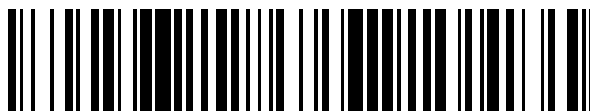


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 765 348**

51 Int. Cl.:

A61L 26/00 (2006.01)

A61L 24/00 (2006.01)

A61L 27/20 (2006.01)

A61L 24/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.10.2014 PCT/US2014/062029**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.04.2015 WO15061606**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.10.2014 E 14793730 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.11.2019 EP 3060265**

54 Título: **Pasta de endoprótesis 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:
08.06.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

MEDINA, JENNIFER GATES y
SHERMAN, ETHAN GLENN

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 765 348 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

Pasta de endoprótesis de quitosano

5 Campo de la invención

Esta invención se refiere a biomateriales para su uso en o sobre tejidos y estructuras en la garganta, fosas nasales y en otros lugares en o cerca del tracto respiratorio.

10 Antecedentes

La sinusitis es una inflamación del tejido mucoso que recubre las paredes sinusales, lo que puede ocasionar un bloqueo del conducto nasal, estancamiento mucoso e infección de la cavidad sinusal bacteriana o micótica. Los tratamientos típicos comienzan con antibióticos. Sin embargo, cuando los antibióticos no pueden aliviar la sinusitis, la cirugía de los senos (que implica abrir las cavidades sinusales y extraer el tejido mucosal) puede ser una alternativa. El cuidado posoperatorio para dicha cirugía requiere un tapón sinusal temporal e incómodo o una gasa que soporte el conducto sinusal reabierto y absorba el exceso de líquido mientras los tejidos se curan. Después de varios días o a discreción del médico, se retira el tampón de gasa. Hacerlo es doloroso.

20 Rowan Valentine ET AL: "The efficacy of a novel chitosan gel on hemostasis and wound healing after endoscopic sinus surgery", American Journal of Rhinology & Allergy, vol. 24, n.º 1, 1 de enero de 2010 (01-01-2010), páginas 70-75, divulgan un gen reticulado de quitosano/dextrano utilizado después de la cirugía sinusal.

Resumen de la invención

25

El alcance de la invención se define por las reivindicaciones. Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a los productos de la presente invención para su uso en un método de tratamiento.

30 Los selladores de senos nasales y otros materiales biológicos se han convertido en una técnica prometedora para sellar temporalmente, colocar una endoprótesis o proteger de otro modo los conductos sinusales posoperatorios con menos intrusión y dolor que las técnicas tradicionales de taponamiento.

35 Son deseables el taponamiento o endoprótesis de biomateriales que se disuelven o se degradan de otro modo durante un periodo determinado. El taponamiento o las endoprótesis deberían poder dispensarse de forma deseable a través de un dispositivo dispensador adecuado (por ejemplo, una jeringa) con una sola mano enguantada. El taponamiento o las endoprótesis también deben proporcionarse de forma deseable como composiciones inyectables o extruibles listas para usar.

40 La invención proporciona, en un aspecto, una pasta de endoprótesis sinusal como se define en la reivindicación 1.

La invención proporciona, en otro aspecto, un método como se define en la reivindicación 2, para preparar una pasta de endoprótesis de quitosano.

45 La invención proporciona en otro aspecto más, una composición de pasta como se define en la reivindicación 3, para su uso en la endoprótesis de tejido interno o en un sitio quirúrgico interno.

La pasta, endoprótesis, método y uso divulgados son especialmente útiles para la cirugía nasal y sinusal.

Breve descripción de los dibujos

50

La **fig. 1** es una vista esquemática que muestra la aplicación de la pasta divulgada para colocar la endoprótesis en el cornete medio.

55 La **fig. 2** y la **fig. 3** son vistas en perspectiva que muestran respectivamente una jeringa y una punta flexible para su uso en la dispensación de la pasta divulgada.

Símbolos de referencia similares en las diversas figuras de los dibujos indican elementos similares. Los elementos en el dibujo no están a escala.

60 Descripción detallada

La siguiente descripción detallada describe ciertas formas de realización y no debe tomarse en un sentido limitativo.

Todos los pesos, cantidades y relaciones en el presente documento son en peso, a menos que se indique de otro modo. Los términos que se muestran a continuación tienen los siguientes significados:

5 El término "adhesión" se refiere al pegado de una estructura corporal o material protésico al tejido, al pegado del tejido al tejido con el que está en contacto estrecho durante un periodo prolongado, o a la formación de tejido que conecta estructuras corporales, materiales protésicos o tejidos entre sí a través de un espacio normalmente abierto.

10 El término "antimicrobiano", cuando se usa en referencia a una sustancia, significa que la sustancia puede matar, inhibir o controlar significativamente el crecimiento de microbios, por ejemplo, bacterias tales como 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 nocivos o perjudiciales significativos para el cuerpo.

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

20 El término "quitosano" se refiere a un polímero de polisacárido que contiene unidades monoméricas distribuidas al azar de D-glucosamina ligada a β -(1-4) (desacetilada) y N-acetil-D-glucosamina (acetilada) opcional, e incluye derivados de quitosano en los que o se han modificado uno o más grupos hidroxilo o amina del polímero para alterar las características de solubilidad o mucoadhesión del derivado.

25 El término "conformado", cuando se usa en referencia a una pasta aplicada al tejido u otra estructura corporal, significa que la pasta puede formar una capa sustancialmente continua sobre un área a la que se ha aplicado la pasta.

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

30 El término "mucoadhesivo", cuando se usa en referencia a una sustancia, significa que la sustancia se adherirá al moco que cubre los epitelios.

35 El término "nasal o sinusal" se refiere a los diversos tejidos que definen los conductos y cámaras normalmente llenas de aire dentro de la nariz y las cavidades sinusales, incluyendo, pero sin limitación, las fosas nasales o narinas, la concha o cornetes nasales, los senos frontales, etmoidales, esfenoideales y maxilares, los ostium sinusales y la nasofaringe.

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

40 El término "osmolalidad" significa el número de osmoles de soluto por kilogramo de disolvente, según se mide utilizando un osmómetro de depresión del punto de congelación.

45 El término "pasta", cuando se usa en referencia a una sustancia, significa que la sustancia es un material opaco visiblemente homogéneo, no poroso, que tiene una consistencia blanda, maleable y esparcible, por ejemplo, similar a la pasta de dientes, y una viscosidad tal que el material es adecuado para su uso en la colocación de endoprótesis (por ejemplo, manteniendo separado) del tejido nasal o sinusal. Un gel opaco puede ser una pasta. Una recopilación de partículas sólidas secas que fluyen libremente, un sólido no maleable, una esponja porosa, un gel translúcido, un líquido o una composición pulverizable no serían una pasta.

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

55 El término "tiempo de residencia", cuando se usa en referencia a una pasta aplicada al tejido u otra estructura corporal, significa el periodo de tiempo durante el cual la pasta o porción de la misma permanece en su lugar *in vivo* bajo observación general.

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

El término "delgada", cuando se usa en referencia a una capa protectora sobre tejido u otra estructura corporal, significa que tiene un grosor promedio de menos de aproximadamente cinco milímetros.

El término "tonicidad", cuando se usa en referencia a la respuesta de una célula (por ejemplo, tejido ciliado tal como se encuentra en el oído, nariz y garganta) a una sustancia externa, se refiere a la suma de la concentración de solutos que tienen la capacidad de ejercer una fuerza osmótica a través de una membrana dada. Los solutos que no pueden 5 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 puede denominarse "hipertónica", "hipotónica" o "isotónica". "Hipertónica" se refiere a una sustancia con una mayor concentración de soluto fuera de la membrana celular. Como tal, cuando la sustancia entra en contacto con la membrana celular, el agua en la célula tendrá una tendencia a moverse fuera de la célula para equilibrar la concentración de soluto fuera de la membrana celular. 10 "Hipotónica" se refiere a una sustancia con una concentración de soluto inferior fuera de la membrana celular. Como tal, el agua del exterior de la célula entrará en la célula, causando hinchazón en un intento de equilibrar la concentración de soluto dentro de la célula. "Isotónica" se refiere a la concentración de soluto de una sustancia que es la misma que la célula con la que entra en contacto. Como tal, se considera fisiológica con la célula y, por lo tanto, no hay flujo neto de agua.

15 El término "viscosidad", cuando se usa en referencia a una sustancia, es la medida en que la sustancia resiste una tendencia a fluir cuando se somete a tensión. La viscosidad se puede medir con un viscosímetro de cono y placa que impone una tensión específica sobre la sustancia y la deformación o resistencia a la tensión resultante se mide de acuerdo con la norma ASTM F2103-11 (Parte 5). Las unidades de viscosidad se informan como Pascal-segundos 20 (Pa.s.). Para las pastas divulgadas, los valores de viscosidad se determinan y se informan después de que la pasta se haya esterilizado.

La pasta o método divulgado incluye una alta concentración de un quitosano soluble en agua (por ejemplo, sal de quitosano) y un agente reductor de osmolalidad disuelto en una solución que contiene fosfato, teniendo la pasta un 25 pH de al menos 4. La pasta divulgada tiene de forma deseable una coloración blanquecina a amarillenta, lo que facilita su visualización cuando se aplica. La pasta divulgada es opaca. La pasta divulgada también se proporciona de forma deseable en una forma lista para usar, estable al almacenamiento, inyectable o extruible, que requiere una preparación nula o mínima. El agente reductor de osmolalidad no es un quitosano ni el agente reductor de la osmolalidad es reticulable con el quitosano. Debido a que la pasta no incluye reticulantes, puede almacenarse durante largos periodos 30 de tiempo y deseable no requiere más hidratación, mezcla u otras etapas de preparación similares antes de la aplicación.

La pasta divulgada se puede preparar mezclando o disolviendo los ingredientes inicialmente sólidos (por ejemplo, quitosano soluble en agua y un agente reductor de osmolalidad) en una solución que contiene fosfato (por ejemplo, 35 solución salina tamponada con fosfato (PBS)). Se forma una pasta a temperatura ambiente (es decir, de 20 °C a 25 °C) cuando los ingredientes se solubilizan y permanecen como una pasta a temperatura ambiente.

Con referencia a la **fig. 1**, la pasta o el método divulgado se puede usar o realizar, por ejemplo, en las cavidades nasales o sinusales **100** de un paciente, incluidos los senos maxilares **110a**, **110b**, senos frontales **112a**, **112b**, a los 40 que se puede acceder a través de las narinas **114a**, **114b** y cornetes **116a**, **116b**. Cabe señalar que las características externas del paciente, incluidos las narinas **114a**, **114b**, se muestran en líneas discontinuas. Cuando el paciente padece, por ejemplo, rinosinusitis crónica, uno o más sitios de tratamiento, tal como el sitio de tratamiento **118** asociado con el cornete medio **116a**, pueden abordarse médicamente o, si es necesario, quirúrgicamente. Se puede aplicar una capa **120** de la pasta divulgada al sitio **118** y dejar que permanezca en su lugar mientras tiene lugar la curación.

45 La **fig. 2** muestra una jeringa dispensadora **200** para la pasta divulgada que se sujeta en la mano derecha **202** de un cirujano. Cuando el émbolo **204** se presiona en el cilindro de la jeringa **206**, la pasta divulgada se dispensa a través de la punta recta **208** y la punta flexible **210**, con lo cual sale de la punta **210** como una masa opaca **220**. La **fig. 3** muestra varias posiciones flexionadas (en fantasma) que pueden formarse en la punta flexible **210** para facilitar el 50 acceso a partes difíciles de alcanzar de la anatomía de un paciente.

Los expertos en la materia apreciarán que la pasta divulgada puede aplicarse en o a otras partes del cuerpo. La pasta divulgada puede tener utilidad, por ejemplo, en aplicaciones vasculares o no vasculares, incluido el tratamiento de tejidos (por ejemplo, tejidos de la mucosa) u otros tejidos o estructuras internas en o cerca de las orejas, la garganta, 55 las extremidades o la columna vertebral.

La pasta aplicada puede llenar el sitio de tratamiento (por ejemplo, una cavidad nasal o sinusal, o una abertura, hueco, conducto o articulación en una parte de las extremidades o la columna vertebral), en cuyo caso, la pasta divulgada puede ser muy espesa y no estar expuesta al aire u otros gases cercanos, y con espesores diferentes en todas partes. 60 La pasta divulgada también se puede aplicar como una película delgada u otro revestimiento conformado, en cuyo caso, la capa puede ser relativamente delgada y estar expuesta al aire u otros gases cercanos, y con un espesor sustancialmente uniforme en toda la capa. La pasta protectora se adhiere de manera deseable a la mucosa u otros

- tejidos naturales (por ejemplo, cartílago o hueso) en el sitio de tratamiento y resiste el desprendimiento u otra alteración hasta que tiene lugar la degradación natural o degradación iniciada por irrigación o hidrólisis, por ejemplo, después de un tiempo de residencia *in vivo* desde 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
- 5 hasta aproximadamente 60 días. Mientras tanto, la recolonización o reinfección bacteriana puede reducirse o prevenirse significativamente, y puede tener lugar una mejor cicatrización (por ejemplo, la reciliación). La pasta protectora puede proporcionar diversas ventajas terapéuticas incluyendo, pero sin limitación, inhibición de la adhesión bacteriana, propiedades antiinfecciosas, modulación inmune local, protección tisular, reducción o eliminación del dolor o sangrado, reducción de la inflamación, optimización del entorno para el recrecimiento ciliar, reducción de adhesiones
- 10 a la anatomía crítica, y similares. Estas ventajas pueden surgir debido a una diversidad de mecanismos incluyendo a) matar bacterias, b) inhibir la colonización bacteriana, c) inhibir la adherencia de bacterias al tejido, d) reducir la morbilidad tisular o la formación de abscesos, e) reducir o prevenir la recidiva de la enfermedad (para ejemplo, reduciendo específicamente la inflamación crónica relacionada con la toxina bacteriana y la matriz de polisacárido extracelular (es decir, biopelícula) toxina), f) recubrir y proteger el tejido durante la cicatrización, tal como mediante el
- 15 mantenimiento de una herida húmeda que promueve la agregación plaquetaria, o mediante el cierre de una herida seca sin formación escabrosa excesiva, g) hemostasia, h) optimizar el ambiente para la reciliación de la mucosa, i) acelerar el crecimiento o recrecimiento de los cilios y j) administración un agente o agentes terapéuticos al sitio de tratamiento.
- 20 De forma deseable, la pasta protectora se adherirá a una porción de la mucosa mientras deja los cilios en porciones no adheridas libres para someterse a un movimiento de cilios rítmicos naturales (es decir, batido de los cilios), si se desea también administrará agentes antimicrobianos o agentes terapéuticos adicionales, y de forma deseable se desaconsejará o se evitará que las bacterias se colonicen en el sitio de tratamiento.
- 25 Se utilizan quitosanos solubles en agua, preferiblemente sales de quitosano, para formar la pasta. Por ejemplo, altas concentraciones de una sal de quitosano se pueden mezclar en una solución 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 imponer ninguna teoría, el fosfato y el quitosano pueden reaccionar a través de una reacción
- 30 iónica para ayudar a formar la pasta. De forma deseable, el quitosano es suficientemente soluble en agua para que toda la cantidad de quitosano deseada pueda disolverse en la pasta divulgada. Sin embargo, una porción del quitosano se puede dispersar en la pasta divulgada. El quitosano elegido tiene preferiblemente una solubilidad en agua de al menos aproximadamente el 3 % en peso, al menos aproximadamente el 5 % en peso, al menos aproximadamente el 8 % en peso, al menos aproximadamente el 10 % en peso, al menos aproximadamente el 15 %, al menos
- 35 aproximadamente el 18 % o al menos aproximadamente el 20 % en peso. Las concentraciones de quitosano ejemplares son del 5 al 20 % en peso, del 5 a aproximadamente el 8 % en peso, de aproximadamente el 8 % en peso a aproximadamente el 12 % en peso, de aproximadamente el 12 % en peso a aproximadamente el 18 % en peso, de aproximadamente el 16 % en peso a aproximadamente el 18 % en peso o de aproximadamente el 18 % en peso al 20 % en peso del peso total de la pasta. Las altas concentraciones de quitosano utilizadas en la pasta dan como
- 40 resultado viscosidades deseables para una buena colocación de endoprótesis y una fuerza de administración de jeringa aceptable. Las viscosidades deseadas varían de 1 a 15 Pa.s. cuando se ensayó a 25 °C y una velocidad de corte de 221s⁻¹. Esta velocidad de corte se correlaciona con la velocidad de corte promedio aproximada que la sustancia puede experimentar cuando se dispensa a través de una jeringa BD™ estándar de 30 ml con un conector LUER LOCK™ a una velocidad de 1 ml/s.
- 45 Pueden obtenerse quitosanos no modificados, solubles en agua ejemplares y sus sales (incluidas las sales de cloruro, citrato, nitrato, lactato, fosfato y glutamato) a partir de una diversidad de fuentes comerciales, incluidas las fuentes descritas en la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 2009/0291911 A1.
- 50 El quitosano también se puede sintetizar por desacetilación de quitina (poli-N-acetil-D-glucosamina) para eliminar los grupos acetilo en el átomo de nitrógeno por hidrólisis. El polímero resultante tiene una pluralidad de unidades de repetición (por ejemplo, de aproximadamente 30 a aproximadamente 3000 unidades de repetición, de aproximadamente 60 a aproximadamente 600 unidades de repetición, o cualquier otra cantidad que pueda desearse para el uso final elegido), algunas o todas las cuales contienen grupos amino desacetilados (por ejemplo, de
- 55 aproximadamente el 30 a aproximadamente el 100 % o de aproximadamente el 60 a aproximadamente el 95 % del total de unidades de repetición), conteniendo las unidades de repetición restantes (si las hay) grupos amino acetilados. El polímero es catiónico y puede considerarse como compuesto de monómeros de glucosamina.
- El quitosano puede tener una diversidad de pesos moleculares promedio en número, por ejemplo, de
- 60 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 ultrabajo que tiene un peso molecular promedio en número inferior a o de aproximadamente 30 kDa, un

material de bajo peso molecular que tiene un peso molecular promedio en número de aproximadamente 30 a aproximadamente 400 kDa, un material de peso molecular medio que tiene un peso molecular promedio en número de aproximadamente 200 a aproximadamente 500 kDa, o un material de alto peso molecular que tiene un peso molecular promedio en número mayor de aproximadamente 500 kDa. Se prefiere un quitosano de bajo peso molecular.

- 5 Los pesos moleculares divulgados son pesos antes de la esterilización de la pasta. El quitosano está de forma deseable en forma de partículas secas antes de mezclarse con la solución de fosfato, por ejemplo, como gránulos que fluyen libremente cuyo diámetro de partículas promedio es menor de aproximadamente 1 mm, menor de aproximadamente 100 μm , de aproximadamente 1 a aproximadamente 80 μm , o menor de 1 μm .
- 10 También se pueden emplear derivados de quitosano, en los que uno o más grupos hidroxilo o amino se han modificado con el fin de alterar las características de solubilidad o mucoadhesión del derivado. Los derivados ejemplares incluyen quitosanos tiolados y derivados de quitosano no tiolados tales como quitosanos acetilados, alquilados o sulfonados (por ejemplo, O-alkil éteres, O-acil ésteres, trimetil quitosanos cationizados y quitosanos modificados con polietilenglicol). Los derivados de quitosano pueden obtenerse a partir de una diversidad de fuentes. Por ejemplo, los
- 15 quitosanos tiolados pueden obtenerse en ThioMatrix Forschungs Beratungs GmbH y Mucobiomer Biotechnologische Forschungs-und Entwicklungs GmbH, o pueden prepararse por reacción de quitosano con un reactante tiolado adecuado, por ejemplo, como se describe en la Solicitud PCT Publicada N.º 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-Schnurch, *Thiomers: A new generation of mucoadhesive polymers*, Advanced Drug Delivery Reviews, 57, 1569-1582 (2005); y Bernkop-Schmirch et al., *Thiomers: Preparation and in vitro evaluation of a mucoadhesive nanoparticulate drug delivery system*, International journal of Pharmaceutics, 317, 76-81 (2006).
- 20
- 25 Si bien una alta concentración de quitosano tiene una viscosidad deseada para la colocación de endoprótesis, también da como resultado una alta osmolalidad (por ejemplo, una pasta hecha de aproximadamente el 18 % en peso de quitosano HCl y con un peso molecular en el intervalo de aproximadamente 30 a aproximadamente 400 kDa da como resultado una osmolalidad de aproximadamente 2800 mOsm/kg). Una pasta de alta osmolalidad puede no ser fisiológicamente compatible con las células o tejidos a los que se puede aplicar la pasta. La osmolalidad deseada es
- 30 de tal forma que la pasta se considera isotónica o hipertónica a las células o tejidos (por ejemplo, tejido ciliado) a los que se aplica la pasta. La pasta tiene una osmolalidad de 270 a 2000 mOsm/kg o de aproximadamente 270 a aproximadamente 1500 mOsm/kg, pero aún tiene una viscosidad deseable.

- Para mantener o disminuir la osmolalidad sin alterar o reducir significativamente la viscosidad deseada o la consistencia de tipo pasta, se encontró que deberían usarse uno o más agentes reductores de osmolalidad. El agente reductor de osmolalidad es de forma deseable suficientemente soluble en agua de manera que toda la cantidad deseada del agente reductor de osmolalidad pueda disolverse en la pasta divulgada. Sin embargo, una porción del agente reductor de osmolalidad se puede dispersar en la pasta divulgada. El agente reductor de osmolalidad seleccionado tiene preferiblemente una solubilidad en agua de al menos aproximadamente el 1 % en peso, al menos
- 35 aproximadamente el 2 % en peso, al menos aproximadamente el 8 % en peso, al menos aproximadamente el 10 % en peso, o al menos aproximadamente el 20 % en peso. El agente reductor de osmolalidad contiene de forma deseable pocos o ningún grupo de sal, ya que dichos grupos pueden aumentar en lugar de disminuir la osmolalidad de la pasta divulgada. Las cantidades recomendadas del agente reductor de osmolalidad pueden ser, por ejemplo, de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 20 % en peso, de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 10 %
- 40 en peso o de aproximadamente el 2 a aproximadamente el 8 % en peso del peso total de la pasta. Los ejemplos de agentes reductores de osmolalidad adecuados incluyen polisacáridos distintos de quitosanos que son biocompatibles y que reducen la osmolalidad en la pasta divulgada, pero que no reticulan el quitosano. Los ejemplos de dichos polisacáridos incluyen agares, alginatos, carrageninos, celulosas, dextranos, galactomananos, glucógenos, ácidos hialurónicos y almidones, y especialmente los que son solubles en agua en la medida deseada sin contener grupos
- 45 de sales.

- Los polisacáridos preferidos incluyen celulosas con funcionalidad hidroxilo o modificadas con alquilo. Los materiales de celulosa ejemplares incluyen metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxibutilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa, y mezclas de las mismas. Sin pretender imponer
- 50 ninguna teoría, se cree que el agente reductor de osmolalidad sirve como un "eliminador de sal" que puede ayudar a reducir la osmolalidad de la pasta y mantener la consistencia deseada de tipo pasta.

- La pasta puede contener, por ejemplo, quitosano y un agente reductor de osmolalidad en una cantidad combinada que representa de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 20 % en peso, de aproximadamente el 10 a
- 60 aproximadamente el 20 % en peso o de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 15 % en peso de la composición total de la pasta. El quitosano y el agente reductor de osmolalidad pueden combinarse, 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.

La pasta tiene un pH apropiado para ponerse en contacto con tejido humano, que es un pH de al menos 4, un pH casi neutro o un pH inferior a 10. Un ácido, base o agente tamponante puede incluirse, por ejemplo, para ayudar a mantener un pH apropiado. Se prefieren los agentes tamponantes, y los tampones que contienen fosfato son los más preferidos. Los agentes tamponantes ejemplares incluyen mezclas de barbitona sódica, glicinamida, glicina, cloruro de potasio, fosfato de potasio, hidratoftalato 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).

10 Los tampones que contienen fosfatos ejemplares se derivan de ácido fosfórico y una base seleccionada de hidróxido de potasio, hidróxido de sodio, las sales de potasio o sodio de ácido fosfórico, mezclas de los mismos y similares. Las sales de fosfato ejemplares incluyen fosfato de sodio dibásico y monobásico, fosfato de potasio dibásico y monobásico, y mezclas de los mismos. La concentración de ácido fosfórico y la base o sal en el agente tamponante divulgado puede variarse para lograr el pH deseado.

15 Como se analiza anteriormente, el quitosano y el agente reductor de osmolalidad se disuelven en la solución que contiene fosfato. Las soluciones ejemplares que contienen fosfato incluyen tampones que contienen fosfato, tal como PBS. Las soluciones de PBS incluyen típicamente una combinación de una o más sales de fosfato y una o más sales de cloruro. Las sales de fosfato ejemplares incluyen fosfato de disodio, dihidrogenofosfato de potasio o una combinación de los mismos. Las sales de cloruro ejemplares incluyen cloruro de sodio, cloruro de potasio o una combinación de los mismos. Las sales utilizadas para preparar la solución de PBS

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

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 usar formas estereoisoméricas de GlyPhos, preferiblemente las mezclas racémicas, meso, α y β u otras formas o mezclas. En algunas realizaciones, el fosfato puede proporcionarse por un agente tamponante (por ejemplo, PBS), por una sal de GlyPhos o ambos.

La pasta divulgada puede consistir en o consistir esencialmente en el quitosano soluble en agua mencionado anteriormente o un derivado, el agente reductor de osmolalidad y la solución que contiene fosfato, opcionalmente junto con uno cualquiera o más de una diversidad de adyuvantes. Los adyuvantes ejemplares incluyen lubricantes, agentes humectantes, agentes terapéuticos, agentes antimicrobianos, tintes, pigmentos u otros colorantes, indicadores, agentes saporíferos o edulcorantes, antioxidantes, agentes antiespumantes, tixótropos, modificadores del agente de liberación para la liberación sostenida o retardada de agentes terapéuticos, y otros ingredientes que se conocerán por los expertos en la técnica.

Los lubricantes y los agentes humectantes son adyuvantes especialmente deseables que pueden ayudar a mantener la consistencia de la pasta y pueden ayudar a dispensar la pasta en o sobre un sitio de tratamiento deseado. De forma deseable, la pasta debe poder ser dispensada por un operador desde un dispositivo de administración adecuado (por ejemplo, una jeringa) con una sola mano enguantada. Una clase preferida de lubricantes y agentes humectantes incluye compuestos hidroxilo que tienen dos o más grupos hidroxilo, siendo deseable la presencia de un 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 lubricantes y agentes humectantes pueden ser, por ejemplo, de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 15 % en peso o de aproximadamente el 2 a aproximadamente el 12% en peso del peso total de la pasta.

60 Los agentes terapéuticos ejemplares incluyen cualquier material adecuado para su uso en el sitio de tratamiento previsto, incluidos analgésicos, anticolinérgicos, agentes antifúngicos, antihistamínicos, agentes antiinflamatorios esteroideos o no esteroideos, agentes antiparasitarios, agentes antivíricos, pasta biostática, agentes

quimioterapéuticos, agentes antineoplásicos, citocinas, descongestionantes, agentes hemostáticos (por ejemplo, trombina), inmunosupresores, mucolíticos, ácidos nucleicos, péptidos, proteínas, esteroides, vasoconstrictores, vitaminas, mezclas de los mismos, y otros materiales terapéuticos que serán conocidos por los expertos en la técnica.

También se puede encontrar una lista útil de dichos agentes terapéuticos, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos N.º 7.959.943 B2 (Hissong et al.).

La pasta divulgada es de forma deseable inherentemente antimicrobiana sin requerir la adición de un agente antimicrobiano separado. La actividad antimicrobiana puede verse influida por la proporción de quitosano en la pasta. Se puede emplear un agente antimicrobiano separado si se desea. Se puede encontrar una lista útil de dichos agentes antimicrobianos, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos N.º 7.959.943 B2.

Los tintes, pigmentos u otros colorantes ejemplares incluyen FD & C Rojo N.º 3, FD & C Rojo N.º 20, FD & C Amarillo N.º 6, FD & C Azul N.º 2, D & C Verde N.º 5, D & C Naranja N.º 4, D & C Rojo N.º 8, colorantes de caramelo, dióxido de titanio, fruta o vegetales, tales como la remolacha en polvo o betacaroteno, cúrcuma, pimentón y otros materiales que serán conocidos por los expertos en la técnica). Indicadores ejemplares; los agentes saporíferos 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 cassia), 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 divulgada típicamente se colocará en un envase sellado adecuado (por ejemplo, una jeringa, un vial o una bolsa hecha de materiales adecuados, o un kit que contenga dicho envase e instrucciones impresas opcionales), y se someterá a esterilización antes de ser envasarse de nuevo si es necesario con instrucciones impresas que describan el uso correcto de la pasta o el kit en cirugía nasal o sinusal. Son deseables métodos de esterilización que no se decoloren (por ejemplo, marrón), que no afecten a la resistencia adhesiva o viscosidad o que no afecten de otro modo 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 E-Beam parece prevenir o limitar la decoloración de la pasta. La esterilización E-beam se puede realizar a temperaturas reducidas, como se describe en la Patente de Estados Unidos N.º 8.653.319 B2 (Amery et al). La esterilización E-beam o gamma se puede usar, por ejemplo, en dosis en el intervalo de aproximadamente 12 a aproximadamente 40 kGy. En algunas realizaciones, la pasta divulgada puede ser translúcida antes de la esterilización y opaca después de la esterilización.

La pasta se proporciona de forma deseable como una composición lista para usar que requiere poca o ninguna mezcla, agitación, hidratación u otra preparación. La pasta se proporciona de forma deseable en un dispensador desde el cual se puede inyectar o extruir la pasta, y por ejemplo puede envasarse en dosis unitarias de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 g. La pasta tiene de forma deseable una buena vida útil según se determina 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 se mantiene una viscosidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 15 Pa.s. Si la pasta parece haberse separado, volver a mezclarla (por ejemplo, mover la composición hacia adelante y hacia atrás entre dos jeringas) generalmente devolverá la pasta a una consistencia más homogénea. Sin embargo, la pasta preferiblemente no se separa durante el almacenamiento. La pasta es de forma deseable estable a temperaturas que varían de aproximadamente 2 °C a aproximadamente 60 °C. Además, la pasta sigue siendo de forma deseable una pasta después de la exposición a intervalos de temperatura extrema impuestas durante la prueba ISTA-2A (por ejemplo, de aproximadamente -29 °C a aproximadamente 60 °C).

La pasta divulgada también puede tener una mucoadhesión deseable. En otras palabras, la pasta divulgada preferiblemente se adherirá o se pegará al tejido corporal o conducto específico al que se aplica sin tener que taponar completamente el conducto para obtener una retención adecuada en el conducto. De forma deseable, la pasta tiene una fuerza adhesiva tal que puede requerirse 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 prueba de tracción (por ejemplo, una máquina de prueba de tracción MTS™) operada a una velocidad de separación de 1 mm/s para separar dos hemisferios de caucho recubiertos de colágeno comprimidos uno contra otro con una muestra de la pasta entre ellos, usando una fuerza de compresión de aproximadamente 4,4 Newton (1 libra). De forma deseable, los hemisferios de caucho están hechos de bolas de caucho de durómetro de Shore OO, 30 de color negro ultra blandas con un diámetro de aproximadamente 5 cm (2 pulgadas) que se han bisecado a una altura de aproximadamente 2,5 cm (1 pulgada). De forma deseable, los hemisferios se montan en el medidor de tracción en una relación convexa opuesta con una pieza de envoltura de embutido envuelta sobre cada hemisferio. De aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,5 ml de la pasta divulgada se aplica de forma deseable al centro del hemisferio inferior, los hemisferios se comprimen entre sí utilizando la fuerza de compresión especificada y se registra la fuerza requerida para separar los hemisferios a la velocidad de separación especificada. Los valores de resistencia

de adhesión se informan para la pasta esterilizada. 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 de forma natural o por irrigación (por ejemplo, solución salina).

5 De forma deseable, la pasta divulgada es no citotóxica con puntuaciones de citotoxicidad de 0, 1 o 2, según se mide por la Norma ISO 10993-5, Evaluación biológica de dispositivos médicos, Parte 5: Pruebas de citotoxicidad *in vitro*. De forma deseable, la pasta puede tener una puntuación de citotoxicidad de 1 o menos.

10 La pasta divulgada de forma deseable es sustancialmente libre de colágeno. De forma deseable, la pasta está suficientemente libre de colágeno (por ejemplo, no contiene colágeno en absoluto) para que pueda comercializarse en todo el mundo para su uso sin restricciones en seres humanos. De forma deseable, la pasta divulgada no contiene otros ingredientes que puedan dañar potencialmente los tejidos o estructuras de la mucosa, por ejemplo, los tejidos en las cavidades nasales o sinusales.

15 La pasta divulgada se puede utilizar como parte de un régimen de tratamiento de múltiples etapas. Por ejemplo, se puede realizar una serie de etapas que pueden clasificarse en términos generales como Limpieza/Alteración, Destrucción, Aireación, Protección/Revestimiento y Cicatrización. La etapa de limpieza/alteración se puede realizar mediante la administración de un sistema de solvatación como los descritos en las Patentes de Estados Unidos N.º 7.976.873 B2 y 7.976.875 B2 y en la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 2011/0245757A1. La etapa de destrucción puede realizarse aplicando un agente antimicrobiano adecuado al sitio de tratamiento. Esto se puede lograr, por ejemplo, incluyendo un agente antimicrobiano en el sistema de solvatación, como un agente aplicado por separado, o tanto en el sistema de solvatación como en el agente aplicado por separado. Un agente antimicrobiano también puede aplicarse o administrarse después de la operación. La etapa de aireación puede realizarse proporcionando conductos de aire o mejorando los conductos de aire a los tejidos tratados abriendo pasos ocluidos o parcialmente ocluidos, por ejemplo, los senos nasales o los ostium sinusales para aplicaciones nasales. Esto se puede lograr, por ejemplo, mediante la extracción quirúrgica de estructuras de tejido obstructivo o desplazando manualmente dichas estructuras. La etapa de protección/revestimiento se puede realizar recubriendo al menos parte del tejido tratado de este modo con la pasta divulgada. La etapa de cicatrización puede realizarse permitiendo que la superficie de tejido limpia, protegida y sellada regrese a un estado normal, por ejemplo, a través de uno o más mecanismos de cicatrización, tales como la modulación de una respuesta inflamatoria, fagocitosis, remodelación de la mucosa, reciliación o restauración total o parcial de la función normal. El régimen de tratamiento multietapa puede incluir o ir seguido de una etapa de limpieza en la que la pasta divulgada sea suficientemente biodegradable para desaparecer del sitio de tratamiento en un periodo de tiempo deseado, por ejemplo, más de 5 días, o aproximadamente de 7 a 15 días o por irrigación. La pasta se degrada de forma deseable o puede eliminarse de otra manera sin desprender grandes trozos sólidos. El método divulgado puede realizarse ventajosamente sin requerir cirugía, por ejemplo, aplicando y retirando el sistema opcional de solvatación y aplicando la pasta divulgada mediante técnicas de aspiración o succión normales, o simplemente limpiando el tejido afectado.

40 La pasta divulgada puede usarse para una diversidad de indicaciones. Los ejemplos de dichas indicaciones incluyen el uso como una endoprótesis o espacio que ocupe el taponamiento para separar tejido o estructuras comprometidas por un trauma quirúrgico, y para separar y prevenir las adhesiones entre las superficies de la mucosa en la cavidad nasal. Otras indicaciones incluyen el control mediante un efecto de taponamiento, absorción de sangre o agregación plaquetaria de la hemorragia (por ejemplo, hemorragia limitada) y exudación de las superficies mucosales desbridadas después de una cirugía o traumatismo, lo que ayuda a la hemostasia; actuando como un complemento para ayudar en el proceso natural de cicatrización; actuando como un taponamiento nasal para tratar la epistaxis; y proporcionando una barrera antibacteriana o efecto antibacteriano.

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

50 Ejemplo 1

Formulaciones de pasta

Se preparó una solución de PBS 3x (pH 11-12) disolviendo los comprimidos de PBS en agua y el pH se ajustó a pH 55 11-12 utilizando NaOH 1 N. El glicerol, si se usa, se añade entonces a la solución de PBS para formar una solución de PBS/glicerol. A la solución de PBS o la solución de PBS/glicerol se le añadieron cantidades variables de ingredientes secos, concretamente, un quitosano de peso molecular de 30-400 kDa, una sal disódica de fosfato de glicerol hidrato sólida o polisacárido y se mezclaron a temperatura ambiente para formar una pasta. Después, la pasta se esterilizó con rayos gamma. Todas las formulaciones, excepto la formulación 4, formaron una pasta. La formulación 60 4 inicialmente era similar a un líquido y posteriormente se volvió pegajosa y fibrosa. La tabla 1 muestra el porcentaje de los ingredientes en el volumen total de líquido. La tabla 1 también muestra los valores de osmolalidad, viscosidad y adhesión para cada formulación después de la esterilización.

Tabla 1

Formulación	Quitosano HCl (%)	Glicerol (%)	BGlyPh (%)	Polisacárido (%)	Osmolalidad (mOsm/kg)	Viscosidad estéril (Pa.s.) a velocidad de corte 221 (1/s)	Fuerza de adhesión estéril promedio (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
4	8,5		2	dextrano (20 %)	329	6,1	19,3
5	8,5		2	hidroxietilcelulosa (2,5 %)	495	NA	Menos de 5
6	8,5		2	metilcelulosa (10 %)	557	10,5	39,5
7	8,5		2	hidroxipropilcelulosa (15 %)	177	8,2	33,1
8	13	0,6		hidroxipropilcelulosa (10 %)	1492-2048	13,8	44,4
9	13	0,6		hidroxipropilcelulosa (5 %)	2172	4,9	38,7
10	13	0,6		hidroxipropilcelulosa (1%)	2048-2067	1,6	24,3
11	17	0,6		hidroxipropilcelulosa (10 %)	2100	10,7	62,2
12	17	0,6		hidroxipropilcelulosa (5 %)	1787-1995	9,9	68,1
13	17	0,6		hidroxipropilcelulosa (1 %)	2083	3,5	35,4

Ejemplo 2

5

Se mezclaron 0,6 ml de glicerol al 10 % y 5,4 ml de una solución de PBS 3x (pH 11) según se preparó en el Ejemplo 1 en una jeringa de 10 ml. A esta solución de PBS/glicerol se le añadieron cantidades variables de fosfato de glicerol, quitosano HCl e hidroxipropilcelulosa (HPC) en forma sólida. Una vez que todos los ingredientes en la jeringa se mezclaron completamente a temperatura ambiente, la pasta resultante se esterilizó con rayos gamma o E-beam. Las

10

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 diversos ingredientes informados como un porcentaje del volumen total de líquido. Los valores de osmolalidad, viscosidad y adhesión para cada formulación se muestran a continuación en la tabla 3 y son valores después de la esterilización.

15

Tabla 2

Formulación	Quitosano HCl (%)	HPC (%)	Fosfato de glicerol (%)
14	8,5	3	1
15	13	4	2
16	10	3	1

17	10	3	1,5
18	13	2	2

Tabla 3

Formulación	Osmolalidad (mOsm/kg)	Viscosidad estéril (Pa.s.) a velocidad de corte 221 (1/s) Gamma	Viscosidad estéril (Pa.s.) a velocidad de corte 221 (1/s) E-Beam	Fuerza de adhesión estéril (gramos) Gamma	Fuerza de adhesión estéril (gramos) E-Beam
14	Menos de 1492	3	3,2	13,5	40,6
15	Superior o igual a 1492	1,7	0,4	14,5	45,5
16	525	1,8	2,3	22,8	65,0
17	Menos de 1492	1,6	1,4	17,4	67,3
18	Superior o igual a 1492	2,2	3,2	19,8	50,5

Ejemplo 3

5

Propiedades antimicrobianas

Las formulaciones 14, 15 y 16 de la tabla 2 se evaluaron para determinar su actividad antimicrobiana contra cuatro cepas bacterianas comunes (*S. aureus*, *S. epidermis*, *E. coli* y *P. aeruginosa*) usando una técnica de cribado de zona de inhibición.

Las cuatro bacterias se cultivaron en placas de agar Muller Hinton. En condiciones estériles, aproximadamente de 0,1 a 0,2 ml de cada formulación se colocaron directamente en las placas de agar. Las placas de agar se incubaron 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" representa un área alrededor de las formulaciones donde se inhibió el crecimiento bacteriano. El término "bacteriostático" representa que las bacterias crecieron hasta el límite 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 destruirlas.

20 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

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

La Formulación 16 se evaluó de acuerdo con las Directrices de la Farmacopea de Estados Unidos (USP) para realizar pruebas de eficacia antimicrobiana, capítulo <51> y validación de la recuperación microbiana, capítulo <1227>, para determinar la eficacia antibacteriana contra organismos comunes que se encuentran típicamente en las áreas de aplicación de tratamiento. Las propiedades antimicrobianas medidas se muestran a continuación en la tabla 5:

30

Tabla 5
Propiedades antimicrobianas, USP

Cepa bacteriana	ATCC N.º	Cepa gram	Reducción logarítmica antibacteriana			
			1 hora	24 horas	3 días	7 días
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9027	neg	3	4,8	5,3	> 5,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	pos	0	2,7	4	> 5,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228	pos	1,2	5,1	5	> 5,3
<i>Escherichia coli</i>	25922	neg	0	1,6	3,9	> 5,1
<i>Citrobacter freundii</i>	8090	neg	N/A	4,7	5	> 5,3
<i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	neg	N/A	2	2,3	> 5,1
<i>Klebsiella pneumonia</i>	4352	neg	N/A	4	4	> 5,2
<i>Proteus mirabilis</i>	4630	neg	N/A	2	4	> 5,3
<i>Serratia marcescens</i>	13880	neg	N/A	1,5	2,8	> 5,0
<i>Haemophilus influenzae</i>	53782	neg	N/A	> 4,9	> 4,9	> 4,9
<i>Moraxella catarrhalis</i>	8193	neg	N/A	2,9	4	> 5,0
<i>Staphylococcus aureus (MRSA)</i>	33591	pos	N/A	0,6	3,7	> 5,1
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	15305	pos	N/A	4,6	4,9	> 5,1
<i>Micrococcus luteus</i>	49732	pos	N/A	2,8	4	> 5,0
<i>Streptococcus mutans</i>	25175	pos	N/A	3,4	4,4	> 5,5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	10015	pos	N/A	2,5	3,6	> 5,0
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	296	pos	N/A	1,6	> 4,5	1,5
<i>Corynebacterium tuberculoostearicum</i>	35693	pos	N/A	1,6	> 5,1	3,9

5

Ejemplo 4**Citotoxicidad**

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

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

5

Tabla 6

Grado/puntuación	Reactividad	Condiciones de todos los cultivos
0	Ninguna	Gránulos intracitoplásmicos discretos, sin lisis celular, sin reducción del crecimiento celular.
1	Escasa	No más del 20 % de las células son redondas, sueltas y sin gránulos intracitoplasmáticos, o muestran cambios en la morfología; hay células lisadas ocasionales; sólo se observa una ligera inhibición del crecimiento.
2	Leve	No más del 50 % de las células son redondas, desprovistas de gránulos intracitoplasmáticos; no hay lisis celular extensa; no más del 50 % de inhibición de crecimiento observable.
3	Moderada	No más del 70 % de las capas celulares contienen células redondeadas o están lisadas; las capas celulares no se destruyen completamente, pero se observa más del 50 % de inhibición del crecimiento.
4	Grave	Destrucción casi completa o completa de las capas celulares.

10 A continuación, en la tabla 7, se exponen los resultados para las versiones de formulaciones 14 y 16 esterilizadas por E-beam (e) o gamma (g), representando los subíndices e o g el método de esterilización:

Tabla 7
Citotoxicidad

Muestra	Porcentaje de redondeo	Porcentaje de células sin gránulos intracitoplasmáticos	Porcentaje de lisis	Grado	Reactividad
Formulación 14 _e	0	0	0	0	Ninguna
Formulación 14 _g	0	0	0	0	Ninguna
Formulación 16 _e	10	10	10	1	Escasa
Formulación 16 _g	0	0	0	0	Ninguna
Control negativo	0	0	0	0	Ninguna
Reactivo de control	0	0	0	0	Ninguna
Control positivo	No aplicable	No aplicable	100	4	Grave

15

La Formulación 16_e mostró una ligera lisis o toxicidad celular, pero generalmente se considera no citotóxica con una puntuación de citotoxicidad de 1. Las formulaciones 16_g, 14_e y 14_g demostraron ser no tóxicas y cada una tiene una puntuación de citotoxicidad de 0.

20 Ejemplo 5

Ciliotoxicidad en conejos

Las formulaciones 14 y 16 se esterilizaron por E-beam o gamma y se evaluaron para determinar su efecto en los cilios de conejo. Se aplicó una porción de 0,6 cc de cada formulación (formulaciones 14, 16 y control (sin tratamiento, solución salina solamente)) a las antrostomías de los senos maxilares bilaterales de conejos blancos al azar de Nueva Zelanda con un solo catéter de lumen. Después del tratamiento, se realizó una irrigación diaria con 3 cc de solución salina. Al final de 7 o 10 días, los conejos fueron sacrificados, y se retiró una pieza de la pared medial de los senos maxilares y se fijó (dispositivo de Karnovsky) para microscopía electrónica de barrido (SEM).

En un análisis ciego, las muestras de tejidos se evaluaron y se puntuaron según la presencia o ausencia de cilios. Los resultados se muestran en la tabla 8.

5

Tabla 8
Ciliotoxicidad en conejos

Formulación	E-beam	Gamma
Solución salina de control	Cilios presentes	Cilios presentes
14	Cilios presentes	Cilios presentes
16	Cilios presentes	Cilios presentes

Los conejos tratados con las formulaciones mostraron la presencia de cilios similares a la solución salina de control. Estos resultados sugieren que estas formulaciones no eran tóxicas para los cilios. Además, el método de esterilización no pareció afectar la toxicidad de la formulación para los cilios, concretamente, tanto las formulaciones esterilizadas con E-beam como con gamma no eran tóxicas para los cilios.

Ejemplo 6 Ciliotoxicidad en ovejas

15 La cirugía endoscópica de los senos, incluida la turbinectomía media bilateral y la herida de espesor parcial alrededor de la célula etmoidal, se realizó en ovejas. Las ovejas se asignaron al azar y una narina se trató con 7 ml de cada formulación de ensayo (formulación 7 y 8), la otra narina sin se dejó sin tratamiento (control). Se realizaron irrigaciones salinas bilaterales diarias de 20 cc a través de la nariz. Veintiocho días después de la cirugía, se obtuvieron dos piezas de la pared medial de la cavidad nasal/sinusal de cada oveja y cada pieza se fijó para el análisis SEM (fijador de Karnovsky) o histología o evaluación de patología (formalina). En un análisis ciego, las muestras de tejidos se evaluaron y se puntuaron según la presencia o ausencia de cilios.

No se observó material de pasta en las ovejas después de 28 días. El análisis SEM mostró que los cilios estaban presentes tanto en las muestras tratadas como en las de control. La evaluación microscópica reveló una respuesta inflamatoria similar entre las muestras tratadas y de control. Estos resultados sugieren que las formulaciones son seguras para su uso *in vivo*.

Ejemplo 7

30 Sensibilización e irritación

La formulación 16 se evaluó para determinar la sensibilización utilizando un modelo de cobaya y las Directrices de la norma ISO 10993-10, Evaluación biológica de dispositivos médicos - Parte 10: Pruebas de irritación y sensibilización cutánea. La formulación recibió puntuaciones de sensibilización de 0 para todos los sitios de ensayo en un modelo de cobaya, y no mostró ninguna evidencia de una reacción tardía. La formulación también recibió un índice de irritación de 0 utilizando una evaluación microscópica del tejido de la mucosa vaginal en un modelo de conejo. La formulación no se consideraría un sensibilizador o un irritante según las Directrices de la norma ISO.

La formulación 16 también se evaluó para determinar la sensibilización utilizando un análisis de proteínas ELISA. Se encontró que la formulación contenía 5,1 ppm de alérgeno de marisco o proteína de marisco al 0,00051 %, con un límite de detección de 2 ppm.

Ejemplo 8

45 Toxicidad sistémica aguda

La formulación 16 se evaluó para determinar la toxicidad sistémica aguda utilizando un modelo de rata, una dosis por vía oral de 5 g/kg y las Directrices de la norma ISO 10993-11, Evaluación biológica de dispositivos médicos - Parte 11: Pruebas de toxicidad sistémica. Para un producto envasado para su uso en seres humanos adultos que contenía aproximadamente 12 g de la pasta divulgada, la dosis de ensayo seleccionada de 5g/kg representaría aproximadamente 29 veces la dosis de un adulto. Todos los animales sobrevivieron al estudio.

Ejemplo 9

55 Tiempo de residencia

La Formulación 16 se evaluó para determinar su tiempo de residencia y la formación de adhesiones después de la aplicación a tejidos heridos en las cavidades nasales de diez ovejas adultas. Todos los animales en el estudio toleraron bien el procedimiento y nueve mostraron una recuperación posoperatoria normal con un mínimo de eventos adversos. El tiempo de residencia observado fue de 7 a 14 días y no hubo adhesiones en ninguno de los animales durante el estudio.

REIVINDICACIONES

1. Una pasta de endoprótesis sinusal que comprende un polímero de quitosano soluble en agua o un derivado del mismo, en la que uno o más grupos hidroxilo o amina del polímero se han modificado para alterar las características de solubilidad o mucoadhesión del derivado y un agente reductor de osmolalidad disuelto en una solución que contiene fosfato para proporcionar una pasta opaca a una temperatura de 20 a 25 °C que contiene del 5 al 20 % en peso del polímero de quitosano soluble en agua o derivado del mismo, y tiene un pH de al menos 4, una viscosidad de 1 a 15 Pa.s. medida de acuerdo con ASTM F2103-11, Parte 5, una osmolalidad de 270 a 2000 mOsm/kg, y un tiempo de residencia de al menos 1 día, donde el agente reductor de osmolalidad no se reticula con el polímero de quitosano soluble en agua o derivado del mismo.
2. Un método para preparar una pasta de endoprótesis de quitosano que comprende las etapas de:
mezclar y disolver un polímero de quitosano soluble en agua o un derivado del mismo, en la que uno o más grupos hidroxilo o amina del polímero se han modificado para alterar las características de solubilidad o mucoadhesión del derivado y un agente reductor de osmolalidad en una solución que contiene fosfato para proporcionar una pasta opaca a una temperatura de 20 a 25 °C que contiene del 5 al 20 % en peso del polímero de quitosano soluble en agua o derivado del mismo, y tiene un pH de al menos 4, una viscosidad de 1 a 15 Pa.s. medida de acuerdo con ASTM F2103-11, Parte 5, una osmolalidad de 270 a 2000 mOsm/kg, y un tiempo de residencia de al menos 1 día, donde el agente reductor de osmolalidad no se reticula con el polímero de quitosano soluble en agua o derivado del mismo.
3. Una composición de pasta para su uso en la endoprótesis de tejido interno o un sitio quirúrgico interno, comprendiendo la composición un polímero de quitosano soluble en agua o un derivado del mismo, en la que uno o más grupos hidroxilo o amina del polímero se han modificado para alterar las características de solubilidad o mucoadhesión del derivado y un agente reductor de osmolalidad disuelto en una solución que contiene fosfato para proporcionar una pasta opaca a una temperatura de 20 a 25 °C que contiene del 5 al 20 % en peso del polímero de quitosano soluble en agua o derivado del mismo, y tiene un pH de al menos 4, una viscosidad de 1 a 15 Pa.s. medida de acuerdo con ASTM F2103-11, Parte 5, una osmolalidad de 270 a 2000 mOsm/kg, y un tiempo de residencia de al menos 1 día, donde el agente reductor de osmolalidad no se reticula con el polímero de quitosano soluble en agua o derivado del mismo.
4. Una pasta, método o composición de pasta de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde el polímero de quitosano soluble en agua es de una sal de cloruro, citrato, nitrato, lactato, fosfato o glutamato.
5. Una pasta, método o composición de pasta de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde el polímero de quitosano soluble en agua o derivado del mismo es del 12 % en peso al 18 % en peso del peso total de la pasta.
6. Una pasta, método o composición de pasta de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde el polímero de quitosano soluble en agua o derivado del mismo tiene un peso molecular promedio en número de 5 a 2000 kDa.
7. Una pasta, método o composición de pasta de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde el agente reductor de osmolalidad comprende una celulosa con funcionalidad hidroxilo o modificada con alquilo seleccionada de metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxibutilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa, y mezclas de las mismas.
8. La pasta, método o composición de pasta de acuerdo con la reivindicación 7, donde la celulosa con funcionalidad hidroxilo o modificada con alquilo es hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa o hidroxietilcelulosa.
9. Una pasta, método o composición de pasta de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde el agente reductor de osmolalidad es del 1 al 20 % en peso del peso total de la pasta.
10. Una pasta, método o composición de pasta de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde la solución que contiene fosfato es una solución salina tamponada con fosfato que tiene un pH de 9 a 12.
11. Una pasta, método o composición de pasta de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde la pasta está en un envase esterilizado y envasada en una forma lista para usar, estable al almacenamiento, inyectable o extruible, que no requiere ninguna o una mínima mezcla, agitación, hidratación u otra preparación.
12. Una pasta, método o composición de pasta de acuerdo con cualquier reivindicación anterior que tiene una resistencia adhesiva de entre 5 gramos y 80 gramos (0,05 N a 0,78 N) de fuerza requerida cuando se usa una

máquina de prueba de tracción operada a una velocidad de separación de 1 mm/s para separar dos hemisferios de caucho recubiertos de colágeno que se han comprimido uno contra el otro, con una muestra de la pasta entre ellos, utilizando una fuerza de compresión de 4,4 Newton.

- 5 13. Una pasta, método o composición de pasta de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde la pasta no es citotóxica con una puntuación de citotoxicidad de 1 o menos, según se mide por la norma ISO 10993-5.
14. Una pasta, método o composición de pasta de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde la solución que contiene fosfato comprende un fosfato de glicerol.
- 10 15. Una pasta, método o composición de pasta de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde la pasta comprende además un lubricante o agente humectante y el lubricante o agente humectante es del 1 al 10% en peso del peso total de la pasta.

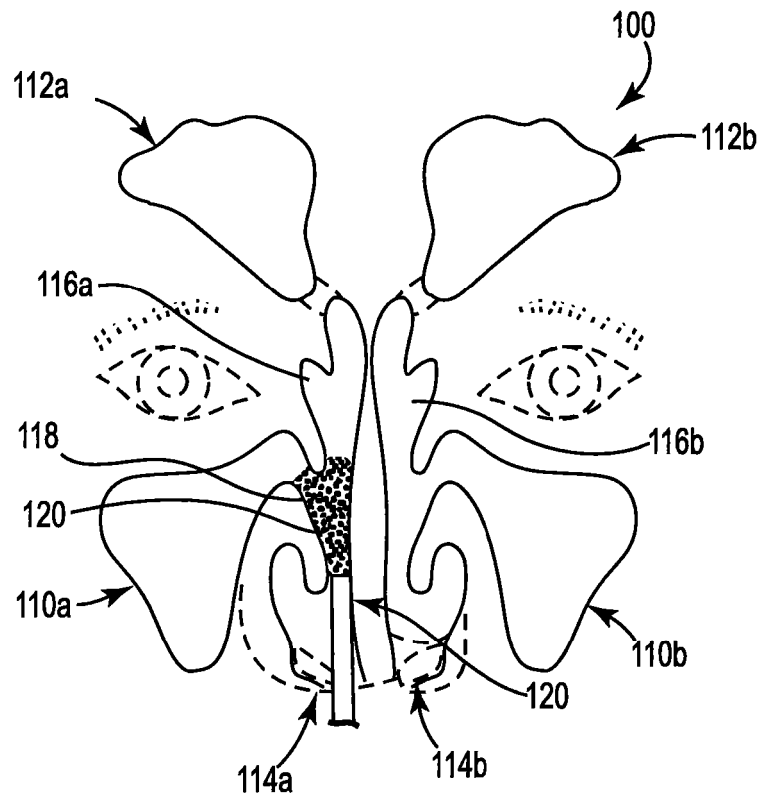


Fig. 1

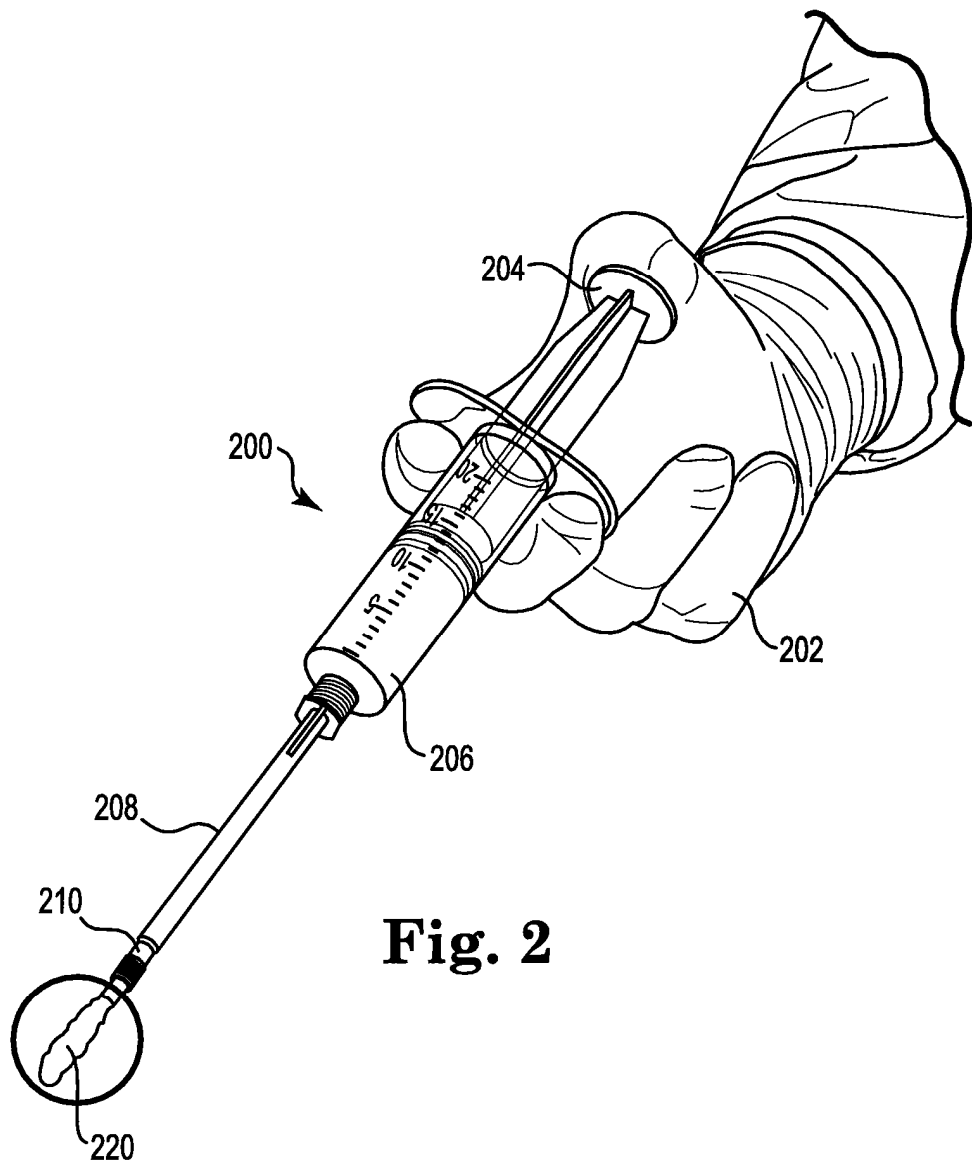


Fig. 2

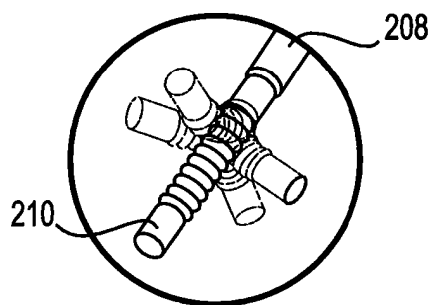


Fig. 3