

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 748 805**

51 Int. Cl.:

A61L 26/00 (2006.01)

A61K 9/16 (2006.01)

A61P 17/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.09.2013 PCT/IL2013/050774**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.03.2014 WO14041543**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.09.2013 E 13838041 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.07.2019 EP 2895209**

54 Título: **Composiciones de cicatrización de heridas mejoradas que comprenden microesferas**

30 Prioridad:

13.09.2012 US 201261700362 P

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

18.03.2020

73 Titular/es:

**POLYHEAL LTD. (100.0%)
42 Hayarkon Street, North Industrial Zone
8122745 Yavne, IL**

72 Inventor/es:

**RITTER, VLADIMIR;
KLEYMAN, MERY;
BARTFELD, DEBORAH HANAH y
ASCULAI, EILON**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 748 805 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones de cicatrización de heridas mejoradas que comprenden microesferas

5 **Campo de la invención**

[0001] La presente invención se refiere al campo de la cicatrización de heridas. En particular, la invención está dirigida a composiciones mejoradas que comprenden microesferas para tratar heridas y métodos para fabricarlas.

10 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

[0002] Las heridas crónicas y difíciles de curar representan una carga significativa para los pacientes, los profesionales de la salud y el sistema de salud, afectando solo en los Estados Unidos a casi 6 millones de pacientes y con un costo estimado de 20 mil millones de dólares anuales. Las personas con enfermedades subyacentes tienden a sufrir heridas crónicas, y la cicatrización de heridas deteriorada es un sello distintivo de una variedad de afecciones médicas.

[0003] Normalmente, los procesos de curación de heridas se componen de los siguientes pasos: (1) respuesta vascular (hemostasia); (2) respuesta inflamatoria (inflamación); (3) una fase proliferativa (granulación, epitelización) también conocida como fase de crecimiento activo; y (4) una fase de maduración (fase de reconstrucción). La duración, la eficiencia y el orden de las etapas de curación de la herida pueden verse alterados, lo que conduce a una herida crónica. Una serie de factores exógenos y endógenos, así como una variedad de afecciones médicas pueden causar dicha alteración. Ejemplos de tales factores incluyen infecciones, ulceración, trastornos de la circulación, desnutrición, estrés, radioterapia y/o quimioterapia contra el cáncer, envejecimiento y trauma.

[0004] Las patentes de los Estados Unidos números 5.861.149 y 6.086.863, para un inventor de la presente solicitud, se refieren a una composición y un método para tratar una herida que consiste esencialmente en un agente capaz de formar un contacto multipunto con una membrana celular, siendo dicho agente sustancialmente no biodegradable durante el período de tratamiento. En realizaciones particulares, el agente es microesferas hechas de polímero no biodegradable (por ejemplo, poliestireno) y que lleva una carga eléctrica sustancial.

[0005] La patente de EE.UU. n° 7.465.463 se refiere a composiciones de microesferas que tienen la capacidad de curación de heridas con propiedades anti-inflamatorias para aplicación a inflamación ocular o lesiones, y a métodos de uso de dicha composición sola o en combinación con otros agentes en la prevención y tratamiento de inflamación ocular o lesiones.

[0006] A pesar del creciente número de terapias disponibles, la cicatrización de heridas, como las crónicas y difíciles de curar las heridas siguen siendo una carga rigurosa médica, social y económica. En la actualidad, existe una creciente necesidad de enfoques terapéuticos que promuevan la curación de heridas. Sigue habiendo una necesidad insatisfecha y sería muy ventajoso tener composiciones mejoradas, estables y rentables para curar una herida.

40 **RESUMEN DE LA INVENCION**

[0007] La invención proporciona composiciones farmacéuticas para el tratamiento de una herida, las composiciones comprenden microesferas de poliestireno como un ingrediente activo. En algunas realizaciones, la composición comprende microesferas, una solución hipotónica, cuya solución hipotónica es agua, como vehículo para las microesferas. En realizaciones adicionales, las composiciones comprenden un agente (por ejemplo, un excipiente) disuelto dentro del agua para formar una solución que tiene un peso específico similar al de las microesferas. La invención proporciona además métodos para curar una herida en un sujeto usando dichas composiciones, y métodos para preparar dichas composiciones.

[0008] La presente invención se basa, en parte, en el sorprendente descubrimiento de que las microesferas de poliestireno en suspensión en una solución hipotónica son significativamente más eficaces en la curación de heridas de microesferas suspendidas en solución salina, una solución isotónica. Si bien la solución salina se considera el estándar de atención para la limpieza, humectación, remojo e hidratación de heridas, la curación de heridas fue significativamente más rápida cuando se usó, una solución hipotónica como vehículo para las microesferas.

[0009] Como se ejemplifica en el presente documento a continuación, heridas de espesor total inducidas en ratas Sprague-Dawley fueron tratadas con múltiples aplicaciones de microesferas de poliestireno en solución salina o microesferas de poliestireno en agua destilada. Inesperadamente, las heridas tratadas con microesferas de poliestireno en agua destilada alcanzaron un 50% de cierre de la herida significativamente más rápido que las heridas tratadas con microesferas de poliestireno suspendidas en solución salina.

[0010] En realizaciones adicionales, la invención proporciona composiciones mejoradas que comprenden un engrosamiento agente añadido a o se disuelve en el agua para formar una solución portadora que tiene una gravedad específica sustancialmente similar a las microesferas de poliestireno. Sin desear estar sujeto a ninguna teoría o mecanismo de acción, el uso de una solución que tenga una gravedad específica similar a la de las microesferas evita

la agregación o el asentamiento de las microesferas con el tiempo, asegurando así la aplicación exacta y precisa de la composición de curación de heridas.

5 **[0011]** De acuerdo con un primer aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica para tratar una herida que comprende microesferas de poliestireno cargadas negativamente en suspensión en una solución hipotónica, en el que la solución hipotónica es agua, la composición farmacéutica comprende además un agente espesante, en el que el agente espesante forma una solución que tiene un peso específico en el rango de 1,02 - 1,07 gramos por centímetro cúbico medido a 25°C, similar al peso específico de las microesferas de poliestireno.

10 **[0012]** En realizaciones particulares, las microesferas de poliestireno tienen un peso específico de aproximadamente 1,05 gramos por centímetro cúbico.

15 **[0013]** Ejemplos no limitativos de agentes espesantes útiles para el aumento de la gravedad específica del agua se selecciona del grupo que consiste en: polímeros sintéticos hidrófilos, azúcares o derivados de los mismos, glicerol o glicerina, sus derivados o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el polímero sintético hidrófilo se selecciona de propilenglicol (PPG) y polietilenglicol (PEG). En algunas realizaciones, los azúcares se seleccionan del grupo que consiste en sacarosa, glucosa, sorbitol y manitol. Ejemplos no limitantes adicionales de agentes espesantes son ácido cítrico y resorcinol. En una realización ejemplificada, el agente espesante es glicerol, o un derivado del mismo.

20 **[0014]** En algunas realizaciones, los agentes espesantes constituyen 1% a 50% en peso de la composición, 10% a 30% en peso de la composición, o aproximadamente 20% a aproximadamente 25% en peso de la composición.

25 **[0015]** Según otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica para tratar una herida que consta de poliestireno esencialmente de carga negativa microesferas en una solución hipotónica. En algunas realizaciones, dicha solución hipotónica es agua, por ejemplo, agua destilada. En una realización ejemplificada, dicha agua es agua estéril. En una realización ejemplificada, dicha agua es agua para inyección (WFI).

30 **[0016]** En otra realización, las microesferas de poliestireno de las composiciones de la invención tienen un diámetro en un intervalo de 0,02 μm a 20 μm . En otra realización, las microesferas de poliestireno tienen un diámetro de aproximadamente 0,1 μm a aproximadamente 20 μm o de 1 μm a 10 μm .

35 **[0017]** En aún otra realización, las microesferas de poliestireno constituyen 0,001% a 10% en peso de la composición. En una realización particular, la pluralidad de microesferas de poliestireno constituye del 0,001% al 0,09%, o aproximadamente el 0,025% en peso de la composición.

40 **[0018]** En realizaciones particulares, las microesferas de las composiciones y métodos de la invención forman un contacto de múltiples puntos con una membrana celular. En otra realización, dichas microesferas tienen grupos superficiales cargados negativamente. En otra realización más, dichas microesferas son sustancialmente no biodegradables durante el periodo de tratamiento.

[0019] En otra realización, la composición se formula para la administración tópica sobre una herida.

45 **[0020]** Según otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de una herida en un sujeto en necesidad del mismo, la composición comprende cargado negativamente microesferas de poliestireno, agua y opcionalmente un agente espesante, dicho agente espesante se forma una solución con una gravedad específica sustancialmente similar a las microesferas de poliestireno.

50 **[0021]** En algunas realizaciones, la herida se selecciona del grupo que consiste de una quemadura, una herida de curación difícil (o lenta), trauma y una herida crónica. En otra realización, la herida crónica se selecciona del grupo que consiste en úlcera diabética, una úlcera por presión, una úlcera arterial, una úlcera venosa, úlceras de decúbito asociadas con discapacidad a largo plazo y úlceras por presión, una herida aguda o una herida quirúrgica. En una realización adicional, la herida está asociada con estados en los que la capacidad normal de reparación de la herida se debilita.

55 **[0022]** Según otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica contenida en un paquete para el tratamiento de una herida en un sujeto, la composición que comprende 0,001% - 10% en peso de carga negativa microesferas de poliestireno en suspensión en una solución hipotónica. En algunas realizaciones, la solución hipotónica es agua esterilizada. En realizaciones adicionales, la solución hipotónica es agua destilada. En realizaciones particulares, dicha solución hipotónica es WFI. Según otra realización más, dicha solución hipotónica es agua, y la composición farmacéutica comprende además un agente espesante que forma una solución que tiene un peso específico sustancialmente similar a las microesferas de poliestireno.

65 **[0023]** Según otro aspecto, se proporciona un kit para tratar una herida en un sujeto, que comprende el kit (i) un recipiente, (ii) una composición farmacéutica dentro del contenedor, e (iii) instrucciones para la aplicación de dicha composición farmacéutica para la herida, la composición farmacéutica que comprende 0,001% - 10% en peso de

microesferas de poliestireno cargadas negativamente suspendidas en una solución hipotónica. En algunas realizaciones, la solución hipotónica es agua esterilizada. En realizaciones adicionales, la solución hipotónica es agua destilada. En realizaciones particulares, dicha solución hipotónica es WFI. Según otra realización más, dicha solución hipotónica es agua, y la composición farmacéutica comprende además un agente espesante que forma una solución que tiene un peso específico sustancialmente similar a las microesferas de poliestireno.

[0024] Otros objetos, características y ventajas de la presente invención resultarán evidentes de la siguiente descripción y los dibujos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0025]

La Figura 1 representa el efecto de curación de heridas de microesferas de poliestireno en agua para inyección (WFI) en comparación con solución salina. Las ratas se anestesiaron y se produjeron heridas de grosor completo en su lado dorsal (día 0). En cada animal se aplicaron microesferas de poliestireno en WFI en la herida izquierda y se aplicó solución salina en la herida derecha. Las heridas fueron luego vestidas con gasa. Las ratas fueron anestesiadas, fotografiadas, tratadas y vestidas los días 0, 2, 4, 7, 9, 11 y 14.

La Figura 2A es un gráfico que muestra la cinética de cicatrización de heridas de microesferas de poliestireno en WFI (línea discontinua) en comparación con solución salina (línea recta).

La Figura 2B es un gráfico que muestra la cinética de cicatrización de heridas de microesferas de poliestireno en WFI (línea recta) en comparación con las microesferas en solución salina (línea discontinua).

La Figura 3 es un gráfico que muestra la cinética de cicatrización de heridas de microesferas de poliestireno suspendidas en WFI y 22% de glicerol (línea discontinua) en comparación con las microesferas en DMEM (línea recta).

La Figura 4 es un gráfico que muestra la cinética de cicatrización de heridas de microesferas de poliestireno suspendidas en WFI y 22% de glicerol (pH 5) (se muestra usando una línea discontinua) en comparación a microesferas en DMEM (línea recta).

La Figura 5 es un gráfico que muestra la cinética de cicatrización de heridas de microesferas de poliestireno suspendidas en WFI y glicerol al 22% (pH 7) (que se muestra con una línea discontinua) en comparación con las microesferas en DMEM (línea recta).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0026] La presente invención proporciona, en algunas realizaciones, las composiciones médicas y/o farmacéuticas que comprenden negativamente carga microesferas de poliestireno en suspensión en agua. La invención proporciona además composiciones médicas o farmacéuticas que comprenden las microesferas de poliestireno y un agente espesante disuelto o dispersado dentro del agua para formar una solución que tiene un peso específico sustancialmente similar a dichas microesferas de poliestireno. La presente invención proporciona además métodos para curar una herida en un sujeto usando dichas composiciones, métodos para preparar la misma y kits que comprenden dichas composiciones.

[0027] Como se ejemplifica en el presente documento a continuación, de espesor total heridas inducidas en ratas Sprague-Dawley fueron tratadas con múltiples aplicaciones de microesferas de poliestireno en solución salina o de poliestireno microesferas en agua para inyección (WFI). Inesperadamente, las microesferas de poliestireno en las heridas tratadas con WFI alcanzaron un 50% de cierre de la herida significativamente más rápido que las heridas tratadas con microesferas de poliestireno en solución salina.

[0028] Por lo tanto, en algunas realizaciones de la presente invención, las microesferas se suspenden o se dispersan en agua. En virtud del uso de agua como vehículo de las microesferas, las composiciones se esterilizan fácilmente y se pueden mantener a temperatura ambiente (es decir, no requieren refrigeración). En algunas realizaciones, las composiciones son ventajosas para su uso por sujetos que demuestran hipersensibilidad a composiciones terapéuticas, tales como las composiciones descritas en las Publicaciones de Solicitud de Patente Internacional N^{os} WO 98/055108 y WO 00/024378.

[0029] En algunas realizaciones, la invención proporciona una composición médica farmacéutica o para el tratamiento de una herida que comprende o consiste de microesferas de poliestireno y agua cargadas negativamente. Las composiciones de la invención comprenden además un agente espesante soluble en agua añadido o disuelto dentro del agua para formar una solución que tiene un peso específico sustancialmente similar al de las microesferas. En algunas realizaciones, el agente espesante se dispersa en el agua para formar una dispersión que tiene un peso específico sustancialmente similar a las microesferas de poliestireno.

[0030] En algunas realizaciones, las microesferas permanecen en suspensión o dispersión durante un largo período de tiempo cuando se utiliza una solución que tiene una gravedad específica sustancialmente similar a la de las microesferas. El uso de dichas composiciones mejoradas asegura la aplicación precisa de la composición de curación de heridas. Por ejemplo, el paso esencial de mezclar la composición antes de su aplicación a la herida (para asegurar

que las microesferas se suspendan/dispersen) puede evitarse, lo cual es particularmente ventajoso en una gran parte de los sujetos que tienen heridas crónicas, como los sujetos de edad avanzada.

5 **[0031]** En un ejemplo de realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende (i) aproximadamente 0,001% - 10% en peso de microesferas de poliestireno con carga negativa, (ii) aproximadamente el 10% - 30% en peso de glicerol, glicerina, una combinación o un derivado del mismo, y (iii) agua como vehículo para dichas microesferas.

10 **[0032]** De acuerdo con ciertas realizaciones, se proporciona un método para preparar las composiciones de la presente invención. En algunas realizaciones, el método comprende los siguientes pasos generales: agregar un agente espesante a una solución hipotónica (por ejemplo, agua destilada o WFI) para formar una solución que tenga un peso específico sustancialmente similar a las microesferas (por ejemplo, en el rango de 1,02 g/cm³ y 1,07 g/cm³); y agregar dichas microesferas cargadas negativamente a la solución.

15 **[0033]** En algunas realizaciones, se prepara la solución portadora y luego se añaden las microesferas a la solución. En otras realizaciones, las microesferas se agregan a la solución antes del ajuste de la gravedad específica de la solución. Preferiblemente, la gravedad específica de la solución portadora se ajusta y opcionalmente se inspecciona, antes y/o después de la adición de las microesferas. Un experto en la técnica apreciará que, dependiendo del tipo de agente espesante, se requieren diversos periodos de tiempo de mezcla para la preparación de la solución portadora.
20 En realizaciones no limitantes, el agente espesante se agrega y se mezcla durante al menos 5 minutos, al menos 10 minutos, al menos 15 minutos, al menos 20 minutos, al menos 30 minutos o al menos 60 minutos, antes de la adición de las microesferas.

25 **[0034]** En realizaciones particulares, la composición de la invención tiene un pH de aproximadamente 4 a aproximadamente 8, de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 7,5, o aproximadamente 5 a aproximadamente 7. En una realización, dicha composición tiene un pH de 4,5 a 5,5 (por ejemplo, 5). En otra realización, dicha composición tiene un pH de aproximadamente 6,5 a 7,5 (por ejemplo, 7).

30 **[0035]** Típicamente, el agua usada en las composiciones y métodos de la invención es agua esterilizada. En algunas realizaciones, el agua es agua destilada. En una realización ejemplificada, dicha agua es agua para inyección (WFI).

[0036] El agua para inyección (WFI) se conoce en la técnica como agua destilada estéril, no pirogénica, disponible comercialmente en un recipiente de dosis única para administración intravenosa después de la adición de un soluto adecuado. El pH de WFI es 5,5 (5,0 a 7,0) y la osmolaridad es 0.

35 **[0037]** Una "solución salina" es conocida en la técnica como una solución de cloruro de sodio obtenida por disolución de aproximadamente 9 gramos de cloruro de sodio (NaCl) en 1 litro de agua destilada.

40 **[0038]** Como se usa en el presente documento, los términos "hipotónico", "isotónico" y "hipertónico" se refieren a una concentración relativa a la concentración de soluto en el citoplasma de una célula.

Gravedad específica

45 **[0039]** La gravedad específica es una expresión del peso de una sustancia con relación al peso de un volumen igual de agua. Típicamente, la gravedad específica se mide en 25°C. Por ejemplo, el agua tiene una gravedad específica de uno. En algunas realizaciones de la invención, un agente espesante se disuelve dentro del portador de agua para formar una solución que tiene una gravedad específica adecuada. En realizaciones particulares, una gravedad específica adecuada es similar a la de las microesferas dentro de las composiciones de la invención. La gravedad específica de las microesferas de poliestireno está normalmente en el rango de 1,05. En realizaciones particulares, el agente espesante soluble en agua tiene un efecto estabilizador de la solución. El término "efecto estabilizador de la solución" se refiere a las microesferas que permanecen en suspensión/dispersión (es decir, no se agregan) durante un período de tiempo sustancialmente largo. Un "período de tiempo sustancialmente largo" como se usa en el presente documento se refiere a un período de tiempo de al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos 30%, al menos 40% o al menos 50% más que las composiciones que comprende microesferas que carecen de un agente espesante. Como se describe en el presente documento, dicho efecto estabilizador de la solución se mantiene durante al menos tres meses.

60 **[0040]** En algunas realizaciones, una cantidad suficiente de un disolvente (es decir, un agente espesante soluble en agua) se disuelve en el agua tal que la solución tiene una gravedad específica entre 1,02 g/cm³ y 1,07 g/cm³, en particular entre 1,03 g/cm³ y 1,06 g/cm³, más particularmente entre 1,04 g/cm³ y 1,06 g/cm³. El agente espesante es cualquier elemento capaz de modificar la gravedad específica de la solución para que sea sustancialmente similar a la de las microesferas dentro de la composición. Los agentes adecuados incluyen solventes orgánicos y sales. Los disolventes orgánicos adecuados para aumentar la gravedad específica del agua incluyen glicoles, tales como etilenglicol, propilenglicol, polietilenglicol y polipropilenglicol.

65 **[0041]** Ejemplos no limitantes de agentes espesantes y su gravedad específica son: glicerol (1,129 a 25°C), glicol de

propileno (1,036 a 25°C), ácido cítrico (1,665 a 25°C), glicerina (1,263 a 25°C), glicerina al 50% de agua (1,13 a 20°C), resorcinol (1,272 a 25°C), PEG 300 (1,12 - 1,13 a 25°C), melaza (1,40-1,49 a 15,6°C), jarabe de maíz seleccionado de 86,4 Brix, 84,4 Brix y 78,4 Brix (1,405 - 1,459 a 15,6°C), sacarosa seleccionada de 60 Brix, 64 Brix, 68 Brix, 72 Brix, 74 Brix, 76 Brix (1,29 - 1,39 a 15,6°C); glucosa (1,35-1,44 a 15,6°C), sorbitol (1,29 a 20°C), manitol (1,50 a 25°C), manitol 20% en agua (0,965-1,070 a 25°C) y metilodextrina (2,95 a 25°C).

[0042] Además, el agente espesante está presente en la composición en un volumen adecuado para generar una gravedad específica dentro de los intervalos deseados (por ejemplo, sustancialmente similar a la de las microesferas). Como ejemplo no limitativo, el agente espesante es aproximadamente del 0,75 al 75,0 por ciento, del 1 al 50 por ciento, del 10 al 35 por ciento, alternativamente del 15 al 25 por ciento, en volumen, de la solución. En algunas realizaciones, el agente espesante es al menos 1, al menos 5, al menos 10, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20 por ciento en volumen de la solución. En otra realización, el agente espesante es como máximo 50, como máximo 40, como máximo 35, como máximo 34, como máximo 33, como máximo 32, como máximo 31, como máximo 30, como máximo 28, como máximo 28, como máximo 27 como máximo, 26 como máximo, como máximo 25 por ciento en volumen de la solución. En una realización ejemplificada, el agente espesante (por ejemplo, glicerol) es aproximadamente el 22 por ciento en volumen de la solución.

[0043] En realizaciones adicionales, el agente de engrosamiento no interfiere con la capacidad de las microesferas dentro de la composición para formar un contacto de múltiples puntos con una membrana celular. En otra realización más, el agente espesante no interfiere con la carga negativa de dichas microesferas. En realizaciones específicas, el agente espesante es no iónico.

[0044] En algunas realizaciones, la gravedad específica de la portadora está dentro de 0,04 de la gravedad específica de las microesferas. En otra realización, la gravedad específica del portador está dentro de 0,03 de la gravedad específica de las microesferas. En otra realización, la gravedad específica del portador está dentro de 0,02 de la gravedad específica de las microesferas. En otra realización más, la gravedad específica del portador está dentro de 0,01 de la gravedad específica de las microesferas. Una gravedad específica dentro de "X" se refiere a un intervalo que se extiende desde menos X a más X de la gravedad específica referenciada.

[0045] Como se usa en el presente documento los términos "sustancialmente similar", "sustancialmente idéntico" o "sustancialmente igual" con respecto a la gravedad específica de las microesferas de poliestireno, se refiere a la alteración de la gravedad específica de la portadora para parecerse a la gravedad específica de la microesferas, de modo que las microesferas permanecen en suspensión o dispersión durante un periodo de tiempo más largo (en comparación con un vehículo inalterado). Por ejemplo, una gravedad específica sustancialmente similar se refiere a un intervalo que se extiende desde menos 0,04 de la gravedad específica referenciada a más 0,04 de la gravedad específica referenciada, o a un intervalo que se extiende desde menos 0,03 de la gravedad específica referenciada a más 0,03 de la gravedad específica referenciada, alternativamente a un intervalo que se extiende desde menos 0,02 de la gravedad específica referenciada a más 0,02 de la gravedad específica referenciada.

Microesferas

[0046] Las microesferas dentro de las composiciones de la invención son capaces de promover la curación de heridas sin la adición adicional o inserción de ningún fármaco u otra sustancia terapéutica. Dichas microesferas no se degradan ni experimentan otra alteración química para producir su efecto terapéutico, y se consideran el ingrediente activo en las composiciones de la presente invención, en lugar de actuar simplemente como un vehículo para otro ingrediente activo diferente.

[0047] En una realización, las microesferas de la invención forman un contacto de múltiples puntos con una membrana celular, tal como la membrana celular externa. En otra realización, dichas microesferas son sustancialmente no biodegradables durante el período de tratamiento (es decir, hasta que la herida esté esencialmente curada). En otra realización más, dichas microesferas promueven la cicatrización de heridas sin una alteración o degradación química significativa. Las microesferas son sustancialmente insolubles en medios acuosos y forman una suspensión o dispersión en dichos medios.

[0048] En otra realización, dichas microesferas han cargado negativamente grupos superficiales. Por lo general, la carga general transportada por las microesferas se puede medir como un potencial Z o zeta, como la movilidad electroforética (milivoltios) por un ZetaMaster (Malvern Instruments, Reino Unido). En algunas realizaciones, el término "cargado" se refiere a un potencial Z con un valor de al menos aproximadamente -1 mV, de al menos aproximadamente -10 mV, o de al menos aproximadamente -20 mV. En otras realizaciones, la carga negativa varía de aproximadamente -30 mV a aproximadamente -80 mV.

[0049] La estructura de estas microesferas incluye un núcleo y al menos un tipo de grupo superficial cargado que está presente al menos en el exterior del núcleo de la microesfera. Los ejemplos de materiales adecuados para el núcleo incluyen, entre otros, polímeros de cadena larga como poliestireno, poliestireno derivado, látex, polipalana, polilisina, bromuro de poli-N-etil-4-vinilpiridinio, polimetilacrilato (PMMA) y silicona. Preferiblemente, el material se selecciona del grupo que consiste en poliestireno y poliestireno derivado. Los ejemplos de grupos de superficie incluyen, pero no se

limitan a, sulfato, bromuro de polin-etil-4-vinilpiridinio, protamina, sulfato de protamina, sales de protamina, polilisina, carboxilo, poliestireno y poliestireno derivado. Más preferiblemente, el grupo de superficie se selecciona del grupo que consiste en poliestireno, poliestireno derivado, polilisina y carboxilo. Estos grupos de superficie pueden estar presentes como parte del núcleo de la microesfera, o pueden agregarse posteriormente mediante procesos químicos tales como la derivatización del polímero de cadena larga. En lo sucesivo, el término "derivatización" se refiere al proceso de alterar, modificar o cambiar químicamente una molécula o una porción de la misma.

[0050] Por lo tanto, la estructura de las microesferas incluye un "núcleo" y un "grupo de superficie", que son dos elementos separados, a pesar de que la lista de posibles especies de cada uno de estos elementos se solapa. Por ejemplo, el poliestireno puede ser tanto un grupo de superficie como un material central de la microesfera.

[0051] Los expertos en la materia apreciarán que estas microesferas, más generalmente descritas como "agentes", pueden ser perlas, partículas o glóbulos que son sólidos o huecos. La forma de los agentes puede ser regular, tal como esférica o elíptica, o formas no esféricas regulares; o la forma de las partículas puede ser no regular, de modo que la superficie no sea una sola curva continua o que la superficie no sea lisa. Además, los agentes pueden ser una mezcla de diferentes polímeros y también pueden ser una mezcla de diferentes partículas, perlas o glóbulos de diferentes tamaños. Los agentes también pueden tener poros de diferentes tamaños.

[0052] En realizaciones particulares, las microesferas de la invención están hechas de poliestireno, ya sea con grupos superficiales carboxilo o amino o sin grupos superficiales adicionales.

Uso terapéutico

[0053] En realizaciones particulares, las composiciones farmacéuticas de la presente invención son útiles para el tratamiento de una herida en un sujeto en necesidad del mismo.

[0054] Una amplia variedad de heridas se pueden tratar con la composición de la invención incluyendo, pero no limitado a, las heridas por quemadura de espesor total y parcial, quemaduras, congelaciones; lesiones ulcerativas tales como úlceras por presión (decúbito) y úlceras varicosas, estasis y tróficas; heridas asociadas con procedimientos quirúrgicos tales como amputación, incisión, circuncisión y episiotomía; heridas traumáticas y piógenas; vaginitis cervicitis; heridas de quistes pilonidales; fisura patológica y hemorroides patológicas.

[0055] De acuerdo con ciertas realizaciones, las heridas están asociadas con estados en los que se debilita la capacidad de curación de herida normal. De acuerdo con las realizaciones típicas, las heridas están asociadas con estados tales como diabetes y/o ocurren en pacientes en su edad avanzada o durante el tratamiento con esteroides o quimioterapia. De acuerdo con realizaciones típicas, la herida se selecciona del grupo que consiste en úlceras del pie diabético, úlceras neuropáticas que incluyen úlceras neuropáticas del antepié, quemaduras, úlceras de presión diabética o úlceras venosas diabéticas; úlceras de decúbito o úlceras por presión asociadas con discapacidad a largo plazo, cada una de las cuales representa una realización separada de la presente invención.

[0056] Desde el punto de vista anatómico, los tejidos que pueden tratarse con la presente invención incluyen, pero no se limitan a, piel y músculo. El término "sujeto" se refiere en realizaciones particulares a un mamífero, preferiblemente un ser humano.

[0057] El método de la presente invención puede también usarse cosméticamente, como para evitar formación de cicatriz excesiva en un corte u otra herida de la piel tal como la piel de la cara, y para tratar el acné. En un sentido cosmético, el término "formación de cicatriz en exceso" incluye cualquier cicatrización que sea cosméticamente indeseable o inaceptable.

[0058] Tal como se utiliza aquí, el término "quemadura" se refiere a una lesión en los tejidos causados por los efectos del calor, frío, productos químicos, energía eléctrica, o de irradiación.

[0059] El término "heridas crónicas" o "duras para sanar heridas" tal como se utiliza aquí se refiere a condiciones clínicas que tienen síntomas característicos en donde las heridas no cicatrizan por un tiempo prolongado y pueden tener una tendencia a la recurrencia. Las heridas crónicas generalmente están asociadas con estados en los que se debilita la capacidad normal de curación de heridas, como diabetes, pacientes en su edad avanzada, pacientes con capacidad limitada de movimiento o pacientes durante el tratamiento con esteroides o quimioterapia. Por lo tanto, los pacientes con heridas que cicatrizan tan mal suelen ser los que sufren úlceras diabéticas, incluidas las úlceras del pie diabético, las úlceras neuropáticas diabéticas, incluidas las úlceras neuropáticas del antepié, las úlceras diabéticas por presión o las úlceras diabéticas venosas, así como los pacientes con capacidad de movimiento limitada que sufren de llagas en la cama. Las úlceras de decúbito generalmente afectan a las personas que permanecen en un lugar durante un tiempo prolongado por cualquier motivo.

[0060] Como se usa en el presente documento, los términos "gravedad de la quemadura" o "gravedad de la herida" se refieren a uno o más parámetros utilizados para clasificar la quemadura o herida, tales como el grado de quemadura/herida, el porcentaje del área total de superficie corporal afectada por la quemadura/herida y la profundidad

de la quemadura/herida.

[0061] La gravedad de una herida o una quemadura típicamente se clasifica en etapas y grados, respectivamente.

5 **[0062]** Heridas de etapa uno no tienen cortes de piel visibles. Sin embargo, la piel que cubre la herida puede ser notablemente diferente del área circundante. Las diferencias pueden ser cambios en la temperatura, firmeza o color de la piel. La herida también puede ser dolorosa o con picazón. En una herida de la etapa dos, se cortan las capas superiores de la piel (epidermis y dermis). Puede haber algo de drenaje. Las heridas de la etapa tres son más profundas que las heridas de la etapa 2. Típicamente descienden a la capa "grasa" (subcutánea), pero no se extienden más. Puede haber tejido muerto y drenaje. Las heridas de la cuarta etapa son muy graves. Estas heridas se caracterizan por ir tan lejos como el hueso y el músculo. El tejido muerto y el drenaje casi siempre están presentes. A menudo, en esta etapa, la herida también está infectada.

15 **[0063]** Las quemaduras de primer grado producen enrojecimiento e hinchazón de la parte lesionada, sin necrosis de ningún tejido o formación de ampollas. Las quemaduras de segundo grado muestran una destrucción variable de partes de la dermis, por lo que se producen ampollas. La curación por regeneración en tales quemaduras superficiales no requiere injerto de piel, a menos que se produzcan infecciones secundarias. Las quemaduras de tercer grado están marcadas por la destrucción completa de una región de la piel, incluida la necrosis de las estructuras accesorias de la piel, como el cabello y las glándulas sudoríparas. Una escara de color negro parduzco (una costra seca o mucosa) marca el tejido destruido. En las quemaduras profundas de tercer grado, también clasificadas como quemaduras de cuarto grado, el tejido se destruye al nivel o debajo de la fascia profunda que se encuentra debajo de la grasa subcutánea y el tejido conectivo del cuerpo. Los músculos, los huesos, los nervios más profundos e incluso los órganos pueden lesionarse o destruirse por este grave grado de quemaduras.

25 **[0064]** En algunas realizaciones, las composiciones de la invención son capaces de tratar heridas cutáneas y subcutáneas.

30 **[0065]** La cantidad de composición y el régimen de administración se establecerán de acuerdo con el tipo de quemadura o herida y la gravedad y los parámetros del sujeto, incluida la edad, el sexo y la salud general, medidos por un profesional experto y establecidos para ser seguros y efectivos en ensayos clínicos.

35 **[0066]** De acuerdo con ciertas realizaciones, las composiciones se aplican a la zona tratada en un régimen diario de una vez a dos veces. Según realizaciones adicionales, las composiciones se aplican al área tratada cada dos días, o dos veces por semana. El número de administraciones repetidas dependerá de la gravedad de la herida inicial.

40 **[0067]** El término "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o un estado gubernamental o enumerado en la Farmacopea de Estados Unidos, la Farmacopea de la UE o en otra farmacopea generalmente reconocida para uso en animales, y más particularmente en seres humanos. El término "portador" se refiere a un diluyente, excipiente o vehículo con el que se administra la microsfera. Los portadores son sustancias más o menos inertes cuando se agregan a una formulación para conferir una consistencia o forma adecuada a la formulación.

45 **[0068]** Los términos "cantidad eficaz" como se usa en conexión con las composiciones de la presente invención se refieren a una cantidad de la composición que es suficiente para conseguir un efecto de curación de heridas previsto. Por lo tanto, "una cantidad efectiva" se refiere a una cantidad no tóxica, pero suficiente de la composición para lograr resultados terapéuticos en el tratamiento de una quemadura o una herida como se describe aquí. Varios factores biológicos y la característica del portador pueden afectar la capacidad de una sustancia para realizar su tarea prevista. Por lo tanto, una "cantidad efectiva" o una "cantidad terapéuticamente efectiva" puede depender de tales factores biológicos. La determinación de una cantidad efectiva está dentro de la habilidad ordinaria en la técnica de dispositivos médicos, farmacéuticos, nutracéuticos, herbáceuticos y ciencias de la salud. Ver, por ejemplo, Meiner y Tonascia, "Clinical Trials: Design, Conduct, and Analysis," Monographs in Epidemiology and Biostatistics, vol. 8 (1986). De acuerdo con ciertos aspectos de la invención, el término "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad capaz de promover la curación de una herida o una quemadura, hasta completar la curación de los tejidos de la piel.

55 **[0069]** Como se usa en el presente documento los términos "sobre", "similar" o "aproximadamente", colocado antes de un valor "X" numérico, se refiere a un intervalo que se extiende desde X menos 10% de X a X más 10% de X, y preferentemente a un intervalo que se extiende desde X menos 5% de X hasta X más 5% de X.

60 **[0070]** Las concentraciones, cantidades, proporciones, y otros datos numéricos se pueden expresar o se presentan en este documento en un solo número o un formato de intervalo. Debe entenderse que el formato de rango se usa simplemente por conveniencia y brevedad y, por lo tanto, debe interpretarse de manera flexible para incluir no solo los valores numéricos expresados explícitamente como los límites del rango, sino también para incluir todos los valores numéricos individuales o sub rangos abarcados dentro de ese rango como si cada valor numérico y subrango se recitara explícitamente.

65 **[0071]** Los siguientes ejemplos se presentan con el fin de ilustrar más completamente algunas realizaciones de la

invención. Sin embargo, de ninguna manera deben interpretarse como limitantes del amplio alcance de la invención.

EJEMPLOS

5 MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

10 **[0072]** 11 Ratas Sprague-Dawley (hembra, 250-300 g, Harlan Laboratories, Jerusalén, Israel).

Artículo de prueba

[0073] Microesferas de poliestireno al 0,025% en agua para inyección (WFI).

15 Materiales

[0074] Coctél de Anestesia: una mezcla de: IML ketamina (100 mg/ml, Fort Dodge Animal Health, Fort Dodge, EE.UU.), 1 mL de xilazina (20 mg/ml, Europet), y 13 ml de NaCl 0,9%.

20 **[0075]** Analgesia: Buprinorfina (0,3 ml, VetMarket, Petach-Tikva, Israel 0,3 mg) 3,3 ml de Buprinorfina se diluye en 1 litro de agua potable.

[0076] Perlas de poliestireno de 0,025% en solución salina. Las soluciones de tratamiento se suministraron en el mismo contenedor blanco de polipropileno con cuentagotas de 15 ml.

25

Incisión de herida

[0077] Las ratas fueron numeradas y colocadas en jaulas separadas y se les dio acceso libre a comida y agua. Las ratas fueron anestesiadas para los cambios de apósito.

30

[0078] El dorso de ratas anestesiadas fue afeitado y esterilizado con EtOH (70%). La piel fue estirada y marcada para dos heridas que miden 1 x 2 cm en el lado dorsal de la rata. Utilizando bisturí y tijeras, se cortaron heridas de grosor completo que se extienden hasta la fascia muscular (sin incluir).

35 **[0079]** Las heridas izquierda a derecha de cada rata y se trató con solución de codificado (4 gotas para cubrir completamente el área de la herida). Las heridas estaban vestidas. Durante el experimento, las ratas recibieron analgesia en su agua potable (buprinorfina).

40 Tratamiento de heridas

[0080] Después de cada extracción de vestir, las fotos de las heridas fueron tomadas el día 0 y en cualquier otro día.

[0081] El área de las heridas se midió usando un software de análisis de imágenes. La tasa de cicatrización de cada herida se calculó mediante la ecuación:

45

$$\frac{\text{Area } t_0 - \text{Area } t_x}{\text{Area } t_0} \times 100$$

50 donde: (área t_0 = área original de la herida, t_x = tiempo desde la herida).

EJEMPLO 1

55 Velocidad de cierre de herida de las heridas tratadas con microesferas de poliestireno en agua para inyección (WFI) o con solución salina

[0082] Velocidad de cierre de las heridas de las heridas tratadas con solución salina o microesferas en solución salina se comparó a las heridas que se trataron con microesferas de poliestireno en WFI. El experimento se llevó a cabo en el Centro Médico Soroka de acuerdo con los procedimientos detallados anteriormente.

60

Prueba de curación de heridas (velocidad de cierre)

[0083] Se anestesiaron las ratas y se produjeron heridas de espesor total en su lado dorsal (día 0). En cada animal, se aplicaron microesferas cargadas negativamente de poliestireno de 5 μm suspendidas en WFI sobre la herida izquierda y se aplicó solución salina sobre la herida derecha. En un segundo conjunto de prueba, se aplicaron microesferas de poliestireno de 5 μm suspendidas en solución salina sobre la herida izquierda y se aplicaron

65

microesferas de poliestireno de 5 μm suspendidas en WFI sobre la herida derecha. Las heridas se cubrieron con gasa, rollo Kerlex y vendaje. Las ratas fueron anestesiadas, fotografiadas, tratadas y vestidas cada dos días. X indica rata expirada.

5 **[0084]** La Figura 1 muestra el seguimiento del cierre de la herida hasta el día 14. La Figura 2A presenta la comparación de la cinética de curación de las microesferas de poliestireno en WFI y heridas tratadas con solución salina. El tiempo medio de curación del 50% se calculó por extrapolación del gráfico de ajuste de regresión no lineal (polinomio de tercer orden) (líneas discontinuas) utilizando el software Prism 5. Las heridas tratadas con solución salina alcanzaron el 50% de cierre de la herida en el día 6,23 (CI 95%, 5,59 - 6,84), mientras que las perlas de poliestireno en las heridas tratadas con WFI, alcanzaron el 50% de cierre de la herida en el día 5,31 (CI 95%, 4,71 - 5,89). La diferencia es estadísticamente significativa $p = 0,0476$ (prueba pareada) o $p = 0,0476$ (prueba de rango de signos).

15 **[0085]** La Figura 2B presenta la comparación de la cinética de curación de las microesferas de poliestireno en WFI en comparación con las microesferas en solución salina. Las heridas tratadas con microesferas de poliestireno en WFI alcanzaron el 50% de cierre de la herida en el día 6,62 (CI 95%, 6,01 - 7,21), mientras que las microesferas de poliestireno en las heridas tratadas con solución salina, alcanzaron el 50% de cierre de la herida en el día 7,42 (CI 95%, 6,97 - 7,88).

20 **[0086]** El ejemplo 1 muestra que, inesperadamente, las microesferas de poliestireno suspendidas en WFI demuestran una actividad significativamente mayor en el cierre de heridas en comparación con las microesferas suspendidas en solución salina o solución salina sola que se considera el estándar de cuidado en el tratamiento y limpieza de heridas.

EJEMPLO 2

25 **Evaluación *in vivo* de la tasa de cierre de heridas después de aplicaciones de las microesferas de poliestireno en formulaciones a base de agua.**

30 **[0087]** El objetivo de este estudio fue evaluar la tasa de cierre de heridas después de múltiples aplicaciones de microesferas de poliestireno (0,025%) suspendidas en WFI y 22% de glicerol en 3 formulaciones separadas: (i) formulación sin ajuste de pH; (ii) formulación ajustada a pH 5; y (iii) formulación ajustada a pH 7. Formulaciones que comprenden microesferas cargadas negativamente de poliestireno (5 μm), suspendidas en medio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) fueron utilizadas como control positivo.

35 **[0088]** Antes de la realización de los estudios, las formulaciones se ensayaron para determinar la estabilidad y se encontró que eran estables durante al menos 3 meses sin mostrar ni agregación ni sedimentación de microesferas. Además, no se observaron cambios significativos de pH durante ese período de tiempo.

40 **[0089]** Heridas de espesor total inducidas en ratas Sprague fueron tratadas con múltiples aplicaciones de solución salina o perlas de poliestireno en WFI. El cierre de la herida se siguió hasta el día 14. La tasa de curación de la herida se calculó como un % de diferencia con respecto al área original de la herida.

45 **[0090]** La formulación (i) que comprende perlas de poliestireno en WFI y 22% de glicerol alcanzó el 50% de cierre de la herida el día 7,47 (CI del 95%, 6,98 - 7,97), mientras que las heridas tratadas con la formulación de control alcanzaron el 50% de cierre de la herida el día 7,50 (CI 95%, 7,07 - 7,94) (Figura 3). Este resultado muestra que las microesferas de poliestireno suspendidas en WFI y 22% de glicerol exhiben una eficacia idéntica en el cierre de heridas en comparación con el control positivo.

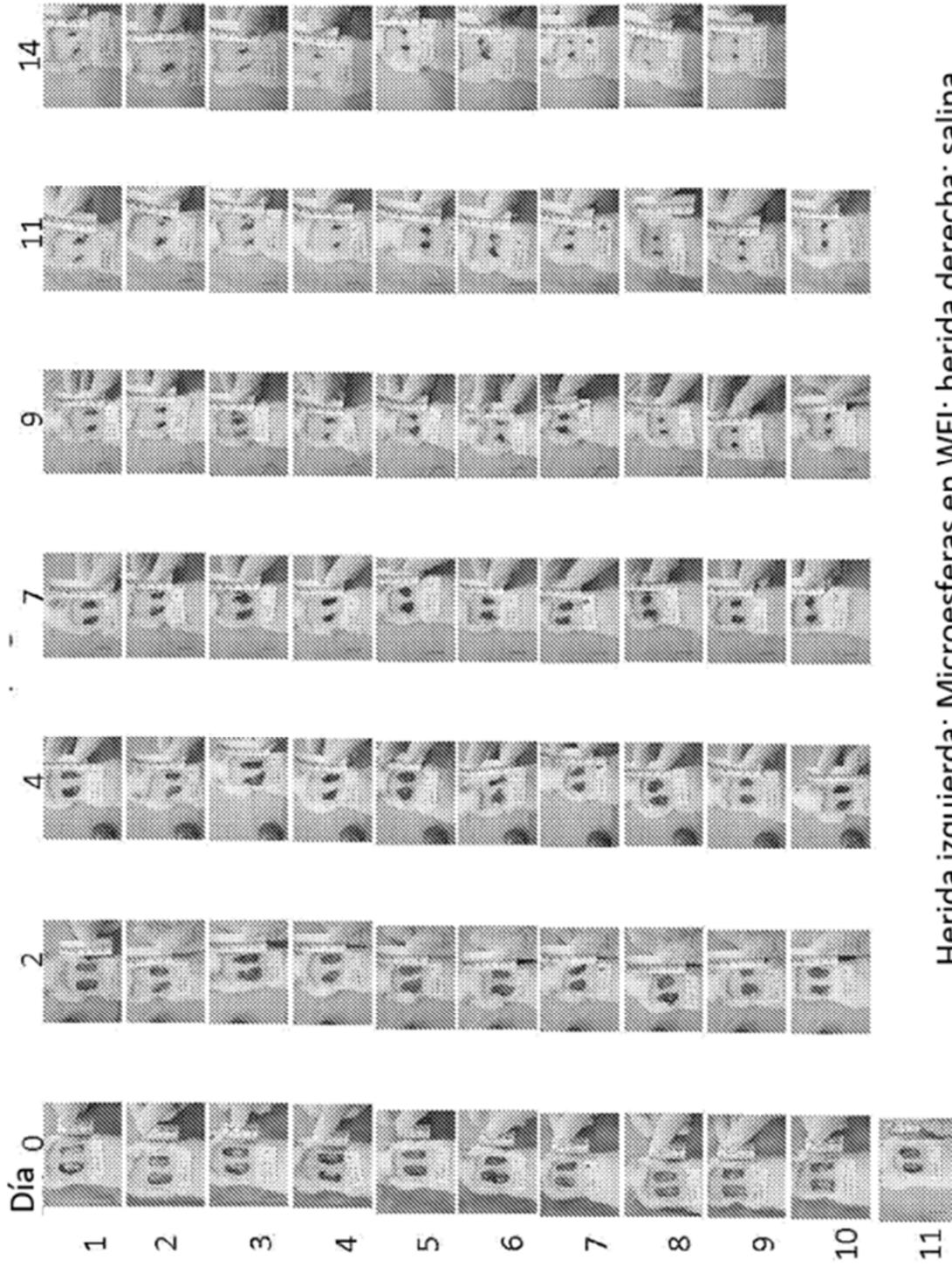
50 **[0091]** La formulación (ii) que comprende perlas de poliestireno en WFI y 22% de glicerol (pH 5) alcanzó el 50% de cierre de la herida en el día 6,5 (CI 95%, 5,93-7,06), mientras que las heridas tratadas de control alcanzaron el 50% de cierre de la herida en el día 7,03 (CI 95%, 6,57-7,50) (Figura 4). Según las estadísticas, la diferencia es estadísticamente significativa $p = 0,048$ (prueba t pareada). Este resultado indica que las microesferas de poliestireno suspendidas en WFI y el 22% de glicerol a pH 5 exhiben una eficacia superior en el cierre de heridas sobre las microesferas de poliestireno suspendidas en DMEM.

55 **[0092]** La formulación (iii) que comprende perlas de poliestireno en WFI y 22% de glicerol (pH 7) alcanzó el 50% de cierre de la herida el día 6,95 (CI del 95%, 6,38 - 7,50), mientras que las heridas tratadas de control alcanzaron el 50% de cierre de la herida el día 7,95 (CI 95%, 7,51 - 8,41) (Figura 5). Según las estadísticas, la diferencia no es estadísticamente significativa $p = 0,0720$ (prueba t pareada). Este resultado indica que las microesferas de poliestireno suspendidas en WFI y el 22% de glicerol a pH 7 exhiben una eficacia similar en el cierre de heridas en comparación con las microesferas de poliestireno suspendidas en DMEM.

65

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Una composición farmacéutica para tratar una herida que comprende microesferas de poliestireno cargadas negativamente suspendidas en una solución hipotónica, en donde la solución hipotónica es agua, la composición farmacéutica además comprende un agente espesante, en donde el agente espesante forma una solución que tiene una gravedad específica en el rango de 1,02 - 1,07 gramos por centímetro cúbico medido a 25°C similar a la gravedad específica de las microesferas de poliestireno.
- 10 **2.** La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que el agente espesante se selecciona del grupo que consiste en: polímeros sintéticos hidrófilos, azúcares y glicerol o glicerina, o combinaciones de los mismos.
- 15 **3.** La composición farmacéutica de la reivindicación 2, en la que el polímero sintético hidrófilo se selecciona de propilenglicol (PPG) y polietilenglicol (PEG); o en donde los azúcares se seleccionan del grupo que consiste en sacarosa, glucosa, sorbitol y manitol; o en donde el agente espesante se selecciona de glicerol o glicerina.
- 20 **4.** La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que la concentración del agente espesante constituye del 1% al 50% en peso de la composición; o 10% a 30% en peso de la composición.
- 25 **5.** La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que dicha agua es agua destilada o agua para inyección (WFI).
- 30 **6.** La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que las microesferas de poliestireno tienen un diámetro en un intervalo de 0,02 µm a 20 µm; o en la que las microesferas de poliestireno tienen un diámetro de 1 µm a 10 µm; o en la que las microesferas de poliestireno constituyen 0,001% a 10% en peso de la composición; o en la que las microesferas de poliestireno constituyen 0,001% a 0,09% en peso de la composición, o en la que las microesferas de poliestireno no son biodegradables durante el período de tratamiento.
- 35 **7.** La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que el pH es de 4,5 a 7,5; o en la que el pH es de 4,5 a 5,5; o en la que el pH es de 6,5 a 7,5.
- 40 **8.** La composición farmacéutica de la reivindicación 1 para uso en el tratamiento de una herida en un sujeto.
- 45 **9.** La composición farmacéutica para uso de la reivindicación 8, en la que la herida se selecciona del grupo que consiste en una quemadura, trauma, difícil de curar y una herida crónica.
- 50 **10.** La composición farmacéutica para uso de la reivindicación 9, en la que la herida crónica se selecciona del grupo que consiste en úlcera diabética, una úlcera por presión, una úlcera arterial, una úlcera venosa, una herida aguda, postraumática y una herida quirúrgica.
- 55 **11.** Una composición farmacéutica contenida en un paquete para tratar una herida en un sujeto, comprendiendo la composición 0,001% - 10% en peso de microesferas de poliestireno cargadas negativamente suspendidas en una solución hipotónica, en donde la solución hipotónica es agua, la composición farmacéutica además comprende un agente espesante que forma una solución que tiene un peso específico en el rango de 1,02 - 1,07 gramos por centímetro cúbico medido a 25°C similar a la gravedad específica de las microesferas de poliestireno.
- 60 **12.** Un kit para tratar una herida en un sujeto, comprendiendo el kit
- (i) un contenedor,
 - (ii) una composición farmacéutica dentro del contenedor, e
 - (iii) instrucciones para aplicar dicha composición farmacéutica a la herida, comprendiendo la composición farmacéutica 0,001 % - 10% en peso de microesferas de poliestireno cargadas negativamente suspendidas en una solución hipotónica, en donde la solución hipotónica es agua, comprendiendo la composición farmacéutica además un agente espesante que forma una solución que tiene un peso específico en el rango de 1,02 - 1,07 gramos por centímetro cúbico medido a 25°C similar a la gravedad específica de las microesferas de poliestireno.



Herida izquierda: Microesferas en WFI; herida derecha: salina

FIGURA 1

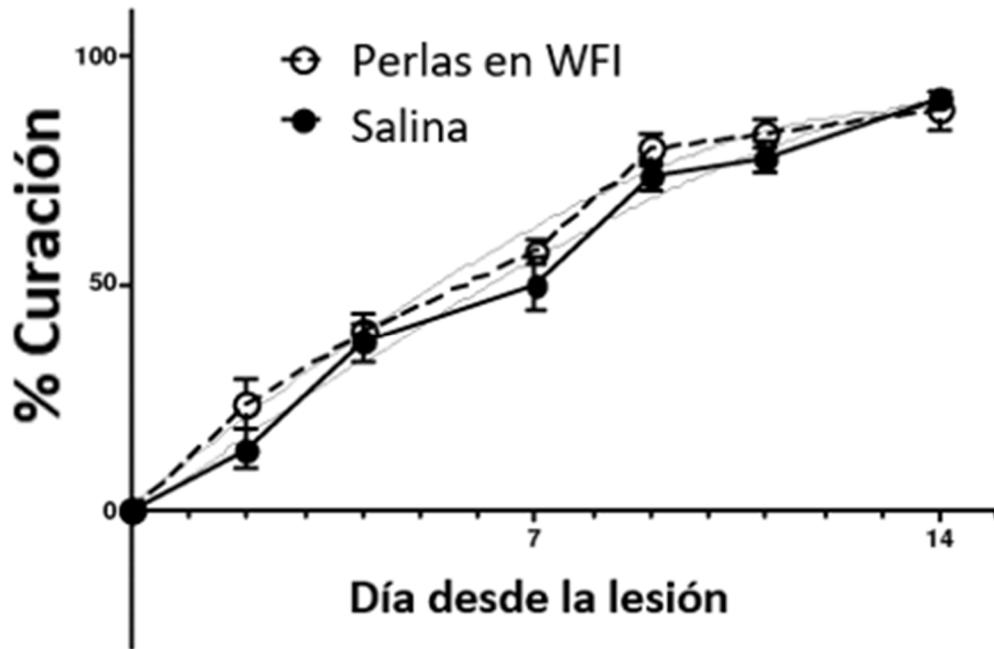


FIGURA 2A

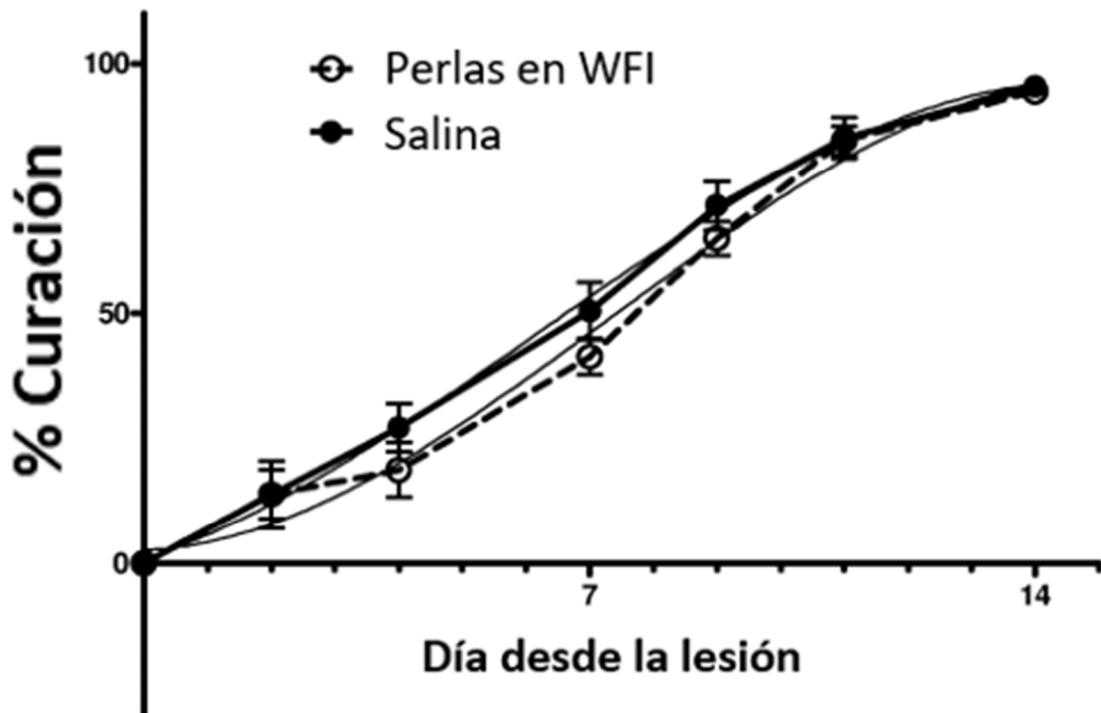


FIGURA 2B

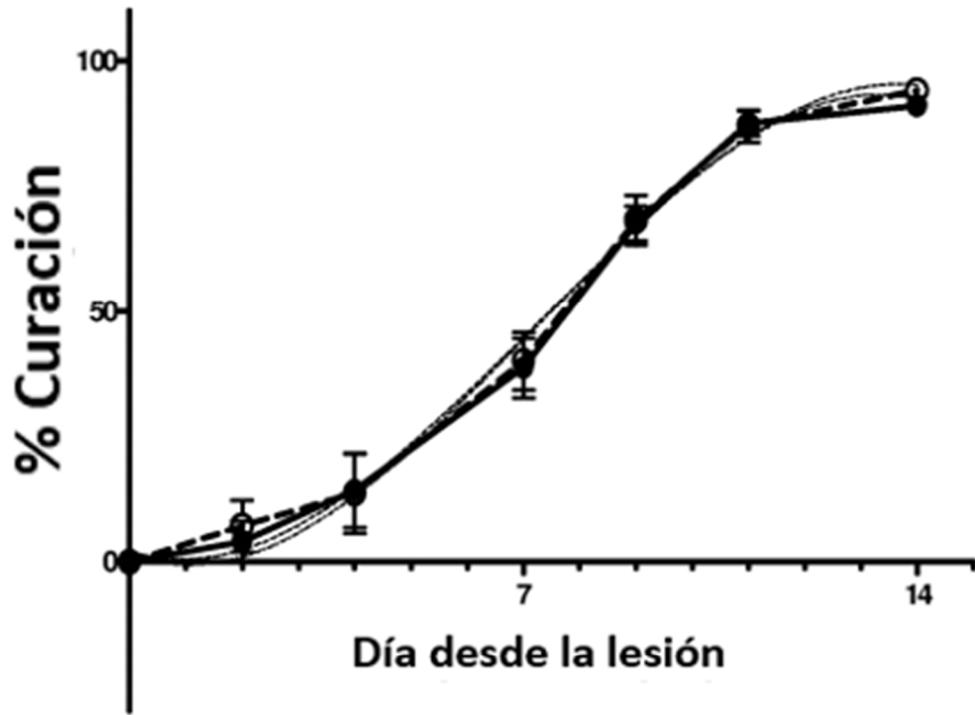


FIGURA 3

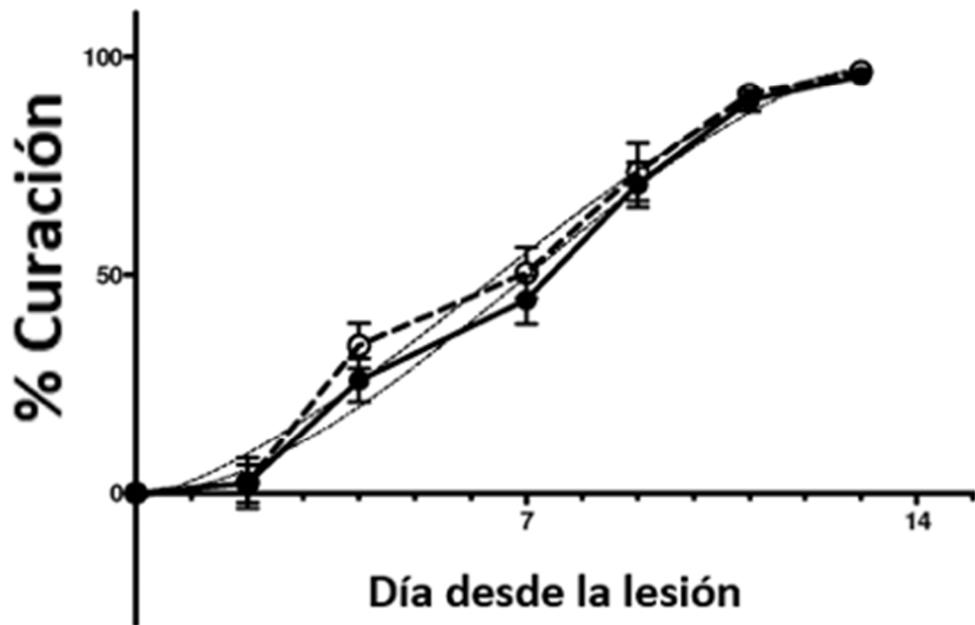


FIGURA 4

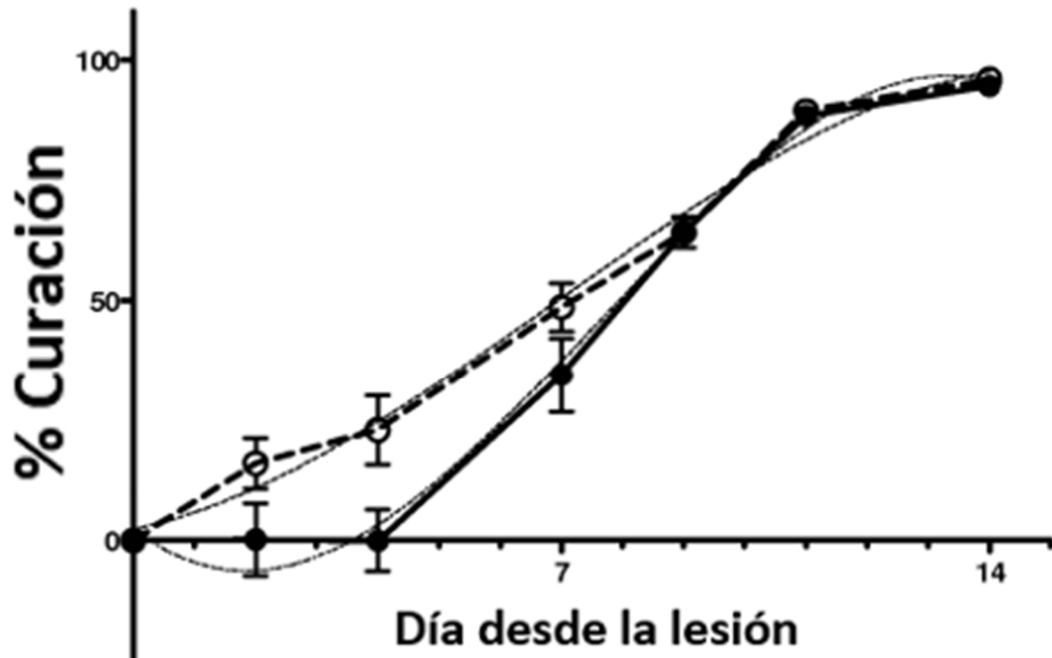


FIGURA 5