de nanopartículas de los ejemplos 1-5 se congelaron a -80°C. Las suspensiones sólidas se secaron a vacío a temperatura ambiente en un sistema de liofilización VIRTIS para producir un polvo blanco. El polvo se trituro o se tamizó para producir partículas de tamaños uniformes. La densidad del polvo triturado fue aproximadamente 200 mg/ml, y la densidad de las partículas tamizadas fue aproximadamente 120 mg/ml. Las partículas permanecieron como un polvo estable, sin cambios en el aspecto o la densidad aparente durante 6 meses a temperatura ambiente.

Ejemplo 7

Redispersión de polvo en nanopartículas seco

Los polvos liofilizados del ejemplo 6 se expusieron a diversos disolventes para determinar si era posible redispersar como suspensiones los polvos obtenidos de la trituración o el tamizado. Los siguientes disolventes presentaron la capacidad de redispersar las partículas:

Agua, etanol, metanol, isopropanol y butanol. Los disolventes no polares, tales como el hexano o el acetato de etilo, no permitieron la redisposición del polvo y formaron masas insolubles de polvo humedecido cuando se

combinaron con el polvo liofilizado.

Ejemplo 8

5 Agregación de polvo en nanopartículas de poli-HEMA en PBS

Se añadió el polvo liofilizado de poli-metacrilato de 2-hidroxietilo del ejemplo 6 a una disolución salina amortiguada con fosfato a pH y fuerza iónica fisiológicos. En varios segundos, el polvo fusionó para formar una película agregada integral y fuerte. La figura 1 muestra una fotografía del polvo en nanopartículas, el polvo aplicado a una disolución salina amortiguada con fosfato, y el agregado resultante después de la formación.

Ejemplo 9

15 Velocidad de pérdida de agua después de la hidratación y agregación de polvos de copolímeros en nanopartículas en PBS

Se expusieron diversos polvos en nanopartículas con distintas composiciones químicas a una disolución salina amortiguada con fosfato. La figura 2 muestra los resultados de las representaciones gráficas de pérdida de agua para estos agregados de copolímeros compuestos por diversas relaciones de monómeros de HEMA, metacrilato de glicerol y metacrilato de hidroxipropilo.

En la figura 2, las representaciones gráficas muestran el peso promedio de un agregado de nanopartículas de un hidrogel formado usando 500 mg de polvo en disolución salina amortiguada con fosfato a pH = 7,4. Los agregados se pesaron, se devolvieron y se dejaron secar en una cámara ambiental a 37°C. La representación gráfica muestra que los materiales del agregado que contienen GMA tienen la mayor adsorción de agua inicial, debido a su carácter inherente más hidrófilo que el HEMA o el HPMA. Sin embargo, la pérdida de agua a lo largo del tiempo es más rápida para estos agregados. Los copolímeros de pHEMA:HPMA tienen una adsorción inicial de la disolución menor, pero no pierden masa de agua tan rápidamente.

30 Ejemplo 10

Datos reológicos para diversas películas agregadas formadas con polvos en nanopartículas y PBS

La Tabla 3 a continuación muestra las elasticidades relativas de distintos tipos de agregados en nanopartículas. En un estudio determinado, se aplicó tensión sobre un agregado de nanopartículas después de formarlo con un polvo y PBS, mientras se usaba un tensiómetro Duofield que actuaba sobre el agregado a una velocidad de 1 mm/segundo. Los agregados se cortaron en forma de huesos para perro de 1 cm de longitud, con un cuello con dimensiones de 1 mm x 2 mm. Los agregados se estiraron hasta romperlos, y se observó la tensión máxima en el punto de ruptura y se registró para tres réplicas.

40 Tabla 3

Muestra	Alargamiento (mm) (Des. est.)	Tensión en la ruptura (g) (Des. est.)
pHEMA	54 mm (3,54)	0,58 g (1,21)
90:10 pHEMA:GMA	98 mm (4,32)	0,12 g (1,13)
pH PMA	6 mm (2,17)	5,9 g (1,98)
90:10 pHPMA:GMA	69 mm (7,83)	0,19 g (3,34)
95:5 pHEMA:HPMA	46 mm (8,21)	0,71 g (1,31)
90:10 pHEMA:HPMA	41 mm (3,59)	1,3 g (2,91)
85:15 pHEMA:HPMA	38 mm (3,42)	2,7 g (1,83)
75:25 pHEMA:HPMA	22 mm (4,31)	3,8 g (1,95)
50:50 pHEMA:HPMA	11 mm (3,11)	5,1 g (0,61)

Las tendencias generales en los datos anteriores indican que los materiales que contienen GMA fusionan para formar agregados que tienen una elasticidad elevada, pero presentan fuerzas de ruptura muy bajas al elongarse. Relaciones de mayor GMA (15% o más) dieron como resultado agregados que fueron muy elásticos, pero con poca integridad estructural; los materiales se estiraron más allá de los límites del dispositivo; sin embargo, los cambios bruscos en la presión dieron como resultado la fractura y la ruptura del material. La adición del comonomero de HPMA al HEMA dio como resultado materiales más fuertes y menos elásticos, lo que permitió mantener algo de la elasticidad del pHEMA, pero incrementó la fuerza de ruptura a medida que se incrementó el comonomero de HPMA más hidrófobo. Esta reducción de la elasticidad se debe a la menor cantidad de absorción y adsorción de PBS por el polvo cuando se forma el agregado.

Ejemplo 11Mezcla seca de compuestos bioactivos con polvo en nanopartículas para producir biomateriales medicados

Polvo en nanopartículas de poli-HEMA y polvos en nanopartículas de copolímeros de HEMA/GMA se mezclaron en seco con polvo de lidocaína o eritromicina y, al exponerlos a PBS, se formaron agregados que atraparon la sustancia activa entre las partículas que conforman el agregado. Posteriormente, la sustancia activa se libera a una velocidad controlada que depende del tamaño de partícula, del carácter hidrófilo/hidrófobo de las nanopartículas de polímero o copolímero que conforman el agregado, y de las propiedades físicas del compuesto bioactivo usado. Como se ilustra en las figuras 3 y 4, es posible ajustar la velocidad de liberación para proporcionar un nivel específico de sustancia activa durante un período de tiempo prolongado. La figura 3 muestra la liberación de lidocaína a partir de tres agregados diferentes, y la figura 4 muestra la liberación de eritromicina.

Las figuras 3 y 4 muestran que para agregados con composiciones idénticas, la molécula que es atrapada y liberada subsiguientemente puede tener perfiles de liberación diferentes. Esto se debe a las propiedades físicas de la molécula que es atrapada entre las nanopartículas que conforman el agregado y el carácter hidrófilo/hidrófobo del agregado. Por ejemplo, la molécula de lidocaína relativamente hidrófoba es liberada a una velocidad menor a medida que se incrementa la cantidad del monómero hidrófilo de metacrilato de glicerol en el polvo de nanopartículas de copolímero y aumenta la velocidad de eritromicina, puesto que es una sustancia activa más hidrófila.

Ejemplo 12Incorporación de 1,10 fenantrolina en agregados en nanopartículas de PHEMA/PHPMA

1,10 fenantrolina, un inhibidor de proteasa hidrófobo que se coordina con los metales en las metaloproteasas e interfiere con la cinética de dichas enzimas, se incorporó en agregados en nanopartículas compuestos por mezclas de polvos en nanopartículas de HEMA y HPMA. La concentración efectiva de la metaloproteasa es 0,1 mmoles/l, y tiene un espectro de absorción UV-Vis con una absorbancia máxima a 510 nm (McCarty, R. E. Analytical Biochem., 205, 371-372, 1992). Se realizó un estudio de liberación controlada triturando 1 mg de 1,10 fenantrolina con 100 mg de polvo de nanopartículas de hidrogel y añadiéndole 100 ml de disolución salina amortiguada con fosfato para producir el agregado respectivo. Los agregados se transfirieron a 100 ml de PBS y se colocaron en un baño de agua a 37°C. La cantidad de 1,10 fenantrolina que eluyó en la PBS se determinó por medios espectrofotométricos a intervalos de tiempo diferentes. Se produjeron nanopartículas de poli-HEMA y pHPMA con los siguientes diámetros promedio diferentes como se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4

Muestra	Diámetro
pHEMA (A)	100 nm
pHEMA (B)	42 nm
pHPMA (A)	96 nm
pHPMA (B)	38 nm

Las partículas se combinaron en la relación peso/peso de 85:15 de pHEMA:pHPMA, y los polvos mezclados se trituraron con 1:10 fenantrolina para formar materiales compuestos que contenían 1 miligramo de 1:10 fenantrolina por cada 100 mg de polvo.

La figura 5 muestra la liberación in vitro de 1,10 fenantrolina de biomateriales de agregado compuestos por mezclas de nanopartículas. La representación gráfica demuestra que es posible regular la liberación de 1,10 fenantrolina de los agregados en nanopartículas usando nanopartículas de distintos tamaños y distintas composiciones químicas, para obtener dosis controladas en períodos de tiempo de 1 día y 13 días.

Ejemplo 13Estudio de eliminación de bacterias *in vivo*

Se diseñó un estudio para determinar la efectividad de la liberación controlada de doxiciclina y rifampina de agregados en nanopartículas en cultivos de bacterias infecciosas comúnmente halladas en quemaduras. El estudio inicial se diseñó para determinar si la liberación controlada de los fármacos era suficiente para realizar la eliminación efectiva de las bacterias en un período de 14 días. Para simular una infección continua, se sembraron tres cepas de bacterias, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* y *Pseudomonas* en placas de agar separadas. Se prepararon 150 mg de un agregado en nanopartículas que contenía 3 mg de doxiciclina y 1,5 mg

de rifampina mezclando en seco los antibióticos con polvos en nanopartículas, y luego añadiendo el polvo a 5 ml de disolución salina amortiguada con fosfato. Se permitió que el agregado intacto se formara durante 5 minutos. El agregado se transfirió cuidadosamente a colonias de bacterias en placas, y la zona de inhibición se fotografió como se indicará más adelante. Cada 24 horas se incubó una colonia reciente de bacterias, y el mismo agregado se transfirió a la nueva placa para determinar la inhibición producida por la venda con antibiótico a lo largo del tiempo. El agregado de nanopartículas con antibióticos de liberación controlada se comparó con una venda comercial con antibióticos, sin liberación controlada, impregnada de plata.

Bacterias evaluadas en el proyecto:

Staphylococcus aureus ATCC 25923 (conocida como SA)
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (conocida como Ps)
Enterococcus faecalis ATCC 51299 (conocida como EF)

Material usado:

BBL Prompt Inoculation System para uso con ensayos de susceptibilidad por difusión en discos

Agar Mueller Hinton

Protocolo: Se coloca una punción de 20 mm de venda comercial Aquacel Ag o el agregado que contiene ambas sustancias activas en la superficie del disco inoculado. Se transfiere cada apósito respectivo a un disco recién inoculado cada 24 horas durante el transcurso del estudio y se observa la zona de inhibición. En este estudio, la inhibición de las bacterias se midió como la zona de inhibición alrededor del disco formada en 24 horas para una nueva placa con colonias incubadas durante 6 horas. La inhibición total para cada caso incluyó el disco de 20 mm del material Aquacel o el apósito de agregado. Las muestras evaluadas en agar Mueller Hinton se inocularon con cepas separadas de bacterias (se usó el método BBL Prompt para diluir las bacterias hasta obtener las $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colonias por ml (CFU/ml) apropiadas). La representación gráfica de la inhibición para cada bacteria se ilustra en la figura 8.

A partir de los estudios anteriores, el material de apósito de agregado proporciona la inhibición de Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa y Enterococcus faecalis durante 18-21 días. Una venda comercial de gasa de hidrogel impregnada con 1% de plata proporciona inhibición durante 10-12 días para las mismas cepas de bacterias.

Ejemplo 14

Estudios de cicatrización de heridas

En las imágenes de la figura 9 se ilustra el polvo en nanopartículas sin medicación (una mezcla de 85% de nanopartículas de poli-HEMA y 15% de nanopartículas de poli-HPMA) aplicado a heridas de distintos diámetros (2 cm, 4 cm y 6 cm, respectivamente) que presentaban un grosor parcial (2 cm de profundidad), en distintos puntos de tiempo durante la cicatrización. El polvo se aplica directamente sobre una herida y utiliza los exudados para formar un apósito de agregado.

En este estudio, el polvo en nanopartículas se aplicó sobre la superficie exudativa de la herida y se colocó en su lugar a presión. No se aplicó ningún apósito secundario. El apósito de hidrogel comercial de atención médica estándar se aplicó sobre la superficie de la herida y requirió un apósito secundario y un cambio diario. El apósito de agregado de nanopartículas no requirió el cambio del apósito durante la cicatrización de la herida, y no presentó signos de inflamación, tales como enrojecimiento a los niveles elevados o marginales de TNF- α .

El apósito también se aplicó sobre sitios donantes de injertos de piel en un modelo animal porcino.

La figura 10 muestra los resultados de cicatrización durante siete días después de formar un apósito de agregado en un sitio donante de injerto de piel porcina, en comparación con Aquacel.

La figura 10 muestra que el material de agregado puede usarse como una venda efectiva para sitios donantes de injertos de piel, con una cicatrización equivalente o mejor que la correspondiente a una venda comercial.

Ejemplo 15

Incorporación de factores de crecimiento con polvos en nanopartículas y aplicación de vendas que liberan factores de crecimiento en un modelo de cicatrización de heridas

Se combinaron polvos de nanopartículas de hidrogel compuestos por nanopartículas de 85:15 de pHEMA:pHPMA con los siguientes factores de crecimiento: factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y

factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), y se aplicaron a heridas. Los polvos se prepararon como se indica a continuación:

A. Se combinaron 105 ml de una suspensión de nanopartículas de 85:15 de pHEMA:PHPMA en agua con 5 microgramos de proteína VEGF. La suspensión se mezcló exhaustivamente para asegurar su homogeneidad, y se liofilizó para obtener 2 g de polvo, que se dividieron en 5 fracciones de 400 miligramos. Cada fracción contenía 1 microgramo de VEGF.

B. Se combinaron 105 ml de una suspensión de nanopartículas de 85:15 de pHEMA:PHPMA en agua con 20 microgramos de proteína PDGF. La suspensión se mezcló exhaustivamente para asegurar su homogeneidad, y se liofilizó para obtener 2 g de polvo, que se dividieron en 5 fracciones de 400 miligramos. Cada fracción contenía 4 microgramos de proteína PDGF.

C. Se combinaron 105 ml de una suspensión de nanopartículas de 85:15 de pHEMA:PHPMA en agua con 5 microgramos de proteína VEGF y 20 microgramos de proteína PDGF. La suspensión se mezcló exhaustivamente para asegurar su homogeneidad, y se liofilizó para obtener 2 g de polvo, que se dividieron en 5 fracciones de 400 miligramos. Cada fracción contenía 1 microgramo de VEGF y 4 microgramos de proteína PDGF.

Se formaron heridas de 2,54 centímetros por 2,54 centímetros que abarcaron el espesor del tejido en un cerdo, en una cuadrícula de 4 heridas x 4 heridas, para obtener un total de 16 heridas. Cada herida se cubrió con uno de los cuatro tipos de vendas:

Polvo de nanopartículas que contenía 1 microgramo de VEGF por 400 miligramos de venda.

Polvo de nanopartículas que contenía 4 microgramos de PDGF por 400 miligramos de venda.

Polvo de nanopartículas que contenía 1 microgramo de VEGF y 4 microgramos de PDGF por 400 mg de venda.

Polvo de nanopartículas de control sin factores de crecimiento.

Las heridas no se cubrieron con vendas secundarias. Se tomaron biopsias a los 2, 7, 14 y 21 días de cada sitio de herida, y se estudió la histología de las muestras.

La histología de la herida de control y la tratada con PDGF se ilustra en la figura 11. En las imágenes de histología ilustradas, la biopsia a la derecha fue de una herida tratada con la venda de control que no contenía factor de crecimiento activo. La biopsia a la izquierda fue de una herida tratada con venda de agregado de nanopartículas cargado con PDGF.

Ambas biopsias se realizaron el día 7. En el control, el lecho de la herida es mucho más profundo a los 7 días y presenta una granulación mucho menor. Además, hubo un mayor reclutamiento de fibroblastos en la herida cargada con PDGF. El área de la herida se ilustra con el recuadro en cada imagen de histología, mientras que en el lado derecho de cada imagen se ilustra tejido sano extraído del margen de la herida en la biopsia. Se hallaron resultados similares los días 14 y 21, con un incremento significativo en la granulación.

La histología de las heridas de control y tratadas con VEGF se ilustra en la figura 12. En las imágenes de histología ilustradas, la biopsia a la derecha fue de una herida tratada con la venda de control que no contenía factor de crecimiento activo. La biopsia a la izquierda fue de una herida tratada con venda de agregado de nanopartículas cargado con VEGF. La venda contenía 1 microgramo de VEGF por gramo de apósito. Ambas biopsias se realizaron el día 7.

En el control, la herida es mucho más profunda a los 7 días y presenta una granulación mucho menor. Por el contrario, la herida tratada con VEGF presenta un incremento drástico en la vasculatura en el lecho de la herida. El área de la herida se ilustra con el recuadro en cada imagen de histología, mientras que en el lado derecho de cada imagen se ilustra tejido sano retirado del margen de la herida en la biopsia.

La histología de las heridas de control y tratadas con una combinación de VEGF y PDGF se ilustra en la figura 13. En las imágenes de histología ilustradas, la biopsia a la derecha fue de una herida tratada con la venda de control que no contenía factor de crecimiento activo. La biopsia a la izquierda fue de una herida tratada con venda de agregado de nanopartículas cargado con una combinación de PDGF y VEGF. Ambas biopsias se realizaron el día 7.

En el control, la herida es mucho más profunda a los 7 días y presenta una granulación mucho menor. Además, hay un incremento drástico en la vasculatura dentro del lecho de la herida, y una formación incrementada de rhyt en el margen de la herida. El área de la herida se ilustra con el recuadro en cada imagen de histología,

mientras que en el lado derecho de cada imagen se ilustra tejido sano retirado del margen de la herida en la biopsia. A partir de los experimentos anteriores, está claro que la incorporación de un factor de crecimiento, o una combinación de éstos, en el polvo en nanopartículas puede tener un efecto significativo sobre la cicatrización de la herida.

5

Ejemplo 16

Producción de un apósito de agregado de nanopartículas *in situ* en una superficie de piel no exudativa

10 Se produjo una formulación de gel fluida que comprendía polvo en nanopartículas, etanol y polietilenglicol-400 como se indica a continuación:

15 Se mezcla una cantidad de una suspensión de nanopartículas de pHEMA de acuerdo con el ejemplo 1 con una cantidad de una suspensión de nanopartículas de pHPMA preparada de acuerdo con el Ejemplo 2, de modo que la suspensión combinada contiene 85% de pHEMA y 15% de pHPMA. La suspensión combinada se liofiliza, y el polvo resultante se cepilla a través de un tamiz de 150 micrómetros y se almacena en bolsas.

20 Se colocan 1,15 g del polvo en nanopartículas tamizado en un vial de 100 ml, y se vierte una mezcla de 1 g de PEG400, 3 g de etanol y 0,10 g de agua desionizada en el vaso de precipitados que contiene el polvo. Este polvo se mezcla exhaustivamente con el líquido, e inicialmente forma una pasta. La pasta se transforma en un gel viscoso en 30 segundos. El gel se almacena en tubos de dispensación termosellables.

25 Al aplicarlo sobre la piel intacta, el alcohol se evapora para dejar un apósito de agregado plastificado que se adapta a cualquier superficie irregular y se adhiere íntimamente a la piel subyacente.

REIVINDICACIONES

1. Polvo seco de nanopartículas poliméricas biocompatibles que formará un agregado que retiene la forma al exponerlo a un medio fisiológico u otro medio de fuerza iónica superior, obtenible mediante un procedimiento que comprende:

a) polimerizar una cantidad eficaz de:

un monómero o dos o más monómeros seleccionados de entre el grupo que consiste en: un ácido 2-alquenoico, un 2-alquenoato de hidroxil alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de dihidroxil alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de hidroxil alcoxi (2C-4C) alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de alcoxi (1C-4C) alcoxi (2C-4C) alquilo (2C-4C), o un 2-alquenoato de vicinil epoxi alquilo (1C-4C), en un líquido polar o una mezcla de dos o más líquidos miscibles, por lo menos uno de los cuales es polar, y

una cantidad eficaz de un tensioactivo para producir una suspensión de una pluralidad de nanopartículas poliméricas en el que las nanopartículas poliméricas presentan un diámetro medio inferior a $1 \times 10^{-6} \text{ m} \pm 15\%$; y

b) eliminar el(los) líquido(s) de la suspensión mediante un procedimiento que comprende secar por pulverización o liofilización para prevenir la agregación y de manera que la cantidad de líquido(s) que permanece en el polvo seco sea inferior a $10\% \pm 15\%$ en peso en el que el porcentaje se basa en el peso total del polvo seco.

2. Procedimiento para preparar un polvo seco de nanopartículas poliméricas biocompatibles que formará un agregado que retiene la forma al exponerlo a un medio fisiológico u otro medio de fuerza iónica superior, comprendiendo el procedimiento:

a) polimerizar una cantidad eficaz de un monómero o dos o más monómeros seleccionados de entre el grupo que consiste en: un ácido 2-alquenoico, un 2-alquenoato de hidroxil alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de dihidroxil alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de hidroxil alcoxi (2C-4C) alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de alcoxi (1C-4C) alcoxi (2C-4C) alquilo (2C-4C), o un 2-alquenoato de vicinil epoxi alquilo (1C-4C), en un líquido polar o una mezcla de dos o más líquidos miscibles, por lo menos uno de los cuales es polar, y una cantidad eficaz de un tensioactivo, para producir una suspensión de una pluralidad de nanopartículas poliméricas, en el que las nanopartículas poliméricas presentan un diámetro medio inferior a $1 \times 10^{-6} \text{ m} \pm 15\%$; y

b) eliminar el(los) líquido(s) de la suspensión mediante un procedimiento que comprende secar por pulverización o liofilización para prevenir la agregación y de manera que la cantidad de líquido(s) que permanece en el polvo seco sea inferior a $10\% \pm 15\%$ en peso, en el que el porcentaje se basa en el peso total del polvo seco.

3. Producto de polvo seco obtenido mediante el procedimiento según la reivindicación 1 o el procedimiento de preparación de un polvo seco según la reivindicación 2, en el que la cantidad eficaz del tensioactivo es de 0,1 a 6 por ciento en peso del peso total del polvo seco.

4. Producto de polvo seco obtenido mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o el procedimiento de preparación de un polvo seco según la reivindicación 2 o 3, en el que las nanopartículas poliméricas son una cualquiera o más del mismo o diferente diámetro medio, se forman a partir de uno o más monómeros, en el que el tamaño de las partículas individuales de un conjunto de partículas es de una polidispersidad amplia por cuanto el tamaño se desvía más de $10\% \pm 15\%$ del tamaño medio de las partículas del conjunto, o son de una polidispersidad estrecha por cuanto el tamaño de las partículas individuales de un conjunto de partículas se desvía menos de $10\% \pm 15\%$ del tamaño medio de las partículas del conjunto.

5. Producto de polvo seco obtenido mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o el procedimiento de preparación de un polvo seco según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en el que la etapa a) comprende además:

añadir una o más primeras sustancias de trabajo en una cantidad eficaz para proporcionar un líquido que contiene una primera sustancia de trabajo, en el que, tras la polimerización, una porción del líquido que contiene la primera sustancia de trabajo está ocluida por las nanopartículas poliméricas;

y la etapa b) comprende además:

añadir una o más segundas sustancias de trabajo en una cantidad eficaz al polvo seco preparado mediante la etapa b), y mezclar en seco para proporcionar un polvo seco que contiene una segunda sustancia de trabajo, en el que la(s) primera(s) sustancia(s) de trabajo puede(n) ser igual(es) o diferente(s) a la(s) segunda(s)

sustancia(s) de trabajo.

6. Producto de polvo seco obtenido mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o el procedimiento de preparación de un polvo seco según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en el que la polimerización de la etapa a) es sin la adición de un agente de reticulación.
7. Producto de polvo seco obtenido mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o el procedimiento de preparación de un polvo seco según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en el que el(los) monómero(s) se selecciona(n) de entre el grupo que consiste en: un ácido 2-alquenoico, un 2-alquenoato de hidroxil alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de dihidroxil alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de hidroxil alcoxi (2C-4C) alquilo (2C-4C), un 2-alquenoato de alcoxi (1C-4C) alcoxi (2C-4C) alquilo (2C-4C), y un 2-alquenoato de vicinil epoxi alquilo (1C-4C), ácido acrílico, ácido metacrílico, acrilato de 2-hidroxietilo, metacrilato de 2-hidroxietilo, monoacrilato de dietilenglicol, monometacrilato de dietilenglicol, acrilato de 2-hidroxipropilo, metacrilato de 2-hidroxipropilo, acrilato de 3-hidroxipropilo, metacrilato de 3-hidroxipropilo, monoacrilato de dipropilenglicol, monometacrilato de dipropilenglicol, metacrilato de 2,3-dihidroxipropilo, acrilato de glicidilo, metacrilato de glicidilo y una combinación de dos o más de los mismos.
8. Producto de polvo seco obtenido mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o el procedimiento de preparación de un polvo seco según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, en el que el(los) líquido(s) se selecciona(n) de entre el grupo que consiste en agua, un alcohol (1C-10C), un poliol (2C-8C), un éter alquílico (1C-4C) de un poliol (2C-8C), un éster de ácido (1C-4C) de un poliol (2C-8C), un polióxido de etileno terminado en hidroxil, un polialquilenglicol y un éster hidroxialquílico (2C-4C) de un ácido mono-, di- o tricarbónico, agua, metanol, etanol, alcohol isopropílico, etilenglicol, dietilenglicol, trietilenglicol, polietilenglicol 200-600, propilenglicol, dipropilenglicol, 1,4-butanodiol, 2,3-butanodiol, 1,6-hexanodiol, 2,5-hexanodiol, éter monometílico de etilenglicol, éter monoetilico de etilenglicol, éter de metilcelosolve, monoacetato de etilenglicol, éter monometílico de propilenglicol, glicerina, monoacetato de glicerol, citrato de tri(2-hidroxietilo), oxalato de di(hidroxipropilo), diacetato de glicerilo, y monobutirato de glicerilo.
9. Producto de polvo seco obtenido mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y 7 a 8 o el procedimiento de preparación de un polvo seco según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5 y 7 a 8, en el que la etapa a) comprende además añadir de 0,1 a 15 por ciento en moles de un agente de reticulación.
10. Producto de polvo seco obtenido mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o el procedimiento de preparación de un polvo seco según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, en el que la etapa a) comprende además añadir de 0,01 a 10 por ciento en moles de un tensioactivo a un sistema de polimerización que comprende un monómero, o dos o más monómeros diferentes, en el que el monómero o por lo menos uno de los dos o más monómeros comprende(n) uno o más grupos hidroxil y/o uno o más éster, en un líquido polar o mezcla de líquidos polares, en el que el líquido polar o por lo menos uno de los dos o más líquidos polares comprende(n) uno o más grupos hidroxil, y añadir de 1 a 90 por ciento en peso de una o más sustancias de trabajo en el(los) líquido(s) polar(es) antes de la polimerización, polimerizar el(los) monómero(s) para formar una pluralidad de nanopartículas poliméricas, en el que la adición es en ausencia de un agente de reticulación, y proporcionar nanopartículas poliméricas que contienen sustancia de trabajo.
11. Producto de polvo seco obtenido mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o el procedimiento de preparación de un polvo seco según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 10, que comprende además añadir una cantidad ocluyente eficaz de un compuesto antibiótico al(a los) líquido(s) polar(es) antes de la polimerización y/o al polvo seco preparado mediante la etapa b), y mezclar en seco.
12. Producto de polvo seco obtenido mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 o el procedimiento de preparación de un polvo seco según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 11, en el que la cantidad ocluyente eficaz de las nanopartículas poliméricas que contienen sustancia de trabajo ocluye de 0,1 a 90 por ciento en peso del líquido que contiene sustancia(s) de trabajo.
13. Producto de polvo seco obtenido mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 o el procedimiento de preparación de un polvo seco según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 12, en el que la etapa b) comprende además añadir una o más sustancias de trabajo al polvo seco y mezclar para proporcionar un material compuesto de sustancia(s) de trabajo/polvo en partículas.
14. Producto de polvo seco obtenido mediante el procedimiento según la reivindicación 13 o el procedimiento de preparación de un polvo seco según la reivindicación 13, en el que el material compuesto de sustancia(s) de trabajo/polvo en partículas contiene de 1 a 90 por ciento en peso de sustancia(s) de trabajo.
15. Producto de polvo seco obtenido mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 14 o el procedimiento de preparación de un polvo seco según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 14, en el que la(s) sustancia(s) de trabajo comprende(n) uno o más agentes biomédicos, que pueden ser iguales o diferentes, y se seleccionan de entre el grupo de: uno o más materiales de andamiaje de crecimiento de tejidos; células o

- 5 plaquetas; uno o más agentes farmacéuticos; uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables; un péptido, una proteína; un polisacárido; un(os) agente(s) farmacéutico(s) útil(es) para el tratamiento de heridas; un(os) agente(s) farmacéutico(s) útil(es) para el tratamiento del cáncer; antibióticos; un(os) agente(s) farmacéutico(s) útil(es) para el tratamiento del dolor; un(os) agente(s) farmacéutico(s) útil(es) para el tratamiento de una infección; un(os) agente(s) farmacéutico(s) útil(es) para el tratamiento de enfermedades del ojo; colágeno; ácido hialurónico; un factor de crecimiento; eritromicina; doxiciclina; rifampicina; polipéptido(s) VEGF; polipéptido(s) PDGF; y lidocaína.
- 10 16. Producto de polvo seco obtenido mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, para su utilización para tratar un sitio de herida húmeda *in situ* o *in vivo*.

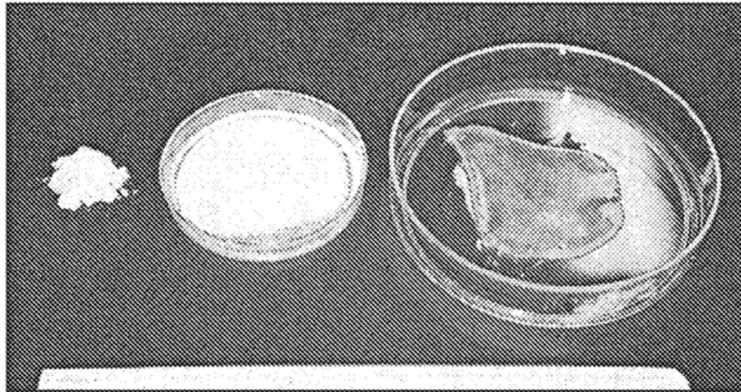


FIG. 1

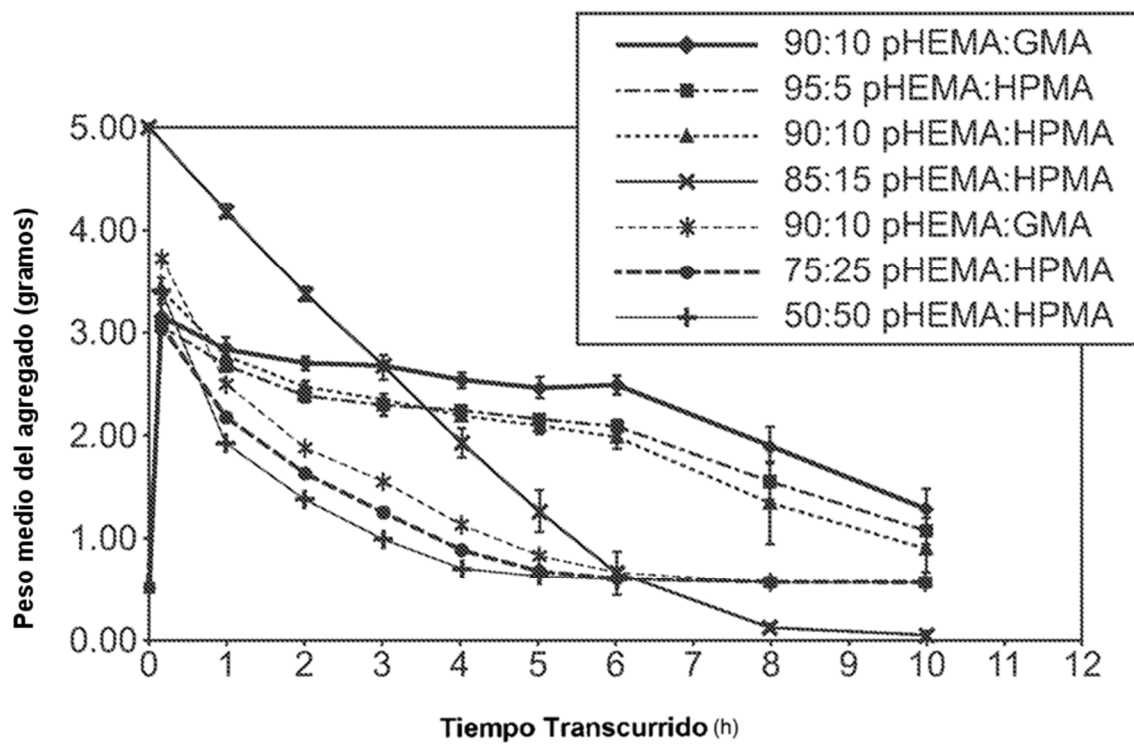


FIG. 2

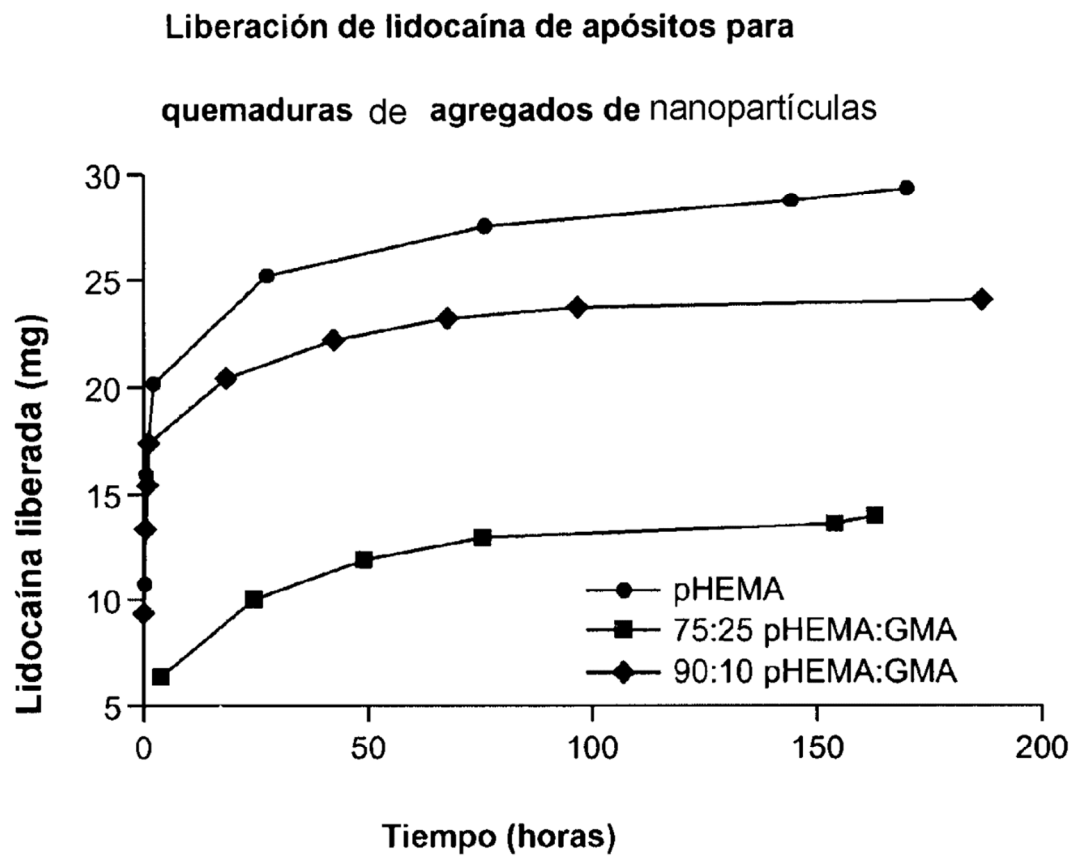


FIG. 3

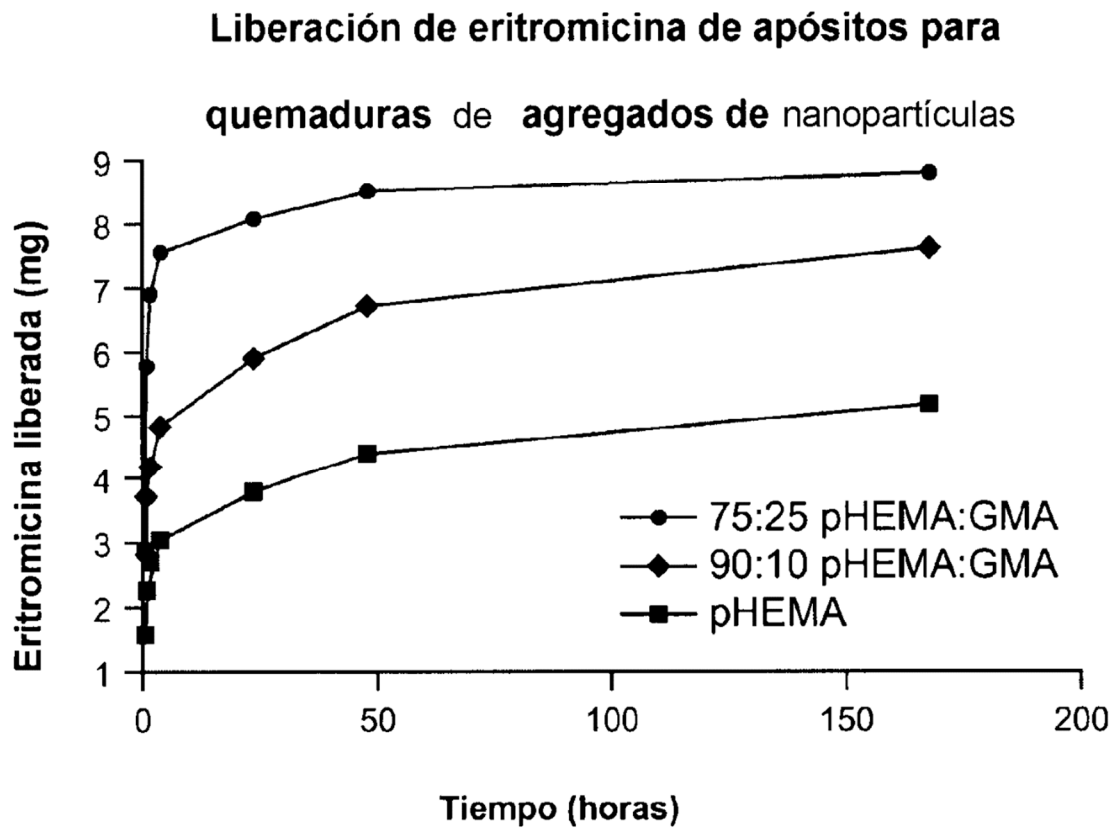


FIG. 4

1,10 fenantrolina liberada en 100ml de PBS a 37°C

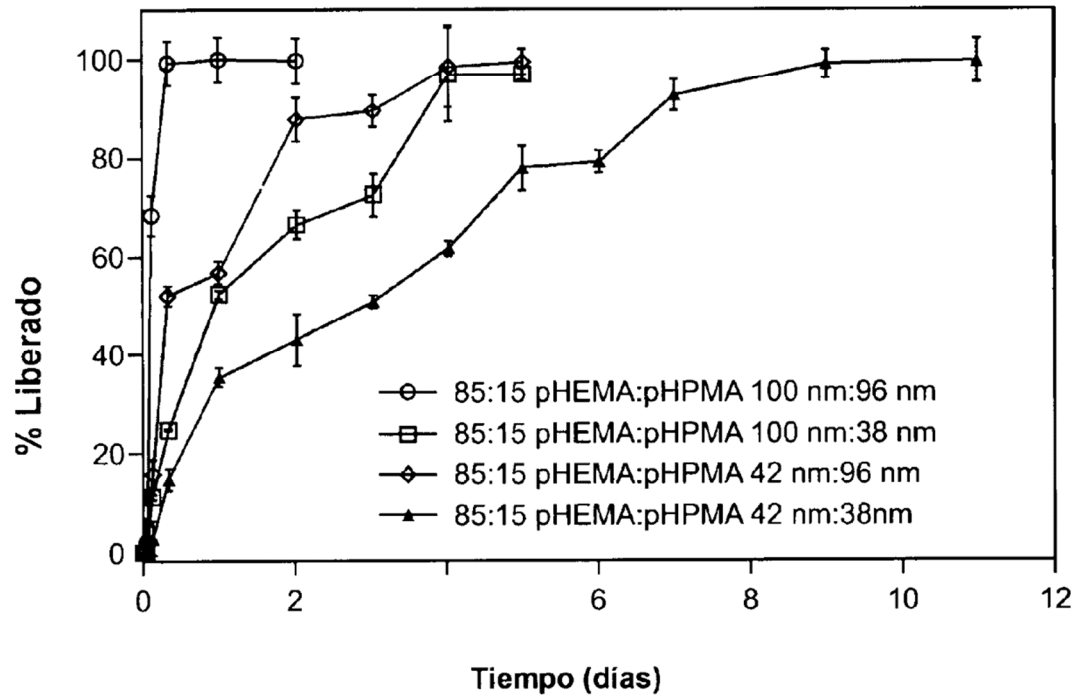


FIG. 5

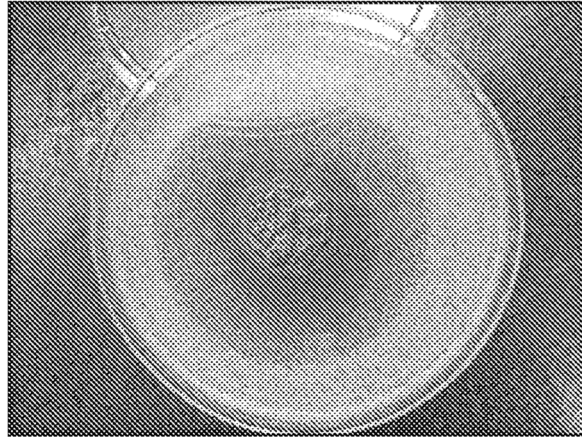


FIG. 6

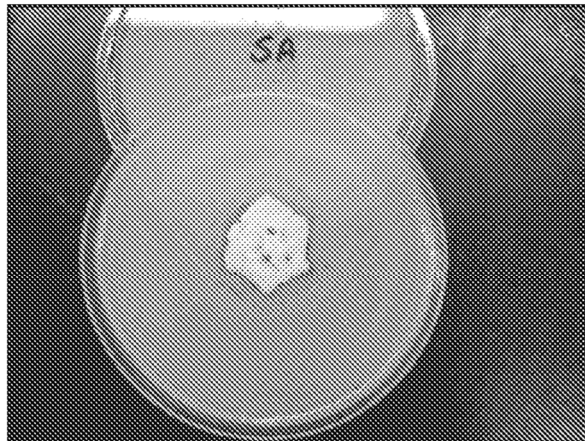


FIG. 7

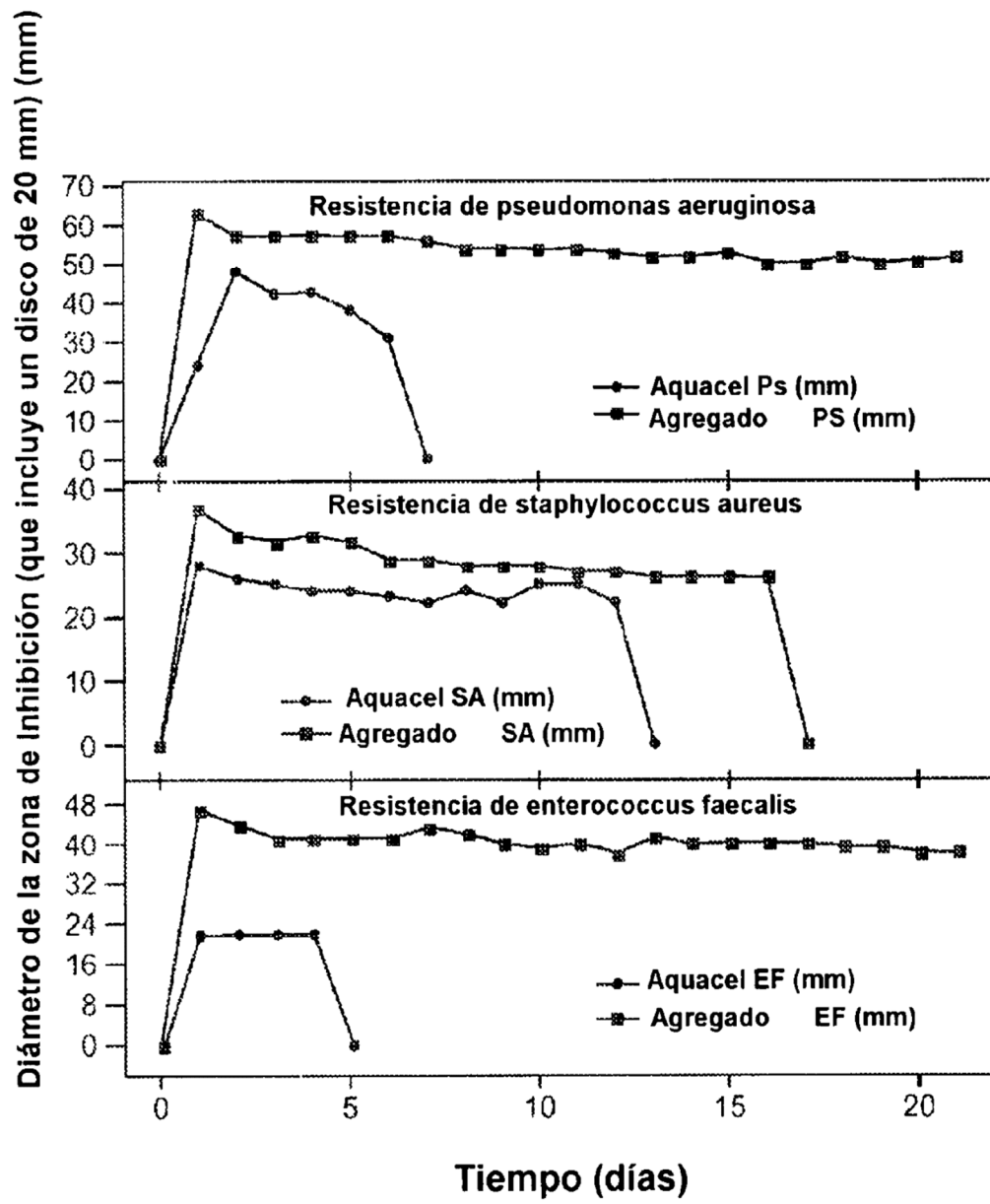


FIG. 8

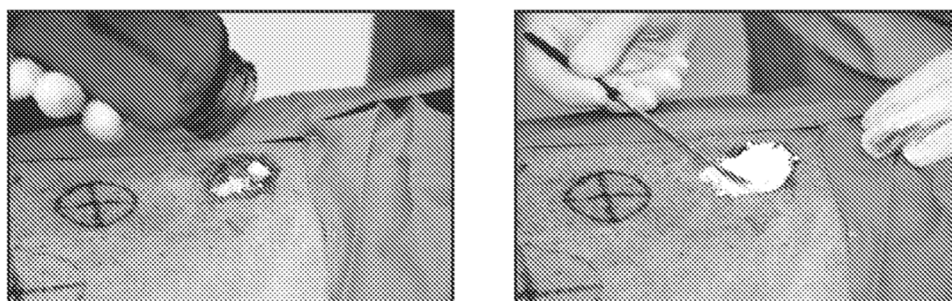


FIG. 9

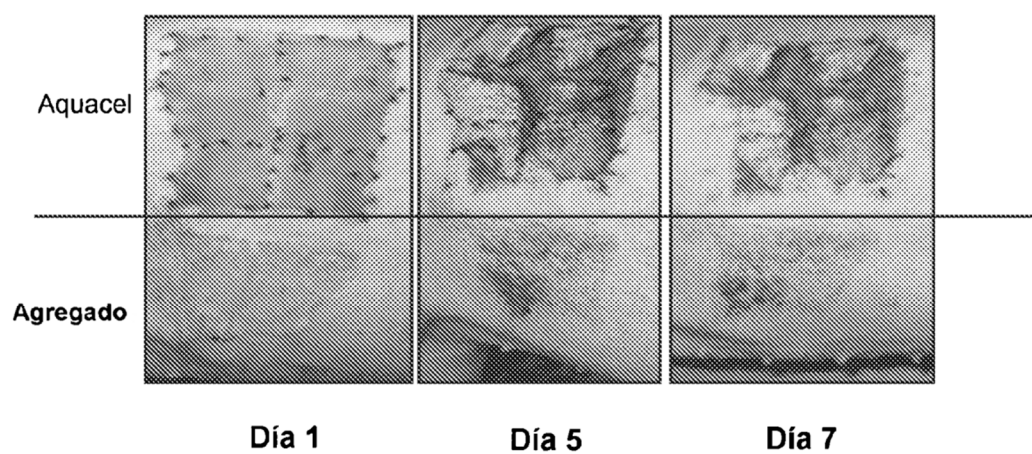


FIG. 10

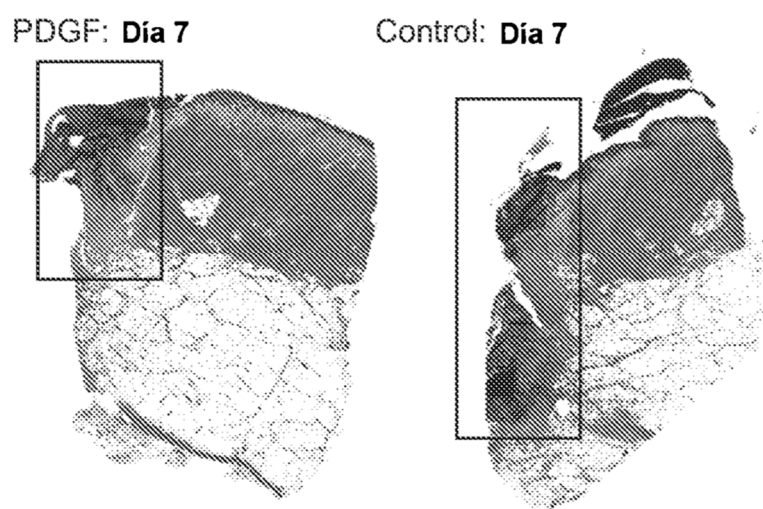


FIG. 11

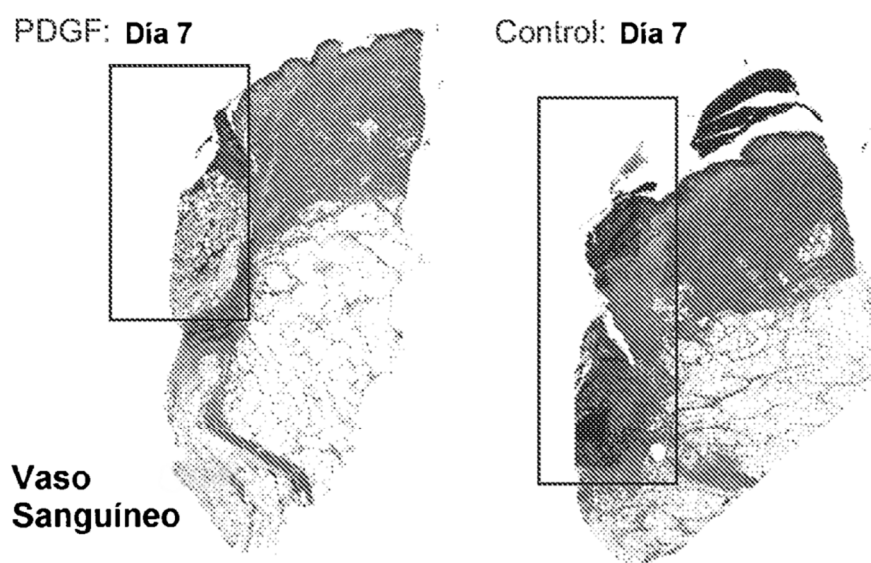


FIG. 12

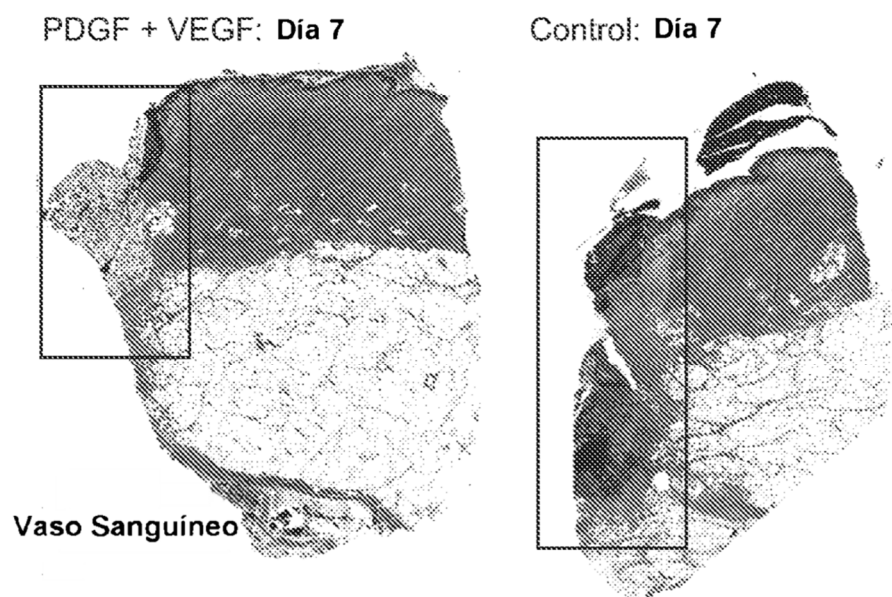


FIG. 13