

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 755 137**

51 Int. Cl.:

A61L 26/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.10.2014 PCT/US2014/062041**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.04.2015 WO15061612**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.10.2014 E 14793731 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2019 EP 3060266**

54 Título: **Apósito para heridas de pasta de quitosano**

30 Prioridad:

**24.10.2013 US 201314061993
30.06.2014 US 201414319901**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.04.2020

73 Titular/es:

**MEDTRONIC XOMED, INC. (100.0%)
6743 Southpoint Drive North
Jacksonville, FL 32216-0980, US**

72 Inventor/es:

**MEDINA, JENNIFER GATES y
SHERRMAN, ETHAN GLENN**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 755 137 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 pasta de quitosano

Campo de la invención

Esta invención se refiere a apósitos para heridas a base de polisacáridos.

5 Antecedentes

Una herida es una lesión en la piel y puede ser, por ejemplo, una simple abrasión, quemadura, corte o una incisión intencionada tal como una herida quirúrgica. Los tratamientos locales de las heridas, tales como los apósitos para heridas, se pueden aplicar a la herida para proporcionar una barrera a los microorganismos y proteger a la herida del ambiente externo. Algunos apósitos para heridas también apoyan o promueven los mecanismos de cicatrización de las heridas.

Abdull Rasad M S B et al: "In vitro evaluation of novel chitosan derivatives sheet and paste cytocompatibility on human dermal fibroblasts", Carbohydrate polymers, Applied Science Publishers, Ltd. Barking, GB, vol. 79, no. 4, 17 Marzo 2010 (2010-03-17) páginas 1094-1100, describe una pasta para aplicación como apósito para heridas que comprende N,O-carboximetil-quitosano o N-carboximetil-quitosano a pH de 5-6.

15 Sumario de la invención

Son deseables los apósitos para heridas que incluyen materiales biodegradables porque pueden reducir el traumatismo asociado con la separación del apósito para heridas de la superficie de una herida. De manera deseable, el apósito para heridas también tiene efectos terapéuticos positivos en la cicatrización de las heridas.

El alcance de la invención se define por las reivindicaciones. Todas las referencias de la descripción a métodos de tratamiento se refieren a los productos de la presente invención para uso en un método de tratamiento.

La invención proporciona, en un aspecto, una composición de pasta para uso en el tratamiento de una herida, siendo la composición como se define en la reivindicación 1.

La invención proporciona, en otro aspecto, un kit para tratar una herida, siendo el kit como se define en la reivindicación 2.

25 Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es una vista en perspectiva que muestra la aplicación de la pasta descrita a una herida.

Las Fig. 2 y Fig. 3 son vistas en perspectiva que muestran respectivamente una jeringa y una punta flexible para uso en la dispensación de la pasta descrita.

Símbolos de referencia iguales en las diferentes figuras de los dibujos indican elementos iguales. Los elementos de los dibujos no están a escala.

Descripción detallada

La siguiente descripción detallada describe ciertas realizaciones y no se debe tomar en un sentido limitativo. Todos los pesos, cantidades y proporciones en la presente memoria están expresados en peso, a menos que se indique específicamente otra cosa. Los términos que se muestran a continuación tienen los siguientes significados:

35 El término "adherencia" se refiere a la adhesión entre sí de una estructura corporal o material protésico con el tejido, a la adhesión entre sí de tejido a tejido con el que está en contacto íntimo durante un período prolongado, o a la formación de tejido que conecta estructuras corporales, materiales protésicos o tejidos unos con otros a través de un espacio normalmente abierto.

40 El término "antimicrobiano" cuando se usa en referencia a una sustancia significa que la sustancia puede destruir, inhibir o controlar significativamente el crecimiento de microbios, por ejemplo, bacterias tales como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermis*, *Pseudomonas aeruginosa* o *Escherichia coli*.

El término "biocompatible" cuando se usa en referencia a una sustancia significa que la sustancia no presenta efectos adversos o perjudiciales importantes para el cuerpo.

45 El término "biodegradable" cuando se usa en referencia a una sustancia significa que la sustancia se degradará o erosionará *in vivo* para formar especies químicas o físicas más pequeñas. Dicho proceso de degradación puede ser enzimático, químico o físico.

El término "quitosano" se refiere a un polímero polisacárido que contiene unidades monoméricas de D-glucosamina (desacetilada) con enlaces β -(1-4) y N-acetil-D-glucosamina (acetilada) opcional distribuidas aleatoriamente, e

incluye derivados de quitosano en los cuales han sido modificados uno o más grupos hidroxilo o amina del polímero para alterar la solubilidad o las características de adhesivo tisular del derivado.

5 El término "conformado" cuando se usa en referencia a una pasta aplicada a un tejido o a otra estructura corporal significa que la pasta puede formar una capa sustancialmente continua sobre una zona a la que se ha aplicado la pasta.

El término "hemostático" significa un dispositivo o material que detiene el flujo sanguíneo.

El término "opaco" cuando se usa en referencia a un material significa que la iluminación superior ordinaria no se transmite a través de una capa del material de aproximadamente 4 mm de espesor.

10 El término "osmolalidad" significa el número de osmoles de soluto por kilogramo de disolvente, medido utilizando un osmómetro de depresión de punto de congelación.

15 El término "pasta" cuando se usa en referencia a una sustancia significa que la sustancia es un material visiblemente opaco, no poroso, homogéneo que tiene una consistencia blanda, maleable y esparcible, por ejemplo similar a la pasta de dientes. Un gel opaco puede ser una pasta. Una colección de partículas sólidas secas que fluyen libremente, un sólido no maleable, una esponja porosa, un gel translúcido, una composición líquida o una composición pulverizable no serían una pasta.

20 El término "protector" cuando se usa en referencia a una pasta aplicada a un tejido o a otra estructura corporal significa que la pasta puede ayudar a volver a un estado normal una superficie de tejido lesionada, inflamada o reparada quirúrgicamente, por ejemplo, a través de uno o más mecanismos de cicatrización tales como modulación de una respuesta inflamatoria, fagocitosis, remodelación de la mucosa, recuperación de cilios u otra restauración total o parcial de la función normal.

El término "tiempo de residencia" cuando se usa en referencia a una pasta aplicada a una herida significa el período de tiempo durante el cual la pasta o porción de la misma permanece en el sitio *in vivo* observada macroscópicamente.

El término "temperatura ambiente" significa una temperatura de 20-25 °C.

25 El término "delgado" cuando se usa en referencia a una capa protectora encima de un tejido o de otra estructura corporal significa que tiene un espesor medio inferior a aproximadamente dos milímetros.

El término "adhesivo tisular" cuando se usa en referencia a una sustancia significa que la sustancia se adherirá al tejido.

30 El término "tonicidad" cuando se usa en referencia a la respuesta de una célula a una sustancia externa se refiere a la suma de la concentración de solutos que tiene la capacidad de ejercer una fuerza osmótica a través de una membrana dada. Los solutos que no pueden atravesar la membrana celular ejercen una fuerza osmótica. Dependiendo de la concentración de soluto de la sustancia en referencia a la membrana celular, la tonicidad se puede denominar "hipertónica", "hipotónica" o "isotónica". "Hipertónica" se refiere a una sustancia con una concentración más alta de soluto fuera de la membrana celular. Como tal, cuando la sustancia se pone en contacto con la membrana celular, el agua de la célula tendrá una tendencia a moverse fuera de la célula para equilibrar la concentración de soluto fuera de la membrana celular. "Hipotónico" se refiere a una sustancia con una concentración más baja de soluto fuera de la membrana celular. Como tal, el agua procedente del exterior de la célula entrará en la célula, causando hinchazón en un intento de equilibrar la concentración de soluto dentro de la célula. "Isotónico" se refiere a la concentración de soluto de una sustancia que es la misma que la de la célula con la que entra en contacto. Como tal, se considera fisiológico con la célula y, por lo tanto, no hay flujo neto de agua.

40 El término "viscosidad" cuando se usa en referencia a una sustancia es la medida en que la sustancia resiste una tendencia a fluir cuando es sometida a estrés. La viscosidad se puede medir con un viscosímetro de cono y placa que impone un estrés específico sobre la sustancia y la deformación por estrés o la resistencia resultante se mide según ASTM F2103-11 (Parte 5). Las unidades de viscosidad se registran como Pascal-segundos (Pa.s). Para las pastas descritas, los valores de viscosidad se determinan y se registran una vez que la pasta ha sido esterilizada.

El término "herida" significa una abertura en la piel a través de la cual queda expuesto tejido dérmico, subdérmico o más profundo (por ejemplo, grasa subcutánea, músculo, hueso u otro tejido), esto es, una herida externa. La herida se puede iniciar de varios modos (por ejemplo, úlceras por presión debidas a un reposo prolongado en la cama, heridas inducidas por traumatismos, cortes, úlceras, quemaduras, incisiones quirúrgicas y similares).

50 El apósito para heridas o el método descritos incluyen una pasta de quitosano que incluye una alta concentración de un quitosano soluble en agua (por ejemplo, sal de quitosano), disuelto en una disolución que contiene fosfato, teniendo la pasta un pH de al menos aproximadamente 4. La pasta descrita tiene deseablemente una coloración de blanquecina a amarillenta, lo que facilita su visualización cuando se aplica. La pasta descrita se proporciona también en una forma lista para usar, estable en almacenamiento, inyectable o extruible, que no necesita ninguna

preparación o sólo mínima. Debido a que la pasta deseablemente no incluye reticulantes, se puede almacenar durante largos períodos de tiempo y, de manera deseable, no necesita hidratación adicional, ni mezcla ni otras etapas de preparación similares antes de la aplicación.

5 La pasta descrita es deseablemente biocompatible, biodegradable y tiene propiedades bactericidas y hemostáticas. La pasta descrita se puede utilizar deseablemente como un apósito para heridas tópicos para absorber una cantidad sustancial de exudado de la herida sin desecación indebida del sitio de la herida. La pasta proporciona también deseablemente actividad antimicrobiana o capacidad de cicatrización de la herida o ambas en el sitio de la herida.

10 La pasta descrita se puede utilizar como un apósito para heridas en una variedad de procedimientos quirúrgicos, que incluyen neurocirugía, cirugía abdominal, cirugía cardiovascular, cirugía torácica, cirugía de cabeza y cuello, cirugía pélvica, procedimientos de tejido cutáneo, subcutáneo y similares. La pasta es útil también en el tratamiento de úlceras, quemaduras, cortes y similares. La Fig. 1 muestra una jeringa 100 de dispensación equipada con un émbolo 104, un tubo 106 y una punta 108. La pierna 116 del paciente presenta una herida externa 118 que está siendo llenada con una capa o masa de la pasta 120 descrita. La pasta 120 se deja permanecer en el sitio mientras tiene lugar la cicatrización.

15 La Fig. 2 muestra una jeringa 200 de dispensación para la pasta descrita sujeta con la mano derecha 202 de un cirujano. Cuando se empuja el émbolo 204 en el tubo 206 de la jeringa, la pasta descrita se dispensa a través de la punta 208 recta y de la punta 210 plegable con lo cual sale de la punta 210 como una masa 220 opaca. La Fig. 3 muestra varias posiciones de pliegues (imaginarios) que se pueden formar en la punta 210 plegable para facilitar el acceso a porciones de la anatomía de un paciente difíciles de alcanzar.

20 La pasta descrita se puede aplicar como una película delgada u otro recubrimiento conformado, en cuyo caso la capa puede ser relativamente delgada y puede ser expuesta al aire o a otros gases cercanos, y con un espesor sustancialmente uniforme en toda la capa. La pasta descrita se aplica deseablemente en al menos una extensión suficiente para cubrir tejido sano o cicatrizable en la herida. En algunos casos, será deseable aplicar la pasta dentro y no simplemente encima del tejido expuesto dentro de la herida. El apósito para heridas actúa deseablemente como una pasta protectora que se adhiere convenientemente a los tejidos (p. ej., cartílago o hueso) en el sitio de tratamiento y resiste el desprendimiento u otra interrupción hasta que tiene lugar la degradación natural o la degradación iniciada por irrigación o hidrólisis. El apósito para heridas se puede volver a aplicar tantas veces como sea necesario. El tiempo de residencia o el tiempo de tratamiento puede ser, por ejemplo, de al menos 1 día, al menos 3 días, al menos 5 días, al menos 7 días, al menos 15 días, hasta aproximadamente 3 semanas, hasta aproximadamente 4 semanas, hasta aproximadamente 45 días o hasta aproximadamente 60 días. La pasta descrita se puede usar sola o junto con vendajes de heridas que pueden incluir vendas, gasas de algodón, almohadillas de absorción o similares.

35 La aplicación del apósito para heridas puede reducir o prevenir significativamente la recolonización o reinfección bacteriana, y puede mejorar la cicatrización. La pasta protectora puede proporcionar diferentes ventajas terapéuticas que incluyen, pero no se limitan a la inhibición de la adherencia bacteriana, propiedades antiinfecciosas, modulación inmunitaria local, protección de tejidos, reducción o eliminación del dolor o sangrado, reducción de la inflamación, reducción de las adherencias a anatomía crítica y similares. Estas ventajas pueden surgir debido a una variedad de mecanismos que incluyen a) destrucción de bacterias, b) inhibición de la colonización bacteriana, c) inhibición de la adherencia de las bacterias al tejido, d) reducción de la morbilidad tisular o formación de abscesos, e) reducción o prevención de la recurrencia de la enfermedad (por ejemplo, reduciendo específicamente la inflamación crónica relacionada con la toxina bacteriana y la toxina de la matriz de polisacáridos extracelulares (es decir, la biopelícula)), f) recubrimiento y protección del tejido durante la cicatrización, tal como por el mantenimiento de una herida húmeda lo que promueve la agregación plaquetaria o por el cierre de una herida seca sin formación escabrosa excesiva, g) hemostasia y h) administración de agente o agentes terapéuticos al sitio de tratamiento.

45 La pasta descrita se puede preparar mezclando o disolviendo los ingredientes inicialmente sólidos (por ejemplo, quitosano soluble en agua) en una disolución que contiene fosfato (por ejemplo, solución salina tamponada con fosfato (PBS)). Se forma una pasta a temperatura ambiente (por ejemplo, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 25 °C) cuando los ingredientes sólidos se solubilizan.

50 Se utilizan sales de quitosano solubles en agua, para formar la pasta. Por ejemplo, se pueden mezclar altas concentraciones de una sal de quitosano en una disolución que contiene fosfato (por ejemplo, PBS, sal disódica de fosfato de glicerol hidrato o cualquier combinación de los mismos) para proporcionar una pasta lista para usar. La alta concentración de sal de quitosano contribuye tanto a la osmolalidad como a la opacidad de la pasta resultante. Sin pretender limitarse a una teoría, los fosfatos y el quitosano pueden reaccionar a través de una reacción iónica para ayudar a formar la pasta. De manera conveniente el quitosano es suficientemente soluble en agua para que toda la cantidad deseada de quitosano se pueda disolver en la pasta descrita. Sin embargo, una porción del quitosano se puede dispersar en la pasta descrita. El quitosano elegido preferiblemente tiene una solubilidad en agua de al menos aproximadamente 3 % en peso, al menos aproximadamente 5 % en peso, al menos aproximadamente 8 % en peso, al menos aproximadamente 10 % en peso, al menos aproximadamente 15 %, al menos aproximadamente 18 % o al menos aproximadamente 20 % en peso. Las concentraciones de quitosano a modo de ejemplo son de 5 % en peso a 20 % en peso, de aproximadamente 8 % en peso a aproximadamente 18 %

en peso, de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 18 % en peso o de aproximadamente 15 % en peso a aproximadamente 18 % en peso del peso total de la pasta. Las altas concentraciones de quitosano utilizadas en la pasta dan como resultado viscosidades deseables y una fuerza de administración en jeringa aceptable.

5 Las viscosidades varían de aproximadamente 1 a aproximadamente 15 Pa.s. cuando se ensayan a 25 °C y una tasa de cizallamiento de 221 s⁻¹. Esta tasa de cizallamiento está correlacionada con la tasa media de cizallamiento aproximada que la sustancia puede experimentar cuando se dispensa a través de una jeringa estándar de 30 ml BD™ con un conector LUER LOCK™ a un caudal de 1 ml/s.

10 Se pueden obtener ejemplos no modificados de quitosanos solubles en agua y sus sales (incluyendo las sales cloruro, citrato, nitrato, lactato, fosfato y glutamato) de una variedad de fuentes comerciales, incluyendo las fuentes descritas en la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos No. US 2009/0291911 A1.

15 El quitosano también se puede sintetizar por desacetilación de la quitina (poli-N-acetil-D-glucosamina) para eliminar los grupos acetilo sobre el átomo de nitrógeno por hidrólisis. El polímero resultante tiene una pluralidad de unidades repetidas (por ejemplo, de aproximadamente 30 a aproximadamente 3000 unidades repetidas, de aproximadamente 60 a aproximadamente 600 unidades repetidas, o cualquier otra cantidad que se pueda desear para el uso final elegido) algunas o todas las cuales contienen grupos aminos desacetilados (por ejemplo, de aproximadamente 30 a aproximadamente 100 % o de aproximadamente 60 a aproximadamente 95 % del total de unidades repetidas), conteniendo las unidades repetidas restantes (si las hay) grupos aminos acetilados. El polímero es catiónico y se puede considerar que está compuesto de monómeros de glucosamina.

20 El quitosano puede tener una variedad de pesos moleculares medios en número, por ejemplo, de aproximadamente 5 a aproximadamente 2000 kDa, de aproximadamente 10 a aproximadamente 500 kDa, o de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 kDa. El quitosano puede ser, por ejemplo, un material de peso molecular ultra bajo que tiene un peso molecular medio en número menor que o aproximadamente de 30 kDa, un material de bajo peso molecular que tiene un peso molecular medio en número de aproximadamente 30 a aproximadamente 400 kDa, un material de peso molecular medio que tiene un peso molecular medio en número de aproximadamente 200 a aproximadamente 500 kDa o un material de alto peso molecular que tiene un peso molecular medio en número mayor que aproximadamente 500 kDa. Se prefiere un quitosano de peso molecular bajo. Los pesos moleculares descritos son pesos antes de la esterilización de la pasta. El quitosano deseablemente está en forma de partículas secas antes de la mezcla con la disolución de fosfato, por ejemplo, como gránulos que fluyen libremente cuyo diámetro medio de partícula es inferior a aproximadamente 1 mm, inferior a aproximadamente 100 µm, de aproximadamente 1 a aproximadamente 80 µm, o inferior a 1 µm.

35 También se pueden emplear derivados de quitosano, que son derivados en los cuales han sido modificados uno o más grupos hidroxilo o amino con el fin de alterar la solubilidad o las características de adhesivo tisular del derivado. Los derivados a modo de ejemplo incluyen quitosanos tiolados y derivados de quitosano no tiolados tales como quitosanos acetilados, alquilados o sulfonados (por ejemplo, O-alquil éteres, O-acil ésteres, trimetil quitosanos cationizados y quitosanos modificados con polietilenglicol). Los derivados de quitosano se pueden obtener de una variedad de fuentes. Por ejemplo, los quitosanos tiolados se pueden obtener de ThioMatrix Forschungs Beratungs GmbH y Mucobiomer Biotechnologische Forschungs-und Entwicklungs GmbH o se pueden preparar por reacción de quitosano con un reactante tiolado adecuado, por ejemplo, como se describe en la solicitud PCT publicada No. WO 03/020771 A1 o en Roldo et al., Mucoadhesive thiolated chitosans as platforms for oral controlled drug delivery: synthesis and in vitro evaluation, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 57, 115-121 (2004); Krauland et al., Viscoelastic Properties of a New in situ Gelling Thiolated Chitosan Conjugate, *Drug Development And Industrial Pharmacy*, 31, 885-893 (2005); Bernkop-Schnürch, Thiomers: A new generation of mucoadhesive polymers, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1569-1582 (2005); Bernkop-Schnürch et al., Thiomers: Preparation and in vitro evaluation of a mucoadhesive nanoparticulate drug delivery system, *International journal of Pharmaceutics*, 317, 76-81 (2006).

50 De modo deseable, la pasta tiene un pH apropiado para ponerse en contacto con tejido humano, esto es, un pH de al menos 4, un pH casi neutro o un pH inferior a 10. Por ejemplo, se puede incluir un ácido, base o agente tampón para ayudar a mantener un pH apropiado. Se prefieren los agentes tampón y los tampones que contienen fosfato son los más preferidos. Los agentes tampón a modo de ejemplo incluyen mezclas de barbitona sódica, glicinamida, glicina, cloruro de potasio, fosfato de potasio, hidrogenoftalato de potasio, acetato de sodio, citrato de sodio o fosfato de sodio con sus ácidos conjugados (por ejemplo, una mezcla de citrato de sodio y ácido cítrico).

55 Los ejemplos de tampones que contienen fosfato se derivan de ácido fosfórico y una base seleccionada de hidróxido de potasio, hidróxido de sodio, las sales de potasio o de sodio del ácido fosfórico, mezclas de los mismos y similares. Las sales de fosfato a modo de ejemplo incluyen fosfato de sodio dibásico y monobásico, fosfato de potasio dibásico y monobásico y mezclas de los mismos. La concentración de ácido fosfórico y base o sal en el agente tampón descrito se puede variar para lograr el pH deseado.

Los ejemplos de soluciones que contienen fosfato incluyen tampones que contienen fosfato, tales como PBS. Las soluciones de PBS incluyen típicamente una combinación de una o más sales fosfato y una o más sales cloruro. Los ejemplos de sales fosfato incluyen fosfato de disodio, dihidrogenofosfato de potasio o una combinación de los

5 mismos. Los ejemplos de sales cloruro incluyen cloruro de sodio, cloruro de potasio o una combinación de los mismos. Las sales usadas para preparar la disolución de PBS son opcionalmente hidratos. Una combinación de sales a modo de ejemplo emplea fosfato disódico heptahidrato ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) y dihidrogenofosfato de potasio (KH_2PO_4), en una disolución denominada PBS 1X con concentraciones de fosfato aproximadamente 0,01 M, KCl aproximadamente 0,0027 M, NaCl aproximadamente 0,137 M y un pH de 7,4 a 25 °C. Las soluciones tampón de PBS se pueden preparar en otras concentraciones tales como 2X, 3X, 5X, 10X o cualquier otra concentración adecuada. Por ejemplo, un tampón de PBS 10X se puede preparar añadiendo 10 veces los ingredientes descritos para un tampón de PBS 1X para dar como resultado concentraciones de fosfato aproximadamente 0,1 M, KCl aproximadamente 0,027 M y NaCl aproximadamente 1,37 M. Preferiblemente, la disolución que contiene fosfato es una disolución de PBS y más preferiblemente es más concentrada que una disolución de PBS 1X. Preferiblemente, la disolución de PBS tiene un pH entre aproximadamente 9 y aproximadamente 12, y más preferiblemente es una disolución 3X que tiene un pH de aproximadamente 11.

15 Los fosfatos también se pueden proporcionar como sales de glicerol-3-fosfato (GlyPhos) (por ejemplo, como sales de sodio, potasio, calcio o magnesio). También se pueden utilizar formas estereoisómeras de GlyPhos, preferiblemente las mezclas racémicas, meso, α y β u otras formas o mezclas. En algunas realizaciones, el fosfato puede ser proporcionado por un agente tampón (por ejemplo, PBS), por una sal de GlyPhos o por ambos.

20 Cuando se utiliza una concentración alta de sal de quitosano, la pasta puede tener una correspondiente osmolalidad alta y puede exceder por ejemplo de 2000 mOsm/kg. En algunas realizaciones, la osmolalidad de la pasta puede ser de hasta aproximadamente 3000 mOsm/kg. Dichos apósitos para heridas pueden ser deseables para proporcionar un entorno de deshidratación de la herida. En otros tratamientos de heridas, puede ser deseable que la pasta sea fisiológicamente compatible con las células o tejidos a los que se puede aplicar la pasta. En tales casos, la pasta tiene de modo deseable una osmolalidad tal que la pasta se considerará isotónica o hipertónica para las células o tejidos a los que se aplica la pasta. En estas aplicaciones, es preferible que la pasta tenga una osmolalidad inferior a aproximadamente 2000 mOsm/kg, por ejemplo de aproximadamente 270 a aproximadamente 1500 mOsm/kg, mientras todavía mantiene una viscosidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 15 Pa.s.

30 Para mantener o bajar la osmolalidad sin alterar o reducir significativamente la viscosidad deseada o la consistencia tipo pasta, se ha encontrado que se pueden usar opcionalmente uno o más agentes reductores de la osmolalidad. El agente reductor de la osmolalidad es suficientemente soluble en agua para que toda la cantidad deseada del agente reductor de la osmolalidad se pueda disolver en la pasta descrita. Sin embargo, una porción del agente reductor de la osmolalidad se puede dispersar en la pasta descrita. El agente reductor de la osmolalidad seleccionado tiene preferiblemente una solubilidad en agua de al menos aproximadamente 1 % en peso, al menos aproximadamente 2 % en peso, al menos aproximadamente 8 % en peso, al menos aproximadamente 10 % en peso, o al menos aproximadamente 20 % en peso. El agente reductor de la osmolalidad deseablemente contiene pocos grupos de sales o ninguno ya que tales grupos pueden aumentar antes que reducir la osmolalidad de la pasta descrita. Las cantidades recomendadas del agente reductor de osmolalidad pueden ser, por ejemplo, de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 % en peso, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 % en peso o de aproximadamente 2 a aproximadamente 8 % en peso del peso total de la pasta. Los ejemplos de agentes reductores de osmolalidad adecuados incluyen polisacáridos distintos de los quitosanos que son biocompatibles y que reducen la osmolalidad en la pasta descrita, pero que no reticulan el quitosano. Los ejemplos de dichos polisacáridos incluyen los agar, alginatos, carrageninas, celulosas, dextranos, galactomananos, glucógenos, ácidos hialurónicos y almidones, y especialmente aquellos que son solubles en agua en la medida deseada sin contener grupos de sales.

40 Los polisacáridos preferidos incluyen celulosas con función hidroxilo o modificadas con alquilo. Los materiales de celulosa a modo de ejemplos incluyen metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxibutil metilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa y sus mezclas. Sin pretender limitarse a una teoría, se cree que el agente reductor de la osmolalidad sirve como un "eliminador de sal" que puede ayudar a reducir la osmolalidad de la pasta y a mantener la consistencia deseada tipo pasta.

45 La pasta puede contener, por ejemplo, quitosano (y un agente reductor de la osmolalidad, si se emplea) en una cantidad combinada que representa de aproximadamente 10 a 20 % en peso o de aproximadamente 10 a aproximadamente 15 % en peso de la composición total de la pasta. Cuando se emplea un agente reductor de la osmolalidad, el quitosano y el agente reductor de la osmolalidad se pueden combinar, por ejemplo, en una relación de aproximadamente 10:1 a aproximadamente 1:20, de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 1:10, o de aproximadamente 3:1 a aproximadamente 1:5. El quitosano (y el agente reductor de osmolalidad, si se emplea) se disuelve al menos parcialmente y de manera deseable completamente en la disolución que contiene fosfato.

50 La pasta descrita puede consistir en, o consiste esencialmente en el quitosano o derivado soluble en agua mencionado antes, la disolución que contiene fosfato y, si se usa, el agente reductor de la osmolalidad, opcionalmente junto con uno o más de una variedad de adyuvantes. Los ejemplos de adyuvantes incluyen agentes lubricantes, humectantes, agentes terapéuticos, agentes antimicrobianos, tintes, pigmentos u otros colorantes, indicadores, agentes aromatizantes o edulcorantes, antioxidantes; agentes antiespumantes; tixotropos, modificadores del agente de liberación para liberación sostenida o retardada de los agentes terapéuticos, y otros ingredientes que serán bien conocidos por los expertos en la técnica.

Los agentes lubricantes y humectantes son adyuvantes especialmente deseables que pueden ayudar a mantener la consistencia de la pasta, y pueden ayudar a dispensar la pasta dentro o sobre un sitio de tratamiento deseado. Convenientemente, la pasta debe poder ser dispensada por un operador a partir de un dispositivo de administración adecuado (por ejemplo una jeringa) utilizando una única mano con guante. Una clase preferida de agentes lubricantes y humectantes incluye compuestos hidroxilo que tienen dos o más grupos hidroxilo siendo deseable la presencia del grupo 1,2-diol. Se ha encontrado que los compuestos hidroxilo que tienen 2-4 átomos de carbono son lubricantes particularmente útiles. El glicerol es especialmente preferido. Otros compuestos incluyen etano-1,2-diol; propano-1,2-diol; butano-1,3-diol y butano-1,4-diol. Se pueden emplear mezclas de compuestos hidroxilo, especialmente mezclas de glicerol y uno o más dioles. Las cantidades deseadas de los agentes lubricantes y humectantes pueden ser, por ejemplo, de aproximadamente 1 a aproximadamente 15 % en peso o de aproximadamente 2 a aproximadamente 12 % en peso del peso total de la pasta.

Los ejemplos de agentes terapéuticos incluyen cualquier material adecuado para uso en el sitio de tratamiento previsto, incluyendo agentes analgésicos, anticolinérgicos, antifúngicos, agentes antihistamínicos, antiinflamatorios esteroideos o no esteroideos, agentes antiparasitarios, agentes antivíricos, pasta bioestática, agentes quimioterapéuticos, agentes antineoplásicos, citocinas, agentes hemostáticos (p. ej., trombina), inmunodepresores, mucolíticos, ácidos nucleicos, péptidos, proteínas, esteroides, vasoconstrictores, vitaminas, mezclas de los mismos y otros materiales terapéuticos que serán bien conocidos por los expertos en la técnica. Se puede encontrar también una lista útil de tales agentes terapéuticos, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 7.959.943 B2 (Hissong et al.).

Deseablemente la pasta descrita es inherentemente antimicrobiana sin necesitar la adición de un agente antimicrobiano por separado. La actividad antimicrobiana se puede ver influenciada por la proporción de quitosano en la pasta. Se puede emplear un agente antimicrobiano por separado si se desea. Se puede encontrar una lista útil de tales agentes antimicrobianos, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 7.959.943 B2.

Los ejemplos de tintes, pigmentos u otros colorantes incluyen FD & C Red No. 3, FD & C Red No. 20, FD & C Yellow No. 6, FD & C Blue No. 2, D & C Green No. 5, D & C Orange No. 4, D & C Red No. 8, caramelo, dióxido de titanio, colorantes de frutas o vegetales tales como el polvo de remolacha o betacaroteno, cúrcuma, paprika y otros materiales que serán bien conocidos por los expertos en la técnica). Indicadores a modo de ejemplos; los agentes aromatizantes o edulcorantes incluyen aceite de anís, cereza, aceite de canela, aceite de cítricos (por ejemplo, aceite de limón, lima o naranja), cacao, eucalipto, aromáticos a base de hierbas (por ejemplo, aceite de clavo, aceite de salvia o aceite de casia), lactosa, maltosa, mentol, aceite de menta, sacarina, ciclamato de sodio, aceite de menta verde, sorbitol, sacarosa, vainillina, aceite de gaulteria, xilitol y mezclas de los mismos.

La pasta descrita se colocará normalmente en un envase sellado adecuado (por ejemplo, una jeringa, un vial o una bolsa hecha de materiales adecuados, o un kit que contiene dicho envase e instrucciones impresas opcionales) y se someterá a esterilización antes de ser empaquetada adicionalmente si es necesario con instrucciones impresas que describen el uso apropiado de la pasta o kit en el tratamiento de las heridas. Son deseables los métodos de esterilización que no decoloren excesivamente (por ejemplo, de color marrón), que afecten a la fuerza adhesiva o viscosidad o que afecten de otro modo indebidamente a la consistencia de la pasta. Los métodos de esterilización adecuados incluyen vapor o radiación ionizante (por ejemplo, radiación gamma y haz de electrones (E-Beam)). La esterilización por haz de electrones parece prevenir o limitar la decoloración de la pasta. La esterilización por haz de electrones se puede realizar a temperaturas reducidas como se describe en la patente de Estados Unidos No. 8.653.319 B2 (Amery et al). La esterilización por haz de electrones o rayos gamma se puede usar, por ejemplo, a dosis en el intervalo de aproximadamente 12 a aproximadamente 40 J/g (40 kGy). En algunas realizaciones la pasta descrita puede ser translúcida antes de la esterilización y opaca después de la esterilización.

La pasta se proporciona como una composición lista para usar que requiere poca o ninguna mezcla, agitación, hidratación u otra preparación. De manera deseable, la pasta se proporciona en un dispensador a partir del cual la pasta puede ser inyectada o extruida, y puede ser por ejemplo envasada en dosis unitarias de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 g. Deseablemente, la pasta tiene una buena vida útil determinada por la fuerza adhesiva, la viscosidad y el pH, y preferiblemente se puede almacenar durante más de 12 meses. En algunas realizaciones, la pasta se puede almacenar durante más de 15 meses, más de 18 meses o hasta 24 meses mientras todavía mantiene una viscosidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 15 Pa.s. Si la pasta parece haberse separado, el remezclado (por ejemplo, moviendo la composición adelante y atrás entre dos jeringas) normalmente hará que la pasta vuelva a una consistencia más homogénea. Sin embargo, la pasta preferiblemente no se separa durante el almacenaje. La pasta deseablemente es estable a temperaturas que varían de aproximadamente 2 °C a aproximadamente 60 °C. Además, la pasta deseablemente sigue siendo una pasta después de la exposición a intervalos de temperaturas extremas impuestos durante el ensayo de ISTA-2A (por ejemplo, de aproximadamente -29 °C a aproximadamente 60 °C).

La pasta descrita también puede tener una adherencia tisular deseable. En otras palabras, la pasta descrita preferiblemente se adhiere o se pega al tejido o conducto corporal específico al que se aplica sin tener que envolver completamente el conducto para obtener una retención adecuada en el conducto. Deseablemente, la pasta tiene una fuerza adhesiva tal que puede ser necesaria una fuerza de separación de aproximadamente 5 gramos a aproximadamente 80 gramos, de aproximadamente 20 a aproximadamente 50 gramos o de aproximadamente 15 a

aproximadamente 30 gramos. La fuerza de separación se puede medir como la fuerza requerida cuando se usa una máquina de ensayo tensil (por ejemplo, una máquina de ensayo tensil MTS™) operada a una velocidad de separación de 1 mm/s para separar dos casquetes de caucho recubiertos con colágeno comprimidos uno contra otro, con una muestra de la pasta entre ellos, utilizando una fuerza de compresión de aproximadamente 4,4 Newton (1 libra). Los casquetes de caucho deseablemente están hechos de Shore OO ultra suave, 30 bolas de caucho negro para durómetro con un diámetro de aproximadamente 5 cm (2 pulgadas) que han sido divididas en dos a una altura de aproximadamente 2,5 cm (1 pulgada). Los casquetes deseablemente se montan en el probador de tensión en relación convexa opuesta con una pieza de tripa de salchicha envuelta sobre cada casquete. Se aplican deseablemente al centro del casquete inferior de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,5 ml de la pasta descrita, se comprimen los casquetes juntos utilizando la fuerza de compresión especificada y se registra la fuerza requerida para separar los casquetes a la velocidad de separación especificada. Se registran los valores de la fuerza de adhesión para la pasta esterilizada. Deseablemente, la pasta tiene un tiempo de residencia en el conducto o estructura aplicada de al menos 1 día, al menos 3 días, al menos 5 días o al menos 7 días con o sin irrigación. La pasta se puede degradar naturalmente o por irrigación (por ejemplo, solución salina).

15 Deseablemente, la pasta descrita es no citotóxica con puntuaciones de citotoxicidad de 0, 1 o 2, medida según la Norma ISO Guideline 10993-5, Evaluación biológica de dispositivos médicos - Parte 5: Ensayos de citotoxicidad *in vitro*. Deseablemente, la pasta puede tener una puntuación de citotoxicidad de 1 o menos.

20 La pasta descrita deseablemente está sustancialmente libre de colágeno. Deseablemente, la pasta está suficientemente libre de colágeno (por ejemplo, no contiene colágeno en absoluto) para que sea comercializable en todo el mundo para su uso sin restricción en los seres humanos. La pasta descrita deseablemente no contiene otros ingredientes que puedan perjudicar potencialmente al tejido de las heridas o próximo a ellas.

25 La pasta descrita se puede utilizar como parte de un régimen de tratamiento de multietapas. Por ejemplo, se pueden llevar a cabo una serie de etapas que se pueden clasificar en términos generales como limpieza/ruptura, inactivación, protección/recubrimiento y cicatrización. La etapa de limpieza/ruptura se puede llevar a cabo administrando un sistema de solvatación como los descritos en las patentes de Estados Unidos Nos. 7.976.873 B2 y 7.976.875 B2 y en la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos No. 2011/0245757A1. La etapa de inactivación se puede realizar aplicando un agente antimicrobiano adecuado al sitio de tratamiento. Esto se puede llevar a cabo, por ejemplo, incluyendo un agente antimicrobiano en el sistema de solvatación, o como un agente aplicado por separado, o ambos, en el sistema de solvatación y el agente aplicado por separado. Un agente antimicrobiano también se puede aplicar o administrar después de la operación. La etapa de protección/recubrimiento se puede realizar recubriendo al menos parte del tejido tratado de este modo con la pasta descrita. La etapa de cicatrización se puede realizar permitiendo que la superficie del tejido limpio, protegido y sellado experimente una vuelta a un estado normal, por ejemplo, a través de uno o más mecanismos de cicatrización, tales como modulación de una respuesta inflamatoria, fagocitosis o restauración total o parcial de la función normal. El régimen de tratamiento multietapas puede incluir o ir seguido de una etapa de aclaramiento en la que la pasta descrita sea suficientemente biodegradable para desaparecer del sitio de tratamiento en un período de tiempo deseado, por ejemplo, más de 5 días, o aproximadamente de 7 a 15 días o por irrigación.

La invención se ilustra adicionalmente en los siguientes ejemplos no limitativos.

Ejemplo 1

40 Formulaciones de pasta

Se preparó una disolución de PBS 3X (pH 11-12) disolviendo comprimidos de PBS en agua y se ajustó el pH a pH 11-12 utilizando NaOH 1 N. El glicerol, cuando se utilizó, se añadió entonces a la disolución de PBS para formar una disolución de PBS/glicerol. Se añadieron a cualquiera de las dos, la disolución de PBS o la disolución de PBS/glicerol, cantidades variables de ingredientes secos, a saber, un quitosano de peso molecular 30-400 kDa o sal disódica de fosfato de glicerol hidrato sólida y se mezclaron a temperatura ambiente para formar una pasta. La pasta se esterilizó entonces con rayos gamma. Todas las formulaciones formaron una pasta y permanecieron como pasta a temperatura ambiente. La tabla 1 muestra el porcentaje de los ingredientes en el volumen total de líquido. La Tabla 1 muestra también los valores de osmolalidad, viscosidad y adherencia para cada formulación después de la esterilización.

50

Tabla 1

Formulación	Quitosano HCl (%)	Glicerol (%)	BGlyPh (%)	Osmolalidad (mOsm/kg)	Viscosidad estéril (Pa.s) a velocidad de cizallamiento 221 (l/s)	Fuerza de adherencia estéril media (gramos)
1	13	0,6		2087	1,9	26,6
2	17	0,6		1730	3,2	26,4-37,7
3	17	0,6	6	2882	4,9	38,3

Ejemplo 2

5 Se mezclaron 0,6 ml de glicerol al 10 % y 5,4 ml de disolución de PBS 3X (pH 11) en una jeringa de 10 ml. Se añadieron a esta disolución de PBS/glicerol cantidades variables de fosfato de glicerol, quitosano HCl y una hidroxipropilcelulosa (HPC) en forma sólida. Una vez que todos los ingredientes en la jeringa estuvieron completamente mezclados a temperatura ambiente, la pasta resultante se esterilizó con rayos gamma o con haz de electrones. Las formulaciones se muestran a continuación en la tabla 2. Todas las formulaciones formaron una pasta a temperatura ambiente y permanecieron como una pasta a temperatura ambiente. La tabla 2 muestra el porcentaje de los diferentes ingredientes registrados como un porcentaje del volumen total de líquido. Los valores de osmolalidad, viscosidad y adherencia para cada formulación se muestran a continuación en la tabla 3 y son valores después de la esterilización.

Tabla 2

Formulación	Quitosano HCl (%)	HPC (%)	Fosfato de glicerol (%)
4	8,5	3	1
5	13	4	2
6	10	3	1
7	10	3	1,5
8	13	2	2

15

Tabla 3

Formulación	Osmolalidad (mOsm/kg)	Viscosidad estéril (Pa.s) a velocidad de cizallamiento 221 (l/s) Rayos gamma	Viscosidad estéril (Pa.s) a velocidad de cizallamiento 221 (l/s) Haz de electrones	Fuerza de adherencia estéril (gramos) Rayos gamma	Fuerza de adherencia estéril (gramos) Haz de electrones
4	Menos de 1492	3	3,2	13,5	40,6
5	Mayor que o igual a 1492	1,7	0,4	14,5	45,5
6	525	1,8	2,3	22,8	65,0
7	Menos de 1492	1,6	1,4	17,4	67,3
8	Mayor que o igual a 1492	2,2	3,2	19,8	50,5

Ejemplo 3

Propiedades antimicrobianas

Se evaluaron las formulaciones 4, 5 y 6 de la tabla 2 para determinar su actividad antimicrobiana frente a cuatro cepas bacterianas comunes (*S. aureus*, *S. epidermis*, *E. coli* y *P. aeruginosa*) utilizando una técnica de cribado de la zona de inhibición.

5 Se cultivaron las cuatro bacterias en placas de agar Muller Hinton. En condiciones estériles, se colocaron directamente sobre las placas de agar aproximadamente 0,1 a 0,2 ml de cada formulación. Se incubaron las placas de agar a 35 °C durante 12 horas. Después de la incubación, se observó el crecimiento bacteriano en las placas. El uso del término "zona de inhibición" indica un área alrededor de las formulaciones donde fue inhibido el crecimiento bacteriano. El término "bacteriostático" indica que las bacterias crecieron hasta el borde de la formulación, pero no se observó ningún crecimiento adicional. En otras palabras, el término "bacteriostático" se refiere a la capacidad de evitar que las bacterias crezcan y se multipliquen, pero posiblemente sin matarlas.

10 Los resultados que se muestran en la tabla 4 a continuación se basan en triplicados por formulación.

Tabla 4

Propiedades antimicrobianas

Cepas bacterianas	Zona de inhibición o bacteriostática		
	Formulación 14	Formulación 15	Formulación 16
<i>S. aureus</i>	zona de inhibición	zona de inhibición	zona de inhibición
<i>S. epidermis</i>	zona de inhibición	zona de inhibición	zona de inhibición
<i>E. coli</i>	zona de inhibición	zona de inhibición	zona de inhibición
<i>P. aeruginosa</i>	bacteriostática	bacteriostática	bacteriostática

15 Los resultados muestran que las formulaciones eran antimicrobianas y produjeron zonas de inhibición.

La formulación 6 se evaluó según la Farmacopea de Estados Unidos (USP) Guidelines for Performing Antimicrobial Effectiveness Testing, Capítulo <51> y Validation of Microbial Recovery, Capítulo <1227> para determinar la eficacia antibacteriana frente a los organismos comunes que se encuentran normalmente en las zonas de aplicación del tratamiento. Las propiedades antimicrobianas medidas se muestran a continuación en la tabla 5:

20

Tabla 5

Propiedades antimicrobianas, USP

Cepa bacteriana	ATCC No.	Tinción Gram	Antibacteriana – reducción logarítmica			
			1 hora	24 horas	3 días	7 días
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9027	negativo	3	4,8	5,3	>5,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	positivo	0	2,7	4	>5,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228	positivo	1,2	5,1	5	>5,3
<i>Escherichia coli</i>	25922	negativo	0	1,6	3,9	>5,1
<i>Citrobacter freundii</i>	8090	negativo	N/A	4,7	5	>5,3
<i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	negativo	N/A	2	2,3	>5,1
<i>Klebsiella pneumonia</i>	4352	negativo	N/A	4	4	>5,2
<i>Proteus mirabilis</i>	4630	negativo	N/A	2	4	>5,3
<i>Serratia marcescens</i>	13880	negativo	N/A	1,5	2,8	>5,0
<i>Haemophilus influenzae</i>	53782	negativo	N/A	>4,9	>4,9	>4,9
<i>Moraxella catarrhalis</i>	8193	negativo	N/A	2,9	4	>5,0

<i>Staphylococcus aureus (MRSA)</i>	33591	positivo	N/A	0,6	3,7	>5,1
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	15305	positivo	N/A	4,6	4,9	>5,1
<i>Micrococcus luteus</i>	49732	positivo	N/A	2,8	4	>5,0
<i>Streptococcus mutans</i>	25175	positivo	N/A	3,4	4,4	>5,5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	10015	positivo	N/A	2,5	3,6	>5,0
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	296	positivo	N/A	1,6	>4,5	1,5
<i>Corynebacterium tuberculostrictum</i>	35693	positivo	N/A	1,6	>5,1	3,9

Ejemplo 4

Citotoxicidad

5 Las formulaciones 4 y 6 se esterilizaron bien con haz de electrones o bien con rayos gamma y se evaluaron para
determinar los efectos citotóxicos potenciales siguiendo la norma ISO Guideline 10993-5, Evaluación biológica de
dispositivos médicos - Parte 5: Ensayos de citotoxicidad *in vitro*. Las formulaciones 4 y 6 se extrajeron en agua
purificada (PW) a 37 °C durante 24 horas. El extracto de agua purificada se mezcló con medio esencial mínimo de
doble concentración (MEM 2X) a una concentración del 50 %. Se prepararon de manera similar un control negativo
10 (polietileno de alta densidad) y un control de reactivos (por ejemplo, agua purificada). Se extrajo en MEM de una
concentración (MEM 1X) a 37 °C durante 24 horas, un control positivo (guantes de látex libres de polvo que incluyen
látex de caucho natural, aceleradores de carbamato de zinc, óxido de zinc y dióxido de titanio). Se dosificaron con
cada extracto (formulaciones 14, 16, controles positivo, negativo y reactivo), triplicados de una monocapa de cultivo
15 de células de mamífero que tienen células de fibroblastos de ratón L-929 y se incubaron a 37 °C en presencia de
CO₂ al 5 % durante 48 horas. Después de la incubación, se examinaron las monocapas microscópicamente (100x)
para determinar la morfología celular anormal y la degeneración celular.

Para confirmar las puntuaciones, se añadieron 0,2 ml de colorante azul de tripano a los pocillos que contenían las
muestras de ensayo. La molécula de azul de tripano es grande y no puede ser absorbida fácilmente por las células
vivas. Solamente las células muertas o aquellas con membranas celulares afectadas absorben la mancha de color
azul. La tabla 6 describe la puntuación y las características visuales.

20

Tabla 6

Grado/Puntuación	Reactividad	Condiciones de todos los cultivos
0	Ninguna	Gránulos intracitoplasmáticos discretos, sin lisis celular, sin reducción del crecimiento celular.
1	Ligera	No más del 20 % de las celdas son redondas, unidas libremente y sin gránulos intracitoplasmáticos, o muestran cambios en la morfología; ocasionalmente están presentes células lisadas; sólo es observable una ligera inhibición del crecimiento.
2	Suave	No más del 50 % de las células son redondas, desprovistas de gránulos intracitoplasmáticos; sin lisis celular extensa; no más del 50 % de inhibición de crecimiento observable.
3	Moderada	No más del 70 % de las capas de células contienen células redondeadas o están lisadas; capas celulares no completamente destruidas, pero más del 50 % de inhibición del crecimiento observado.
4	Severa	Destrucción casi completa o completa de las capas de células

A continuación en la tabla 7 están los resultados de las versiones esterilizadas con haz de electrones (e) o con rayos gamma (g) de las formulaciones 4 y 6, indicando los subíndices e o g el método de esterilización:

Tabla 7
Citotoxicidad

Muestra	Redondeo porcentual	Porcentaje de células sin gránulos intracitoplasmáticos	Porcentaje de lisis	Grado	Reactividad
Formulación 4 _e	0	0	0	0	Ninguna
Formulación 4 _g	0	0	0	0	Ninguna
Formulación 6 _e	10	10	10	1	Ligera
Formulación 6 _g	0	0	0	0	Ninguna
Control negativo	0	0	0	0	Ninguna
Control de reactivos	0	0	0	0	Ninguna
Control positivo	No aplicable	No aplicable	100	4	Severa

5 La formulación 6_e mostró una ligera lisis o toxicidad celular, pero en general se considera que no es citotóxica con una puntuación de citotoxicidad de 1. Las formulaciones 6_g, 4_e y 4_g mostraron no ser tóxicas, teniendo cada una de ellas una puntuación de citotoxicidad de 0.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de pasta para uso en el tratamiento de heridas, comprendiendo la composición una sal de un polímero quitosano soluble en agua o un derivado del mismo en el cual han sido modificados uno o más grupos hidroxilo o amina del polímero para alterar la solubilidad o las características de adhesivo tisular del derivado, estando disuelta la sal del polímero quitosano soluble en agua o derivado del mismo en una disolución que contiene fosfato, en donde la composición es una pasta opaca a temperatura de 20 a 25 °C que está lista para usar, es estable en almacenamiento, contiene de 5 % en peso a 20 % en peso de la sal del polímero quitosano soluble en agua o derivado del mismo basado en el peso total de la pasta, y tiene un pH de al menos 4, una viscosidad de 1 a 15 Pa.s medida según ASTM F2103-11, parte 5, y un tiempo de residencia de al menos 1 día durante el cual la pasta o una porción de la misma permanece en el sitio *in vivo* observada macroscópicamente.
2. Un kit para el tratamiento de heridas, comprendiendo el kit un envase estéril que contiene una composición de pasta que comprende una sal de polímero quitosano soluble en agua o un derivado del mismo en el cual han sido modificados uno o más grupos hidroxilo o amina del polímero para alterar la solubilidad o las características de adhesivo tisular del derivado, estando disuelta la sal del polímero quitosano soluble en agua o derivado del mismo en una disolución que contiene fosfato, en donde la composición es una pasta opaca a temperatura de 20 a 25 °C que está lista para usar, es estable en almacenamiento, contiene de 5 % en peso a 20 % en peso de la sal del polímero quitosano soluble en agua o derivado del mismo basado en el peso total de la pasta, y tiene un pH de al menos 4, una viscosidad de 1 a 15 Pa.s medida según ASTM F2103-11, parte 5, y un tiempo de residencia de al menos 1 día durante el cual la pasta o una porción de la misma permanece en el sitio *in vivo* observada macroscópicamente; e instrucciones impresas que describen el uso de la pasta y el kit para el tratamiento de heridas.
3. Una composición de pasta según la reivindicación 1, o un kit según la reivindicación 2, en donde la sal del polímero quitosano soluble en agua es una sal cloruro, citrato, nitrato, lactato, fosfato o glutamato.
4. Una composición de pasta o un kit según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la sal del polímero quitosano soluble en agua o derivado del mismo es al menos el 10 % en peso del peso total de la pasta.
5. Una composición de pasta o un kit según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la sal del polímero quitosano soluble en agua o derivado del mismo es del 15 % en peso al 18 % en peso del peso total de la pasta.
6. Una composición de pasta o un kit según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la sal del polímero quitosano soluble en agua o derivado del mismo tiene un peso molecular medio en número de 5 a 2000 kDa.
7. Una composición de pasta o un kit según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la disolución que contiene fosfato es una solución salina tamponada con fosfato.
8. Una composición de pasta o un kit según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la disolución que contiene fosfato es una solución salina tamponada con fosfato 3X.
9. Una composición de pasta o un kit según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la disolución que contiene fosfato tiene un pH de 9 a 12.
10. Una composición de pasta o un kit según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la disolución que contiene fosfato comprende un fosfato de glicerol.
11. Una composición de pasta o un kit según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende un agente lubricante o humectante y el agente lubricante o humectante es del 1 % en peso al 10 % en peso del peso total de la pasta.
12. Una composición de pasta o un kit según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la pasta es esterilizada.
13. Una composición de pasta o un kit según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la pasta tiene una fuerza adhesiva de 5 gramos a 80 gramos (0,05 N a 0,78 N) de fuerza necesaria cuando se usa una máquina de ensayo tensil operada a una velocidad de separación de 1 mm/s para separar dos casquetes de caucho recubiertos con colágeno que han sido comprimidos uno contra otro, con una muestra de la pasta entre ellos, utilizando una fuerza de compresión de aproximadamente 4,4 Newton.
14. Una composición de pasta o un kit según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la pasta no es citotóxica, con una puntuación de citotoxicidad de 1 o menos medida según la ISO Guideline 10993-5.
15. Una composición de pasta o un kit según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la pasta se envasa como una composición lista para usar.

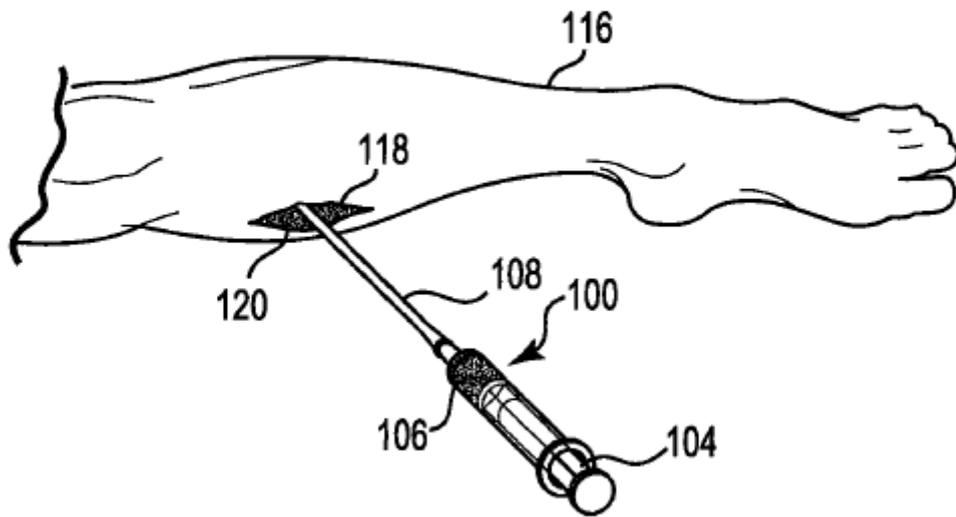


Fig. 1

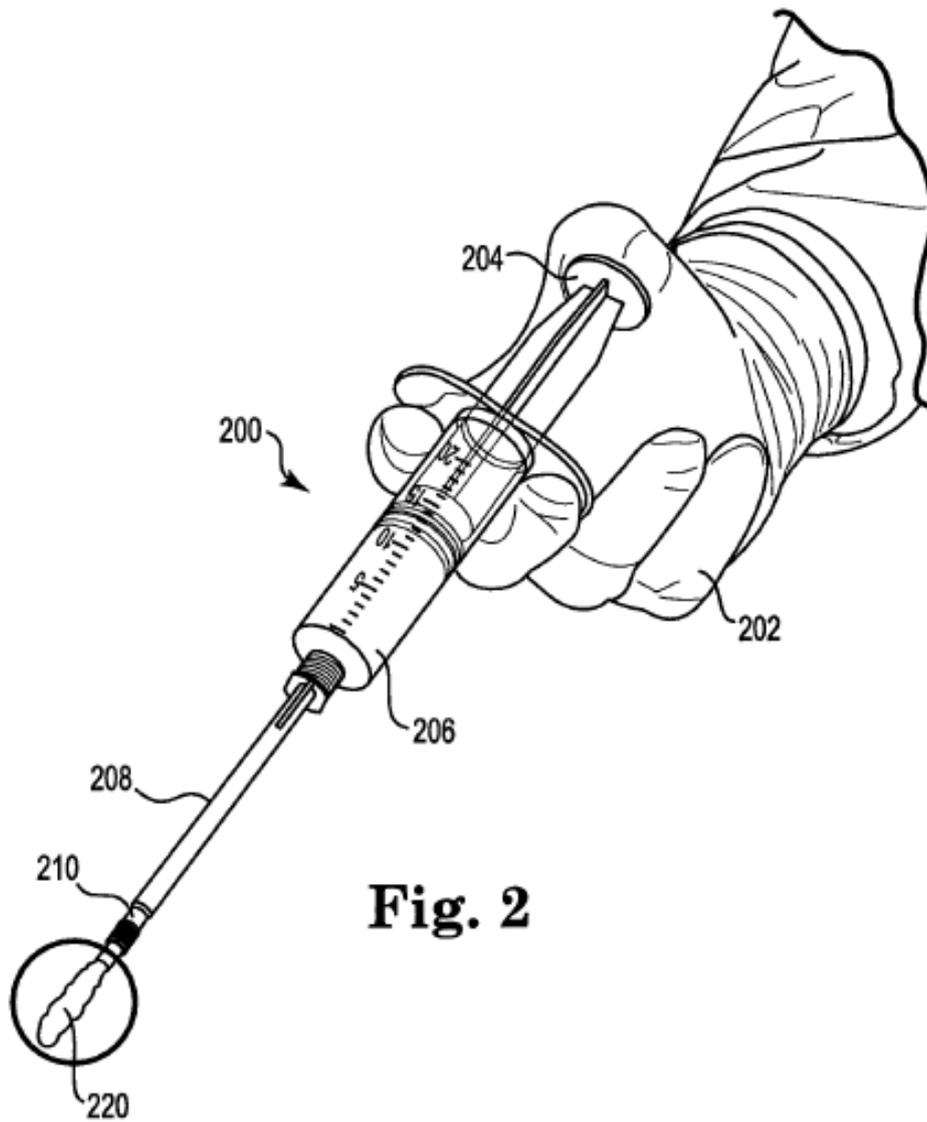


Fig. 2

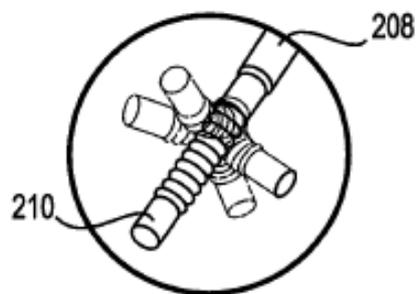


Fig. 3