

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 980 898**

51 Int. Cl.:

A61L 15/16 (2006.01)

A61L 26/00 (2006.01)

A61L 15/28 (2006.01)

A61L 15/44 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.09.2010** **E 21207189 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2024** **EP 4005606**

54 Título: **Composición de estimulación del crecimiento de células epiteliales**

30 Prioridad:

01.09.2009 WO PCT/EP2009/006323

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

03.10.2024

73 Titular/es:

MEDODERM GMBH (100.0%)
Robert-Koch-Str. 50 D
55129 Mainz, DE

72 Inventor/es:

MONTENEGRO, RIVELINO;
FREIER, THOMAS y
HENCO, KARSTEN

74 Agente/Representante:

ILLESCAS TABOADA, Manuel

ES 2 980 898 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

Composición de estimulación del crecimiento de células epiteliales

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a un quitosano o una composición farmacéutica que comprende un quitosano para un tratamiento de estimulación del crecimiento de células epiteliales de un tejido de un paciente.

10 **Antecedentes de la invención**

El polisacárido quitosano es el derivado de quitina al menos parcialmente N-desacetilado. La quitina puede hallarse ampliamente en los exoesqueletos de artrópodos, geles, crustáceos y cutículas de insectos. Normalmente se deriva de tales fuentes naturales. El quitosano en general se prepara de manera sintética mediante hidrólisis de quitina, aunque también puede derivarse de manera natural directamente, por ejemplo, de determinados hongos en los que se produce. Las diferentes solubilidades de la quitina y el quitosano en ácidos diluidos se usan habitualmente para distinguir entre los dos polisacáridos. El quitosano, la forma soluble, puede tener un grado de acetilación (DA, *degree of acetylation*) de entre el 0 % y aproximadamente el 60 %, dependiendo el límite superior de parámetros tales como condiciones de procesamiento, peso molecular y características del disolvente. Mientras es soluble en medios acuosos ácidos, el quitosano precipita a un pH superior a 6,3.

Tanto la quitina como el quitosano son polímeros prometedores para aplicaciones biomédicas debido a su biocompatibilidad, biodegradabilidad y similitud estructural con los glicosaminoglicanos. Para revisiones exhaustivas de las aplicaciones potenciales de la quitina y el quitosano véanse, por ejemplo, Shigemasa y Minami, "Applications of chitin and chitosan for biomaterials", Biotech. Genetic. Eng. 1996, 13, 383; Kumar, "A review of chitin and chitosan applications", React. Funct. Polym. 2000, 46(1), 1; y Singh y Ray, "Biomedical applications of chitin, chitosan and their derivatives", J. Macromol. Sci. 2000, C40(1), 69.

La solicitud de patente WO 2009/028965 A1 da a conocer el uso de quitosano para mejorar la cicatrización de heridas.

Problema a resolver por la invención

Es un objeto de la invención proporcionar un nuevo uso médico de un quitosano. La invención tiene como objetivo además proporcionar una composición farmacéutica mejorada que comprende quitosano para un uso médico, en el que el uso médico es un método para estimular el crecimiento de células epiteliales. Otro objeto de la invención es proporcionar un material de apósito para tejidos mejorado.

Solución según la invención

Según la invención, el problema se resuelve proporcionando un quitosano con un grado de acetilación de menos del 2,5 % para su uso en un tratamiento de estimulación del crecimiento de células epiteliales de un tejido humano, en el que el tejido comprende cortes, abrasiones, quemaduras, irritación por el afeitado, heridas provocadas por virus, picaduras de insectos, tejidos afectados por acné, tejido en el área genital, tejido mucoso y tejido en cavidades u orificios corporales.

El problema se resuelve aprovechando las propiedades de estimulación del crecimiento de células epiteliales del quitosano. Las células epiteliales son preferiblemente células epiteliales humanas. Las células epiteliales son preferiblemente queratinocitos.

El problema también se resuelve proporcionando un material de apósito para tejidos que consiste en quitosano y proporcionando un material de apósito para tejidos que es una composición que comprende quitosano.

En particular, el material de apósito para tejidos según la invención puede mantenerse estéril según los requisitos higiénicos pertinentes sin la adición de sustancias antimicrobianas o antibióticas adicionales al material de apósito para tejidos.

El material de apósito para tejidos se usa para el vendaje de heridas, en un tratamiento de estimulación de células epiteliales según la invención.

Realizaciones preferidas de la invención

Se analizan características preferidas de la invención que pueden aplicarse solas o en combinación en las reivindicaciones dependientes y en la siguiente descripción.

El quitosano o la composición que contiene quitosano se aplica al paciente *in vivo*.

El quitosano o la composición farmacéutica según la invención pueden actuar como barrera para proteger el tejido tratado frente a una infección microbiana del interior y el exterior.

- 5 Las indicaciones preferidas incluyen infecciones nosocomiales. Las indicaciones preferidas incluyen infecciones con cepas bacterianas resistentes a múltiples fármacos. La infección es preferiblemente al menos una de las siguientes o una combinación de las mismas: infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), infección por *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina (SARO), infección por *Clostridium difficile* resistente a múltiples fármacos, infección por *Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilina, infección por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos, infección por *Acinetobacter baumannii* resistente a múltiples fármacos, infección por *Enterococcus* resistente a vancomicina. Las bacterias adecuadas incluyen bacterias gram-positivas, bacterias gram-negativas y bacterias formadoras de esporas. Las bacterias adecuadas incluyen, por ejemplo, *Staphylococcus aureus*, *Streptococci* (grupo A), *Streptococcus pyogenes*, *Borellia burgdorferi*, *Bacillus anthracis*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*, *Corynebacterium minutissimum*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *Klebsiella*), *Haemophilus influenzae*, *Pasteurella multocida*, *Francisella tularensis*, *Pseudomonas aeruginosa*. Sin embargo, el tratamiento antimicrobiano también puede ser un tratamiento antifúngico, por ejemplo, contra hongos implicados en la enfermedad de pie de atleta, tales como dermatofitos o un tratamiento contra los mismos. Los hongos y las levaduras adecuados incluyen, por ejemplo, *Aspergillus niger*, *Mucor* (*Mucor pusillus*, *Mucor plumbeus*, *Mucor racemosus*, *Mucor hiemalis*), *Sporothrix*, *Histoplasma*, *Coccidioides*, *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*, *Keratomyces*, *Cryptococcus*, *Candida albicans*, *Candida dubliensis*, *Malassezia furfur*. De manera similar, ventajosamente, el material de apósito para tejidos según la invención debido a la presencia de quitosano puede mantenerse esencialmente libre de los microbios citados anteriormente sin la adición de otras sustancias antimicrobianas o antibióticas al material de apósito para tejidos.
- 25 El tratamiento es preferiblemente un tratamiento confinado localmente. "Confinado localmente" en el contexto de la presente invención significa que la actividad del quitosano o la composición que contiene quitosano está limitada esencialmente a este tejido al que se aplica y a tejido adyacente al tejido al que se aplica. Preferiblemente, el tejido adyacente, donde el quitosano o la composición que contiene quitosano también es activo, se extiende a no más de 10 mm (milímetros), más preferiblemente a no más de 5 mm del tejido al que se aplica el quitosano o la composición que contiene quitosano. Tal actividad en tejido adyacente puede ser, por ejemplo, el resultado del transporte (por ejemplo, por difusión, fuerzas capilares, transporte osmótico, cavitación) de constituyentes activos del quitosano o la composición que contiene quitosano desde el sitio de aplicación al tejido adyacente después de la aplicación. Con el tratamiento confinado localmente, puede aprovecharse que el sitio donde se aplica el quitosano o la composición que contiene quitosano y, por tanto, tiene lugar la actividad, puede controlarse bien para lograr esencialmente sólo una actividad local. Ventajosamente, puede evitarse una actividad sistémica, es decir, una actividad médica en regiones del cuerpo del paciente donde tal actividad no se requiere y/o no es deseable. La invención puede reducir así los efectos secundarios y contribuir a la recuperación rápida del paciente.
- 40 El tratamiento confinado localmente preferido es un uso externo del quitosano o la composición que contiene quitosano. Sin embargo, también es posible un tratamiento interno: el quitosano o la composición que contiene quitosano puede inyectarse, por ejemplo, en un área bien definida del cuerpo del paciente, inhalarse o tragarse. Preferiblemente, el quitosano o la composición que contiene quitosano se aplica en contacto con el tejido que va a tratarse o en contacto con el tejido que rodea el tejido que va a tratarse.
- 45 En una realización preferida de la invención, el tratamiento es un tratamiento confinado de manera tópica. "Confinado de manera tópica" en el contexto de la presente invención se refiere a un tratamiento "confinado localmente", en el que la aplicación tiene lugar sobre una superficie del tejido del paciente, por ejemplo, una parte de la piel del paciente. Con esta realización de la invención puede lograrse ventajosamente que la actividad del quitosano o la composición que contiene quitosano pueda limitarse a tal superficie (por ejemplo, la piel) y un área inmediatamente debajo de la superficie, preferiblemente de menos de 10 mm, más preferiblemente de menos de 5 mm debajo de la superficie. Las superficies preferidas incluyen superficies biológicas sanas, superficies infectadas y heridas. Las superficies pueden ser accesibles de manera tópica, por ejemplo, mediante aplicación directa, tal como mediante gotitas, aclarado, pulverización o inhalación de aerosol. Las superficies pueden incluir, entre otras, superficies externas, superficies generadas quirúrgicamente, y superficies de las cavidades nasal, laríngea y pulmonar, incluyendo los alveolos.

El tratamiento según la invención puede ser para la prevención duradera y/o el tratamiento de corta duración.

- 60 Preferiblemente, el quitosano o el componente de quitosano de la composición que contiene quitosano presenta una actividad farmacéutica específica para la infección microbiana que va a tratarse si el quitosano o el componente de quitosano tiene una concentración mayor del 1 %, más preferiblemente mayor del 0,1 %, más preferiblemente mayor del 0,01 % en peso por volumen en el sitio de acción, por ejemplo, el tejido que va a tratarse. Por otro lado, el quitosano o el componente de quitosano de la composición que contiene quitosano preferiblemente no presenta ninguna actividad farmacéutica específica para la infección microbiana que va a tratarse si el quitosano o el componente de quitosano tiene una concentración menor del 0,001 % en peso por volumen, más preferiblemente menor del 0,01 %, más preferiblemente menor del 0,1 %. De ese modo, puede lograrse que la actividad

farmacéutica esté confinada localmente a un sitio de acción tal como un tejido que va a tratarse en el que se mantiene una concentración suficientemente alta del quitosano o componente de quitosano.

Preferiblemente, el quitosano o el componente de quitosano de la composición farmacéutica que contiene quitosano presenta una actividad farmacéutica específica para la infección microbiana que va a tratarse si el quitosano o el componente de quitosano tiene una concentración mayor de 100 $\mu\text{mol/l}$ (micromol por litro), más preferiblemente mayor de 10 $\mu\text{mol/l}$, más preferiblemente mayor de 1 $\mu\text{mol/l}$ en el sitio de acción, por ejemplo, el tejido que va a tratarse. Por otro lado, el quitosano o el componente de quitosano de la composición farmacéutica que contiene quitosano preferiblemente no presenta ninguna actividad farmacéutica específica para la infección microbiana que va a tratarse si el quitosano o el componente de quitosano tiene una concentración menor de 0,1 $\mu\text{mol/l}$, más preferiblemente menor de 1 $\mu\text{mol/l}$, más preferiblemente menor de 10 $\mu\text{mol/l}$.

El quitosano o la composición que contiene quitosano según la invención se aplica preferiblemente a la superficie del tejido que va a tratarse. El tejido que va a tratarse preferiblemente en una dimensión (normalmente, la dimensión de profundidad) es menor de 10 mm, más preferiblemente menor de 5 mm de grosor. En esta realización, se aprovecha que el quitosano o la composición que contiene quitosano según la invención puede aplicarse a una superficie de tal tejido y puede lograrse una concentración suficiente del quitosano o componente de quitosano en el tejido, preferiblemente por difusión, para presentar una actividad.

Los tejidos tratados preferiblemente incluyen heridas crónicas, heridas posquirúrgicas, cortes, abrasiones, quemaduras, irritación por el afeitado, escara de decúbito, tejido ulceroso, heridas provocadas por virus que tienden a volverse ulcerosas, tejido afectado por dermatosis, por ejemplo enfermedad de pie de atleta, pie diabético y psoriasis, picaduras de insectos, tejidos afectados por acné, en particular acné vulgar, tejido afectado por lupus eritematoso, en particular eritema vespertino, tejido mucoso, tejido tumoral, amígdalas, tejido en el área genital y tejido en cavidades u orificios corporales. La invención también puede ser de utilidad cuando se realiza cirugía en un paciente. Cuando se trata el tejido de la herida, el quitosano o la composición que contiene quitosano puede aplicarse en o sobre la herida.

El quitosano preferido es un quitosano nativo. El término "quitosano nativo", en el contexto de la presente invención, se refiere a la entidad química definida quitosano, que es un copolímero de poli(N-acetil-D-glucosamina-co-D-glucosamina) o un homopolímero de poli(D-glucosamina). Cualquier quitosano reticulado o modificado químicamente de otro modo se considera un derivado de quitosano, que tiene propiedades diferentes al quitosano nativo. En el contexto de la presente invención, el término "quitosano nativo" incluye tanto la base de quitosano como el quitosano en forma de una sal de quitosano, disuelta o no disuelta. Cuando en el contexto de la presente invención se hace referencia a "quitosano" en general, éste puede ser cualquier forma, sal o base, de quitosano nativo o cualquier derivado de un copolímero de poli(N-acetil-D-glucosamina-co-D-glucosamina) o un homopolímero de poli(D-glucosamina), reticulado y/o modificado de otro modo.

El grado de acetilación (DA) del quitosano es de menos del 2,5 %. Un DA tan bajo puede contribuir a la actividad antimicrobiana del quitosano. En un quitosano o composición que contiene quitosano preferido según la invención, el DA del quitosano desacetilado o del quitosano nativo desacetilado es del 2 % o menos, preferiblemente del 1,5 % o menos, más preferiblemente del 1 % o menos, más preferiblemente del 0,5 % o menos. Ventajosamente, los grados de acetilación tan extremadamente bajos pueden mejorar adicionalmente las propiedades antimicrobianas de la invención. Además, la biodegradación por lisozimas del quitosano o su disolución puede limitarse o impedirse.

El DA puede obtenerse por medio de espectroscopía de ^1H -RMN tal como se da a conocer, por ejemplo, en Lavertu *et al.*, "A validated ^1H NMR method for the determination of the degree of desacetylation of chitosan", J. Pharm. Biomed. Anal. 2003, 32, 1149. "Quitosano nativo desacetilado" en el contexto de la presente invención se refiere a quitosano que es tanto nativo como desacetilado según las definiciones anteriores.

El quitosano preferido puede prepararse mediante un método que implica al menos dos etapas de desacetilación. Se separan las dos etapas de desacetilación (y, por tanto, se distinguen de una única etapa de desacetilación) al menos por una etapa de lavado en la que se retiran al menos parcialmente subproductos de la desacetilación, tales como acetato. Preferiblemente, al menos una, más preferiblemente todas las etapas de desacetilación son etapas de hidrólisis. Una etapa de hidrólisis puede implicar mezclar el quitosano con una disolución de un hidróxido tal como hidróxido de sodio. Preferiblemente, durante una etapa de hidrólisis, el quitosano se expone a una temperatura mayor que la temperatura ambiente, por ejemplo, 100 °C. Preferiblemente, al final de cada etapa de desacetilación, se lava el quitosano, por ejemplo, en agua. Además, al menos al final de la última etapa de desacetilación, preferiblemente al final de cada etapa de desacetilación, se seca el quitosano.

En determinadas realizaciones de la invención, entre dos etapas de desacetilación se realiza una etapa de acetilación. Una etapa de acetilación preferida puede implicar mezclar el quitosano o la disolución ácida de quitosano con un disolvente orgánico, seguido por tratamiento con un anhídrido carboxílico a temperatura ambiente. Preferiblemente, al final de la etapa de acetilación, se lava y se seca el quitosano acetilado.

Preferiblemente, el quitosano está presente en dos fracciones en cuanto a su solubilidad a un determinado pH en el sentido de que a este pH una fracción de quitosano es insoluble mientras que la otra es soluble. De ese modo, puede lograrse ventajosamente que, a este pH, la fracción insoluble pueda adoptar una forma sólida o similar a un gel, preferiblemente la de un hidrogel y, por tanto, pueda actuar como un depósito o matriz que contenga la fracción soluble, fracción soluble que puede difundir desde el depósito o matriz al tejido diana o a la sangre del paciente.

Preferiblemente, una fracción de más del 10 % del quitosano está presente en una forma que es insoluble al menos a un pH de 6,5, más preferiblemente al menos a cualquier pH entre 6,5 y 8,5. Más preferiblemente, la fracción comprende más del 20 %, más preferiblemente más del 50 % del quitosano. Más preferiblemente, la fracción también es insoluble a un pH de 6,3, más preferiblemente al menos a cualquier pH entre 6,3 y 8,5. En esta realización de la invención, ventajosamente, el quitosano o la composición que contiene quitosano puede adoptar la forma de un sólido o un gel, preferiblemente un hidrogel.

Preferiblemente, una fracción de más del 0,1 % del quitosano está presente en una forma que es soluble a un pH de 6,5. Más preferiblemente, la fracción comprende más del 1 %, más preferiblemente más del 5 %, más preferiblemente más del 10 % del quitosano. Más preferiblemente, la fracción también es soluble a un pH de 7,0, más preferiblemente también a un pH de 7,5. Con esta realización de la invención, puede lograrse ventajosamente que dicha fracción del quitosano pueda difundir fácilmente en el tejido que va a tratarse.

Los términos “soluble” y “disolver” en el contexto con quitosano pretenden referirse a un proceso de pérdida de masa de quitosano sin disminución del peso molecular (es decir, sin disminución de la longitud de la cadena polimérica) debido a la solubilidad en un entorno acuoso. Esto debe distinguirse de “degradación”, que es el proceso de disminución del peso molecular debido a la despolimerización del quitosano.

Normalmente, el pH al que es soluble un determinado quitosano depende de su longitud de cadena y, por tanto, de su peso molecular. Además, normalmente, el quitosano o el componente de quitosano de la composición según la invención contiene una distribución de pesos moleculares. Preferiblemente, una fracción de más del 10 % del quitosano tiene un peso molecular de 10 kD (kilodalton) o más. Más preferiblemente, la fracción comprende más del 20 %, más preferiblemente más del 50 % del quitosano.

Preferiblemente, una fracción de más del 0,1 % del quitosano tiene un peso molecular menor de 10 kD. Más preferiblemente, la fracción comprende más del 1 %, más preferiblemente más del 5 %, más preferiblemente más del 10 % del quitosano. Más preferiblemente, el peso molecular promedio de esta fracción es mayor de 1 kD.

Preferiblemente, el quitosano forma parte de una composición que comprende otros componentes además del quitosano. Sin embargo, el quitosano es preferiblemente el componente principal de la composición. En el contexto de la presente invención, la expresión “componente principal” con respecto al quitosano o un tipo de quitosano (tal como quitosano en general, quitosano desacetilado, quitosano nativo o quitosano nativo desacetilado) significa que el tipo respectivo de quitosano constituye al menos el 50 % en peso de la composición. Por tanto, si, por ejemplo, el quitosano o el material de composición que contiene quitosano se proporciona como una película sólida o similar a un gel para aplicarse al tejido, se requiere que esta película se componga del tipo respectivo de quitosano en al menos el 50 % en peso. En el caso de la composición líquida que contiene quitosano, la expresión “componente principal” con respecto al/a los constituyente(s) distinto(s) del agua en la mezcla acuosa significa que al menos el 50 % en peso de la combinación de todos los constituyentes distintos de agua debe ser el tipo respectivo de quitosano.

La composición preferida está libre de alcohol. Esto tiene la ventaja de que la composición es menos irritante para el tejido al que se aplica. Más preferiblemente, la composición está libre de alcohol o cualquier otro solubilizante o estabilizante orgánico. Más preferiblemente, la composición que contiene quitosano está libre de disolventes orgánicos en general, incluyendo, además de alcoholes, ésteres, alcanos, disolventes halogenados, aminas y amidas. Sin embargo, puede contener frecuentemente un ácido orgánico; los ácidos orgánicos no se consideran disolventes orgánicos en el contexto de la presente invención. Preferiblemente, el material de la composición no comprende ningún conservante adicional. Preferiblemente está libre de agentes asépticos, antioxidantes y tensioactivos, reduciéndose de ese modo el riesgo de reacciones tóxicas o alérgicas.

En algunas realizaciones, la composición que contiene quitosano comprende al menos un constituyente farmacéuticamente activo y/o bioactivo distinto del quitosano. Los constituyentes bioactivos adecuados pueden ser, por ejemplo, proteínas, péptidos o derivados de los mismos, ácidos nucleicos o derivados de los mismos, compuestos de bajo peso molecular activos como fármacos, tales como antibióticos o fármacos antiinflamatorios, o agonistas o antagonistas del sistema inmunitario innato, o factores de crecimiento de estimulación o diferenciación para estimular o diferenciar el crecimiento de al menos un subtipo de células, o resinas con afinidad por determinados componentes que van a extraerse de una superficie de herida, o compuestos o polímeros disueltos o dispersos con funciones decorativas tales como partículas que absorben luz, fluorescentes o fosforescentes o que reflejan la luz. Alternativamente, o además, la composición que contiene quitosano puede comprender células biológicas.

En una realización preferida de la invención, la composición que contiene quitosano comprende un colorante sensible al pH para indicar visualmente el pH en el sitio de aplicación. El pH puede usarse como un representante para indicar la condición del tejido en el sitio de aplicación. En una realización preferida de la invención, la composición es transparente, en particular si está en forma sólida, similar a un gel o solidificada tal como se explica con más detalle a continuación. Ventajosamente, en aplicaciones externas de la composición, esto puede facilitar a un médico inspeccionar el tejido tratado, en particular si es un tejido de herida. En algunas realizaciones, el quitosano o la composición que contiene quitosano es una película sólida transparente. En otras, la composición es una mezcla tal como una dispersión, una suspensión o una disolución que forma una película transparente cuando se aplica al tejido. Además, en el caso de que la composición comprenda un colorante sensible al pH, el color del colorante puede evaluarse debido a la transparencia de la composición que contiene quitosano.

Una composición preferida es un líquido. En general, después de la aplicación, al menos una fracción de la composición líquida se solidificará, es decir, la composición se convertirá en un sólido o un gel, por ejemplo, un hidrogel. En algunas realizaciones de la invención, la eliminación, preferiblemente evaporación, del disolvente que estaba presente en la composición líquida cuando se aplicó provoca o al menos contribuye a la solidificación. Adicional o alternativamente, la solidificación puede estar provocada o contribuyen a la misma otros factores tales como la reticulación química o física de los componentes poliméricos de la composición.

Es ventajoso de la invención que, después de la aplicación de la composición, la concentración del quitosano pueda aumentar debido a la eliminación, preferiblemente por evaporación, de otros componentes, en particular de un disolvente. Dicha eliminación se produce preferiblemente de forma espontánea, es decir, sin requerir que se tomen medidas adicionales para iniciar el proceso de concentración, tal como la aplicación de productos químicos o calor adicionales. Dicho de otro modo: el material es autoconcentrante. Preferiblemente, para fomentar el proceso de autoconcentración, se elige un material de quitosano o la composición que contiene quitosano que no sea higroscópico cuando se aplica.

Preferiblemente, la composición que contiene quitosano es una mezcla acuosa, por ejemplo, una dispersión o una suspensión, más preferiblemente una disolución, es decir, comprende agua como medio de mezcla o disolvente, respectivamente. Además, en algunas realizaciones de la invención puede comprender un codisolvente, por ejemplo un alcohol tal como isopropanol. Esto puede tener la ventaja de una evaporación más rápida del disolvente si se requiere una solidificación rápida de (una fracción) de la composición. Otras realizaciones, tal como se analizó anteriormente, están libres de alcohol, preferiblemente libres de disolventes orgánicos en general, para evitar la irritación tisular.

El soluto o más generalmente el/los constituyente(s) de la composición que queda(n) una vez que el medio de mezcla se elimina tras la solidificación de la composición comprende preferiblemente, consiste más preferiblemente en una sal de quitosano tal como la sal de quitosano nativo o la sal de un derivado de quitosano. Son sales preferidas las derivadas de la disolución de un quitosano tal como quitosano nativo, en un ácido inorgánico, tal como ácido clorhídrico, o un ácido orgánico seleccionado del grupo de ácidos orgánicos monobásicos o multibásicos que tienen de 2 a 12 átomos de carbono y un primer valor de pKa entre 1 y 5, tales como ácido acético, ácido cítrico, ácido láctico, ácido málico, ácido succínico, ácido mandélico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido ascórbico, etc.

Preferiblemente, el quitosano, más preferiblemente quitosano nativo, es el componente principal distinto de agua de la composición líquida. Preferiblemente, al menos el 70 % en peso del/de los constituyente(s) de la mezcla distinto(s) de agua es quitosano, preferiblemente quitosano nativo. Una mezcla particularmente preferida sólo consiste esencialmente en quitosano, preferiblemente quitosano nativo y agua. La mezcla preferida es ácida.

La concentración del quitosano en la composición líquida es preferiblemente de menos del 15 %, más preferiblemente de menos del 10 %, más preferiblemente de menos del 7,5 %, más preferiblemente de menos del 5 %, más preferiblemente de menos del 2,5 %, más preferiblemente de menos del 1 % en peso. La concentración del quitosano en la composición líquida es preferiblemente mayor del 0,1 %, más preferiblemente mayor del 0,25 %, más preferiblemente mayor del 0,5 %, más preferiblemente mayor del 1 % en peso.

Para la aplicación, la composición líquida que contiene quitosano se pulveriza preferiblemente sobre el tejido y se permite que se evapore el medio de mezcla o disolvente posteriormente para formar una película sólida o similar a un gel. Normalmente, la película tiene un grosor de entre 0,1 y 50 μm , preferiblemente entre 1 y 25 μm . Tiene un área superficial suficiente como para cubrir el tejido que va a tratarse, tal como una herida, y, preferiblemente, también parte del tejido circundante. Por consiguiente, la composición que contiene quitosano se proporciona preferiblemente en o en combinación con un aparato de pulverización para pulverizar la composición que contiene quitosano sobre el tejido del paciente. El aparato de pulverización preferido comprende un recipiente para almacenar la composición que contiene quitosano. También puede comprender gas a presión para expulsar la composición que contiene quitosano. La composición puede proporcionarse en dos o más componentes líquidos que se mezclan poco antes o durante la aplicación de la composición que contiene quitosano al tejido. En este caso, el dispositivo de pulverización puede comprender varios recipientes y/o pueden proporcionarse varios dispositivos de pulverización, que contienen, respectivamente, uno de los componentes líquidos. Alternativamente, la composición líquida que contiene quitosano puede cepillarse sobre el tejido o aplicarse por medio de una esponja, una espátula, una pipeta o

una gasa. Por consiguiente, la composición se proporciona preferiblemente en combinación con una esponja, un cepillo, una espátula, una pipeta o gasa para aplicar la composición que contiene quitosano o al menos un constituyente de la composición que contiene quitosano a un tejido.

5 Alternativamente, el quitosano o la composición según la invención se proporciona en una forma sólida o similar a un gel, por ejemplo, como un hidrogel. Preferiblemente, el quitosano o la composición tiene la forma de una película. Una película es particularmente ventajosa para el tratamiento de un área extendida de un tejido, por ejemplo, la piel. Preferiblemente, la película tiene un área superficial suficiente como para cubrir el tejido que va a tratarse, tal como una herida, y preferiblemente también parte del tejido circundante. La película preferida tiene una superficie lisa,
10 preferiblemente con una rugosidad promedio R_a de $1\text{ }\mu\text{m}$ (micrómetro) o menos, más preferiblemente $0,3\text{ }\mu\text{m}$ o menos, más preferiblemente $0,1\text{ }\mu\text{m}$ o menos. Ventajosamente, una superficie lisa puede reducir la formación de anclaje mecánico al tejido al que se aplica, facilitando de ese modo la retirada del quitosano o la composición después del uso. La película preferida tiene menos de 10 mm de grosor, más preferiblemente menos de 1 mm. Normalmente, la película cuando está seca tiene un grosor de entre $0,5$ y $500\text{ }\mu\text{m}$, preferiblemente entre 5 y $100\text{ }\mu\text{m}$,
15 más preferiblemente entre 10 y $50\text{ }\mu\text{m}$, más preferiblemente entre 20 y $30\text{ }\mu\text{m}$. Alternativamente, el quitosano o la composición que contiene quitosano sólido o en forma de gel puede tener la forma de una fibra o un tubo. Una fibra o tubo típico tiene un grosor de entre $10\text{ }\mu\text{m}$ y 10 mm (milímetros) y una longitud de entre 1 mm y 100 cm (centímetros).

20 Preferiblemente, al menos el 70 %, más preferiblemente al menos el 90 %, más preferiblemente al menos el 95 % en peso de la composición sólida o similar a un gel es quitosano, preferiblemente quitosano nativo.

El quitosano o la composición que comprende quitosano sólido o similar a un gel preferido es al menos parcialmente soluble en agua. Dicho de otro modo, en el momento en que se proporciona para aplicarse al tejido del paciente,
25 puede disolverse al menos parcialmente en agua a pH neutro. El quitosano puede ser, por ejemplo, una sal de quitosano, por ejemplo, la sal de quitosano nativo o un derivado de quitosano. Una ventaja que puede lograrse de esta realización de la invención es que el quitosano o la composición que contiene quitosano se adhiere bien al tejido. De ese modo, puede evitarse que el quitosano o la composición que contiene quitosano se desprenda prematuramente del tejido. Esta realización de la invención aprovecha ventajosamente el hecho de que la sal de
30 quitosano es soluble en un disolvente acuoso de pH neutro. Por tanto, el tejido húmedo o prehumedecido puede licuar la superficie del quitosano o la composición que contiene quitosano, proporcionando un contacto duradero con el tejido. Son sales preferidas las derivadas de la disolución de un quitosano tal como quitosano nativo, en un ácido inorgánico, tal como ácido clorhídrico, o un ácido orgánico seleccionado del grupo de ácidos orgánicos monobásicos o multibásicos que tienen de 2 a 12 átomos de carbono y un primer valor de pKa entre 1 y 5, tales como ácido
35 acético, ácido cítrico, ácido láctico, ácido málico, ácido succínico, ácido mandélico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido ascórbico, etc. En una realización alternativa de la invención, el quitosano está presente en forma de la base de quitosano.

Preferiblemente, una sal de quitosano, más preferiblemente una sal de quitosano nativo, constituye el componente principal de la composición que contiene quitosano sólido o similar a un gel. Más preferiblemente, al menos el 70 %, más preferiblemente al menos el 90 %, más preferiblemente al menos el 95 % en peso de la composición que
40 contiene quitosano sólido o similar a un gel es una sal de quitosano, preferiblemente una sal de quitosano nativo.

Después de aplicar la composición líquida que contiene quitosano o el quitosano o la composición que contiene quitosano sólido o similar a gel soluble en agua, y en el caso de una composición líquida durante o después de la solidificación, preferiblemente se permite que se transforme en una forma insoluble en agua, por ejemplo, una base de quitosano. Esta transformación puede producirse, por ejemplo, debido a la evaporación de un constituyente de la composición que contiene quitosano al contacto con el aire. También puede ser el resultado de una interacción del quitosano con un líquido corporal y/o el propio tejido; por ejemplo, el pH relativamente alto de la sangre y/o la unión de proteínas presentes en la sangre al quitosano pueden inducir la transformación. Alternativa o adicionalmente, la transformación puede lograrse aplicando un medio de transformación, por ejemplo, una disolución alcalina acuosa, al quitosano o a la composición que contiene quitosano. Ventajosamente, puede lograrse que, después de la transformación, el quitosano o la composición que contiene quitosano permanezca en su lugar y, por tanto, farmacéuticamente activo en condiciones normales, por ejemplo, cuando el tejido se limpia con agua del grifo (pH neutro) o cuando se aplica jabón (alcalino). El quitosano o la composición que comprende quitosano puede proporcionarse en combinación con el medio de transformación como un kit.
55

En una realización preferida de la invención, el quitosano o la composición que contiene quitosano presenta un valor de pH por debajo de 8,5, preferiblemente por debajo de 8, de manera particularmente preferible de aproximadamente 7 a 7,5. El pH preferido es superior a 6,3, más preferiblemente superior a 6,5. Una ventaja que puede lograrse de esta realización de la invención es que una fracción del quitosano puede ser soluble y la otra insoluble, actuando como un depósito o matriz para la fracción soluble. También ventajosamente, el pH es próximo al del tejido sano, evitando de ese modo la irritación o el daño del tejido al que se aplica la composición que contiene quitosano.
60

65

En otra realización preferida de la invención, el quitosano o la composición que contiene quitosano presenta un valor de pH por debajo de 6,3, preferiblemente por debajo de 6, de manera particularmente preferible de aproximadamente 5 a 5,5. El pH preferido es superior a 3,0, más preferiblemente superior a 4,0, más preferiblemente superior a 4,5. Esta realización es particularmente ventajosa para composiciones líquidas de quitosano, ya que a un pH de 6,3 el quitosano en general es soluble en un medio acuoso. Esta realización de la invención se aplica además preferiblemente a aplicaciones externas del quitosano o la composición que contiene quitosano. Es una ventaja que puede lograrse de esta realización de la invención que el pH esté próximo al de la superficie de la piel sana, evitando de ese modo la irritación o el daño del tejido al que se une el quitosano o la composición de quitosano. Además, debido a la transformación posterior, el pH puede aumentar por encima de 6,3, más preferiblemente por encima de 6,5, de modo que una fracción del quitosano puede permanecer soluble mientras que la otra se vuelve insoluble, actuando como depósito o matriz para la fracción soluble.

Los inventores han descubierto que la presencia de glicerol en el quitosano o la composición que contiene quitosano sólido puede acelerar la transformación de un estado soluble en agua a un estado en el que el producto sólo es soluble en un disolvente líquido ácido. Por ejemplo, en el caso de una sal de quitosano nativo como sal de quitosano, la transformación puede acelerarse desde aproximadamente un mes hasta meramente una semana. Sin limitar la invención a una teoría específica, los inventores creen que la aceleración puede deberse al efecto del glicerol de alterar la estructura cristalina de la sal de quitosano. Ventajosamente, la transformación más rápida permite que los efectos beneficiosos de la transformación se fijen antes. El contenido de glicerol constituye preferiblemente al menos el 10 %, más preferiblemente al menos el 15 %, más preferiblemente al menos el 20 % en peso del contenido de sal de quitosano de la composición sólida en peso. El glicerol está presente preferiblemente a una concentración de más del 10 %, más preferiblemente más del 15 %, más preferiblemente más del 20 % en peso. El glicerol está presente preferiblemente a una concentración menor del 60 %, más preferiblemente menor del 45 %, más preferiblemente menor del 30 % en peso.

El quitosano o la composición que comprende quitosano según la invención se proporciona preferiblemente como un kit en combinación con un disolvente de desprendimiento para facilitar el desprendimiento del quitosano o la composición que contiene quitosano sólido o similar a un gel insoluble en agua del tejido del paciente después del uso, por ejemplo, para reemplazarse o al final de una terapia. En el contexto de la presente invención, un "disolvente de desprendimiento" es un líquido que puede aplicarse al quitosano o a la composición que contiene quitosano cuando está en un estado sólido o similar a un gel y que puede facilitar el desprendimiento del producto del tejido, preferiblemente disolviéndolo y/o hinchándolo al menos parcialmente. El disolvente de desprendimiento preferido puede reducir la adherencia del producto al tejido del paciente. Por tanto, con el disolvente de desprendimiento puede evitarse que el tejido se dañe durante la retirada del quitosano o la composición que contiene quitosano y, en particular, puede evitarse que cuando se retire el quitosano o la composición que contiene quitosano, se rasguen partes del tejido debajo del mismo que se adhieren al quitosano o la composición farmacéutica. Entre otros casos, esto puede ser una gran ventaja cuando el quitosano o la composición que contiene quitosano se aplica a una herida como un apósito para heridas o como parte de un apósito para heridas, porque el tejido de la herida puede ser muy sensible al esfuerzo mecánico. Con la invención, por tanto, puede evitarse la irritación o el daño del tejido en regeneración. Al proporcionarse el quitosano o la composición que contiene quitosano junto con el disolvente de desprendimiento en un kit, puede mejorarse considerablemente el cumplimiento en el sentido de que es menos probable que el paciente intente separar el quitosano o la composición que contiene quitosano del tejido sin la aplicación previa del disolvente de desprendimiento. El kit según la invención puede impedir también que el usuario aplique otro disolvente inadecuado o posiblemente incluso dañino.

Preferiblemente, el disolvente de desprendimiento es un disolvente acuoso, por ejemplo, agua destilada, una disolución acuosa de compuestos iónicos, tal como una disolución acuosa de cloruro de sodio, una disolución tamponada, tal como una disolución tamponada con ácido acético/acetato, o una disolución acuosa de compuestos no iónicos, tal como una disolución acuosa de glucosa. Ventajosamente, el agua como disolvente es menos irritante para la piel que muchos disolventes orgánicos. Aunque en principio, el disolvente de desprendimiento acuoso según la invención puede comprender además de agua uno o más codisolventes distintos de agua, por ejemplo, un codisolvente orgánico tal como isopropanol u otro alcohol, el disolvente de desprendimiento preferido está libre de disolventes orgánicos, incluyendo alcoholes, ésteres, alcanos, disolventes halogenados, aminas y amidas. Sin embargo, puede contener frecuentemente un ácido orgánico; los ácidos orgánicos no se consideran disolventes orgánicos en el contexto de la presente invención.

El disolvente de desprendimiento es preferiblemente ácido. Esta realización de la invención aprovecha el hecho de que la solubilidad del quitosano puede depender del pH. Por tanto, ventajosamente, el pH del disolvente de desprendimiento puede seleccionarse de un intervalo en el que se disuelven todas las fracciones de quitosano. El pH preferido del disolvente de desprendimiento está por debajo de 6,5, más preferiblemente por debajo de 6,3. Más preferiblemente, el pH del disolvente de desprendimiento está por debajo de 6, más preferiblemente por debajo de 5,5, más preferiblemente por debajo de 5. El pH del disolvente de desprendimiento es preferiblemente superior a 3,5. De ese modo, puede evitarse ventajosamente la irritación del tejido debida a la alta acidez del disolvente de desprendimiento. Más preferiblemente, el pH del disolvente de desprendimiento es superior a 4, más preferiblemente superior a 4,5. Un disolvente de desprendimiento preferido comprende un tensioactivo, por ejemplo, un polisorbato tal como Tween. Alternativamente o además, puede comprender poli(óxido de alquileo) sustituido o

no sustituido, tal como polietilenglicol o ésteres de polipropilenglicol. Se ha hallado que la presencia de tales aditivos puede facilitar considerablemente el desprendimiento del quitosano o la composición que contiene quitosano sólido, similar a un gel o líquido solidificado.

La cantidad de disolvente de desprendimiento proporcionada en el kit es al menos 5 veces en peso, más preferiblemente al menos 50 veces en peso de la cantidad del quitosano proporcionado en el kit. Al proporcionar una cantidad suficiente de disolvente de desprendimiento, puede evitarse que el pH del quitosano o la composición que contiene quitosano disminuya por debajo de un determinado umbral. Para la aplicación, el disolvente de desprendimiento puede pulverizarse o cepillarse o aplicarse por medio de una esponja, una espátula, una pipeta o gasa. Por consiguiente, un kit preferido contiene una esponja, un cepillo, una espátula, una pipeta o gasa para aplicar el disolvente de desprendimiento. El disolvente de desprendimiento puede proporcionarse, por ejemplo, en un frasco sellado o una pipeta desechable, o por medio de una gasa, una esponja o un gel empapado con el disolvente de desprendimiento. También puede proporcionarse en un dispositivo de pulverización. El aparato de pulverización preferido comprende un recipiente para almacenar el disolvente de desprendimiento. También puede comprender gas a presión para expulsar el disolvente de desprendimiento.

Un kit preferido según la invención comprende tanto un quitosano o una composición que comprende quitosano sólido o similar a un gel como una composición líquida que comprende quitosano. En un método preferido según la invención, en primer lugar, se aplica el líquido y posteriormente el quitosano sólido o en forma de gel de la composición que contiene quitosano. Preferiblemente, en este método, el producto sólido o similar a un gel se aplica antes de que el producto se haya solidificado. Los inventores han hallado que el producto líquido puede facilitar la unión del producto sólido o similar a un gel al tejido diana. Esto es particularmente cierto para quitosanos o composiciones que comprenden quitosano sólidos o similares a gel solubles en agua y en comparación con un método alternativo en el que el quitosano o la composición que contiene quitosano sólido o similar a gel soluble en agua se humedece con agua antes de la unión. Esto es porque se ha hallado que este último método conduce frecuentemente a una deformación no deseada del quitosano o la composición que contiene quitosano sólido o en forma de gel, deformación que puede evitarse mediante la aplicación de la composición líquida que contiene quitosano para la unión del quitosano o la composición que contiene quitosano sólido o en forma de gel. Preferiblemente, en el kit, la composición líquida es una de las composiciones líquidas que contienen quitosano preferidas descritas en el presente documento. De manera similar, el quitosano o la composición que comprende quitosano sólido o en forma de gel es uno de los quitosanos o las composiciones que contienen quitosanos sólidos o en forma de gel preferidos descritos en el presente documento. Preferiblemente, las composiciones líquidas y/o el quitosano o la composición que contiene quitosano sólido o similar a gel y el disolvente de desprendimiento se proporcionan en recipientes independientes.

El quitosano o la composición farmacéutica que comprende quitosano según la invención puede aplicarse como un apósito para tejidos, preferiblemente un apósito para heridas, o puede formar parte de un apósito para tejidos o un apósito para heridas. De manera similar, el material de apósito para tejidos según la invención forma parte preferiblemente de un apósito para tejidos que comprende otros componentes. En una realización preferida de la invención, el quitosano o la composición que contiene quitosano forma parte de un apósito para tejidos que comprende una primera capa, capa que está formada por el quitosano o la composición, y al menos otra capa formada por otro material, actuando esta otra capa como soporte. En particular, el soporte puede ayudar ventajosamente a impedir el desprendimiento prematuro del apósito para tejidos del tejido. El soporte está ubicado preferiblemente en el lado del apósito para tejidos opuesto al lado que está en contacto con el tejido. Preferiblemente, el soporte es adyacente al quitosano o a la composición que contiene quitosano. El soporte según la invención es particularmente ventajoso si el tipo respectivo de quitosano, preferiblemente quitosano nativo desacetilado, se proporciona en el material de apósito para tejidos en forma de la base de quitosano, ya que la base de quitosano en general se adhiere menos bien al tejido que un material de apósito para tejidos que contiene sal de quitosano. El soporte puede ser, por ejemplo, un material textil tejido, una espuma o una película perforada. El soporte puede ser, por ejemplo, de materiales naturales tales como algodón o un polímero natural o sintético. Los polímeros adecuados incluyen polímeros biodegradables, tales como poliésteres, poliortoésteres, policarbonatos, polianhídridos, poliuretanos, polifosfacenos, polifosfoésteres, polisacáridos, polipéptidos, así como derivados, copolímeros y mezclas basados en estos polímeros. Los polímeros adecuados también incluyen polímeros biosolubles, tales como poli(alcohol vinílico), poli(acetato de vinilo), poli-N-vinilpirrolidona, polietilenglicol, polipropilenglicol, polisacáridos, polipéptidos, así como derivados, copolímeros y mezclas basados en estos polímeros. Además, el soporte puede consistir en un polímero no biodegradable/no biosoluble, tal como siliconas, poliuretanos, poli(tereftalato de etileno), politetrafluoroetileno, polisulfonas, polietersulfonas, polieteretercetonas, policarbonatos, polimetacrilatos, polisacáridos, polipéptidos, así como derivados, copolímeros y mezclas basados en estos polímeros.

Un apósito para tejidos preferido según la invención comprende una primera capa, capa que está formada por el quitosano o la composición que contiene quitosano, y otra capa formada por otro material, actuando esta otra capa como barrera contra la humedad al menos parcial. Dicho de otro modo, la otra capa puede impedir o al menos retrasar la evaporación de agua durante el tratamiento del tejido con el apósito para tejidos según la invención. Esto puede ser una ventaja particular cuando el apósito para tejidos se aplica a heridas secas. La otra capa está ubicada preferiblemente en el lado de la capa del apósito para tejidos opuesto al lado que está en contacto con el tejido.

Preferiblemente, la otra capa es adyacente al quitosano o a la composición que contiene quitosano. La invención también abarca apósitos para tejidos que tienen tanto una capa de soporte como otra capa que actúa como barrera contra la humedad al menos parcial. Por supuesto, ambas funciones, la de soporte y la de barrera contra la humedad al menos parcial, también pueden satisfacerse por una única otra capa. La otra capa puede ser, por ejemplo, de silicona u otro polímero o composición de polímero de los grupos de polímeros enumerados con anterioridad. Normalmente, la otra capa tiene un grosor de entre 10 y 1000 μm , preferiblemente entre 50 y 500 μm . En algunas realizaciones de la invención, la otra capa está perforada. Los orificios de la perforación tienen normalmente un diámetro comprendido entre 10 y 1500 μm , preferiblemente entre 50 y 1000 μm . En una realización alternativa de la invención, en lugar de la barrera contra la humedad se proporciona una capa que puede absorber fluido, por ejemplo, exudado de herida. Un material adecuado puede ser, por ejemplo, hidrogeles o hidrocoloides basados en polisacáridos, incluyendo derivados de celulosa o espumas de poliuretano. Esto puede ser una ventaja particular cuando el apósito para tejidos se aplica a heridas húmedas.

En una realización preferida de la invención, el quitosano o la composición que contiene quitosano, preferiblemente el apósito para tejidos, se proporciona en un recipiente que puede impedir la transformación del quitosano o la composición que contiene quitosano de su estado líquido o soluble en agua a su estado insoluble en agua siempre que esté en el recipiente y la vida útil aún no haya expirado. Preferiblemente, el recipiente es a prueba de vapor, más preferiblemente es esencialmente hermético. Además, en algunas realizaciones de la invención, el quitosano o la composición que contiene quitosano en su lado que está destinado a aplicarse en contacto con el tejido del paciente está cubierto con una lámina de cubierta desprendible. La lámina de cubierta es a prueba de vapor, más preferiblemente impermeable al aire.

Esto puede contribuir a impedir la transformación prematura del quitosano o la composición que contiene quitosano de su estado líquido soluble en agua a su estado insoluble en agua antes de que se aplique al tejido del paciente.

El quitosano o la composición que contiene quitosano preferido tiene una capacidad de captación de agua de menos del 1500 % en peso, más preferiblemente menos del 100 %, más preferiblemente menos del 80 %. De ese modo, puede lograrse ventajosamente que pueda mantenerse un grado de humedad que sea favorable para la cicatrización de heridas bajo el apósito para tejidos cuando se aplica a un sitio de herida. Preferiblemente, el quitosano o la composición que contiene quitosano en una forma sólida o similar a un gel tiene una capacidad de captación de agua de más del 25 %, más preferiblemente más del 50 %. Ventajosamente, esta realización de la invención es adecuada para absorber fluidos y compuestos tóxicos exudativos. En una realización particularmente preferida de la invención, la capacidad de captación de agua del quitosano o la composición que contiene quitosano está entre el 65 y el 75 %.

Breve descripción de los dibujos

La invención se ilustra con mayor detalle con ayuda de las siguientes figuras:

La figura 1 muestra un espectro de ^1H -RMN del quitosano nativo tal como se adquirió;

la figura 2 muestra un espectro de ^1H -RMN del quitosano nativo esencialmente desacetilado después de etapas de hidrólisis adicionales;

la figura 3 ilustra el efecto de una disolución de quitosano según la invención sobre *Escherichia coli* cultivada sobre una placa de agar después de 12 horas de incubación;

la figura 4 ilustra el efecto de una disolución de quitosano según la invención sobre *Staphylococcus carnosus* cultivado sobre una placa de agar después de 12 horas de incubación;

la figura 5 muestra tubos de centrifuga con muestras de un medio de caldo de tripticasa y soja que contiene una preparación de quitosano según la invención (A) y libre de quitosano (B);

la figura 6 muestra las muestras de la figura 3 después de 16 horas de incubación después de la inoculación con *Escherichia coli*;

la figura 7 ilustra el efecto de una fibra de quitosano según la invención sobre *Staphylococcus carnosus* cultivado sobre una placa de agar después de incubación durante la noche; y

la figura 8 ilustra la disolución controlada de un quitosano según la invención mediante la aplicación de gasa empapada con disolución tamponada con acetato;

la figura 9 muestra un apósito para tejidos que comprende un quitosano según la invención antes (9a), durante (9b) y después (9c) de la aplicación del disolvente de desprendimiento;

la figura 10 ilustra esquemáticamente una herida a la que se ha aplicado una composición líquida que contiene quitosano según la invención;

5 la figura 11 ilustra esquemáticamente una herida a la que se ha aplicado un material de quitosano sólido según la invención;

la figura 12 ilustra esquemáticamente una herida a la que se ha aplicado un apósito para heridas no perforado según la invención;

10 la figura 13 ilustra esquemáticamente una herida a la que se ha aplicado un apósito perforado según la invención;

la figura 14 ilustra la viabilidad celular de los queratinocitos sobre materiales de quitosano de diversos grados de acetilación, con relación a controles de poliestireno de cultivo tisular (PS = 100 %); y

15 la figura 15 muestra imágenes microscópicas de queratinocitos humanos que se hacen crecer sobre materiales de quitosano de diversos grados de acetilación (A: 1,5 %; B: 14,5 %).

Descripción detallada de realizaciones de la invención

20 1. Espectroscopía de ^1H -RMN

Se obtuvo el quitosano usado en los ejemplos siguientes en forma de escamas finas de Cognis (Alemania). Se determinó el grado de acetilación (DA) mediante espectroscopía de ^1H -RMN. La figura 1 muestra un espectro de ^1H -RMN obtenido a partir de este quitosano disponible comercialmente. La figura 2 muestra un espectro de ^1H -RMN correspondiente obtenido a partir de quitosano desacetilado después de etapas de hidrólisis adicionales aplicadas al producto comercial tal como se describe adicionalmente a continuación. En ambos casos, se analizó el quitosano en una mezcla de DCI al 0,25 % en D_2O a una concentración de quitosano de aproximadamente el 0,5 % (p/v). Se registraron los espectros usando un espectrómetro Bruker AC200. Los desplazamientos químicos de RMN (δ , en ppm) se referenciaron a la señal de HDO ($\delta = 4,8$ ppm). El DA, calculado comparando el área integrada bajo los picos asociados con H2-H6 de la subunidad de D-glucosamina con la del grupo metilo, se determinó como el 14,5 % para el quitosano nativo tal como se adquirió, y el 1,5 % para el quitosano nativo desacetilado.

2. Síntesis de quitosano de bajo DA

35 Para la hidrólisis adicional, se colocaron 50 g (gramos) de las escamas de quitosano tal como se obtuvieron del proveedor Cognis en un recipiente de vidrio, y se añadieron 500 g de una disolución acuosa al 45 % de hidróxido de sodio. Se agitó bien el recipiente de vidrio para mezclar los componentes y se colocó en un horno durante 2 horas a 100 °C. Entonces, se retiró del horno y se añadieron 500 ml (mililitros) de agua destilada. Se filtró la mezcla a través de una frita de vidrio. Luego, se lavó el quitosano con agua destilada hasta que el pH del filtrado alcanzó 6,5, y se secó a 100 °C durante 4 h (horas). Este tratamiento de hidrólisis se repitió después, dando como resultado 42 g de quitosano nativo desacetilado que tenía un grado de acetilación del 1,5 % según se determinó mediante espectroscopía de ^1H -RMN.

45 3. Preparación de disoluciones de quitosano (disoluciones A1, A2 y A3)

Se disolvieron 15 g del quitosano nativo obtenido de ese modo que tenía un DA del 1,5 % en 500 ml de un ácido acético acuoso al 2 % agitando suavemente durante 24 h. A continuación, el material se denomina disolución de quitosano A1.

50 Se obtuvo una segunda disolución de quitosano con una concentración de quitosano del 1,5 % mediante la adición de 500 ml de agua destilada a 500 ml de disolución A1. A continuación, el material se denomina disolución de quitosano A2.

55 Se obtuvo una tercera disolución de quitosano con una concentración de quitosano del 0,75 % mediante la adición de 1500 ml de agua destilada a 500 ml de disolución A1. A continuación, el material se denomina disolución de quitosano A3.

4. Preparación de un primer ejemplo de quitosano de tipo película sólida (quitosano B)

60 Se vertieron dos porciones de 144 ml cada una de disolución A2 en dos moldes de forma cuadrada, de 24x24 cm² (centímetros cuadrados) de tamaño, y se dejaron en un entorno libre de polvo para secado a temperatura ambiente. Se retiró la película resultante del primer molde y se esterilizó usando un haz de electrones de 10 kGy (kilogray). Se obtuvo una película transparente de aproximadamente 80 μm de grosor que consistía esencialmente en su totalidad en sal de acetato de quitosano nativo desacetilado. A continuación, el material se denomina quitosano B.

5. Preparación de un segundo ejemplo de quitosano de tipo película sólida (quitosano C)

Se colocó la película secada del segundo molde durante 2 horas en un baño que contenía una disolución de amoníaco al 1,5 % en metanol/agua 90/10 (v/v). Entonces se retiró la película del baño y se secó mediante almacenamiento a temperatura ambiente. Se esterilizó la película usando un haz de electrones de 10 kGy. Se obtuvo una película transparente de aproximadamente 80 µm de grosor que consistía esencialmente en su totalidad en base de quitosano nativo desacetilado. A continuación, el material se denomina quitosano C.

6. Preparación de un tercer ejemplo de quitosano de tipo película sólida (quitosano D1)

Se filtraron en primer lugar 144 ml de la disolución A2 a través de un filtro de fibra de vidrio (tamaño de poro de aproximadamente 1 µm) y, luego, a través de un filtro de 0,22 µm para su esterilización, se vertieron en un molde de forma cuadrada, de 24x24 cm² de tamaño, y se dejaron en un entorno libre de polvo para secado a temperatura ambiente. Después de 3 días de almacenamiento, se retiró la película resultante del molde, se transfirió a una bolsa de plástico que después se selló herméticamente y se esterilizó usando un haz de electrones de 25 kGy (kilogray). Se obtuvo una película transparente de aproximadamente 80 µm de grosor que consistía esencialmente en su totalidad en sal de acetato de quitosano desacetilado. A continuación, el material se denomina quitosano D1.

7. Preparación de un cuarto ejemplo de quitosano de tipo película sólida (quitosano D2)

En un procedimiento ligeramente modificado, se añadió glicerol al 4 % (p/p) a la disolución filtrada del ejemplo anterior antes de verterla en el molde de forma cuadrada. El tratamiento posterior tal como se ha descrito anteriormente para el quitosano D1 dio como resultado una película transparente que consistía esencialmente en su totalidad en una mezcla de sal de acetato de quitosano desacetilado y glicerol. A continuación, el material se denomina quitosano D2.

8. Preparación de un quinto ejemplo de quitosano de tipo película sólida (quitosano D3)

En un procedimiento modificado adicional, se vertió la disolución que contenía glicerol de quitosano desacetilado en un molde de forma cuadrada que se cubrió con una película de dos capas que consistía en poliuretano/polietileno (Platilon U073 PE, Epurex, Bomlitz/Alemania), con el lado de poliuretano hacia arriba y el lado de polietileno fijado al fondo del molde. El tratamiento posterior tal como se ha descrito anteriormente para el quitosano D1 dio como resultado una película transparente que consistía esencialmente en su totalidad en una mezcla de sal de acetato de quitosano desacetilado y glicerol que se unió a la película de soporte de poliuretano/polietileno. A continuación, el material se denomina quitosano D3. Tras su uso, se retira la capa de polietileno. La capa de poliuretano restante es permeable a los gases.

9. Preparación de un sexto ejemplo de quitosano de tipo película sólida (quitosano D4)

En un procedimiento ligeramente modificado para la preparación de la película de quitosano D2, se añadió glicerol al 1 % (p/p) a la disolución filtrada antes de verterla en el molde de forma cuadrada. El tratamiento posterior tal como se ha descrito anteriormente para el quitosano D1 dio como resultado una película transparente que consistía esencialmente en su totalidad en una mezcla de sal de acetato de quitosano desacetilado y glicerol. A continuación, el material se denomina quitosano D4.

10. Preparación de dos ejemplos de quitosano con mayor DA (quitosanos E1 y F1; no son según la invención)

Se produjeron otros dos ejemplos de quitosano mediante el procedimiento que condujo al quitosano D1 con la única modificación de que en un caso se acortó la etapa de hidrólisis, lo que condujo a un DA del 4 % (quitosano E1), y en el otro caso se omitió en su totalidad la etapa de hidrólisis, conduciendo a un DA del 16 % (quitosano F1).

11. Inhibición del crecimiento de *Escherichia coli* sobre agar

Se recubrió una placa de agar con 200 µl de una suspensión (aprox. 10⁸ células por ml) de la bacteria gram-positiva *Escherichia coli*. Se realizó una cavidad circular en la placa y se pipetearon 100 µl de disolución A1 en la cavidad. Luego se incubó la placa a 37 °C durante 12 horas. Se muestra el resultado del experimento en la figura 3. Puede observarse una zona de inhibición circular clara alrededor del orificio que contiene la disolución de quitosano, lo que indica la actividad como antibiótico de la disolución de quitosano contra *Escherichia coli*.

12. Inhibición del crecimiento de *Staphylococcus carnosus* sobre agar

Se repitió el experimento anterior con la bacteria gram-negativa *Staphylococcus carnosus*. Se recubrió una placa de agar con 200 µl de una suspensión (aprox. 10⁸ células por ml) de la bacteria y se pipeteó la disolución A en una cavidad en la placa. Luego se incubó la placa a 37 °C durante 12 horas. Se muestra el resultado del experimento en

la figura 4. Puede observarse una zona de inhibición circular clara alrededor del orificio que contiene la disolución de quitosano, lo que indica la actividad como antibiótico de la disolución de quitosano contra *Staphylococcus carnosus*.

13. Inhibición del crecimiento de *Escherichia coli* en medio líquido

Para ensayar la actividad como antibiótico de la preparación de quitosano según la invención, se inocularon 5 ml de disolución A1 con 100 µl de *E. coli* activada durante la noche (densidad celular óptica DO₅₀₀ = 5) a temperatura ambiente en un medio líquido de caldo de tripticasa y soja. Se llenó con la muestra un tubo de centrifuga y se muestra en la figura 5 a la izquierda (muestra A). Para comparación, se inocularon 5 ml de medio TSB libre de quitosano con 100 µl de *E. coli* activada durante la noche (densidad celular óptica DO₅₀₀ = 5). Un tubo de centrifuga lleno de la muestra libre de quitosano se muestra a la derecha en la figura 5 (muestra B). La inoculación estuvo seguida por 16 horas de incubación a temperatura ambiente con agitación.

Se muestra el resultado del experimento en la figura 6. En el medio sin quitosano (muestra B) se observó un aumento considerable de la turbidez de la disolución, lo que indica el crecimiento de bacterias. Por el contrario, la disolución que contiene quitosano (muestra A) no muestra un aumento discernible de la turbidez. El experimento indica así actividad como antibiótico de la disolución de quitosano contra *Escherichia coli* en el medio líquido de caldo de tripticasa y soja.

14. Inhibición del crecimiento de *Escherichia coli* en medio líquido

En otro experimento para ensayar la actividad como antibiótico de la preparación de quitosano según la invención, se inoculó la disolución A1 con *E. coli* K 12 (DO 0,2) en un medio de caldo lisogénico durante 15 horas a 37 °C con agitación. Se añadió la disolución A1 en diferentes volúmenes para producir concentraciones finales de quitosano tal como se especifica en la tabla 1.

Se resumen los resultados de este experimento en la tabla 1

Tabla 1

	Concentración de quitosano					Control (sin quitosano)
	0,75 %	0,3 %	0,1 %	0,03 %	0,01 %	
Observación	-	-	-	+	++	+++
- sin crecimiento; +, ++, +++ crecimiento en orden creciente						

La adición de quitosano al 0,1 % a *E. coli* en fase de crecimiento exponencial partiendo de una DO de 0,2 durante 15 h a 37 °C y agitando (en medios de crecimiento óptimos para *E. coli*) condujo a una depuración de la disolución, la disolución permaneció estéril durante un periodo de observación adicional de 5 días (TA sin agitación).

15. Eficacia de la conservación antimicrobiana

Se ensayó la eficacia de la conservación antimicrobiana según la norma tal como se describe en la Farm. Eur. 7ª edición, capítulo 5.1.3, con la disolución A3. Se llenaron dos recipientes, cada uno con 20 ml de disolución A3 y se inocularon con una suspensión de o bien *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 o bien *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 para dar un inóculo de 10⁵ a 10⁶ microorganismos por ml. Se mezcló la suspensión a fondo para garantizar una distribución homogénea. Se mantuvo el producto inoculado a de 20 °C a 25 °C con protección frente a la luz. Se retiró una muestra de 1 ml de cada recipiente a la hora cero y a los intervalos especificados en la tabla 2, y se determinó el número de microorganismos viables mediante recuento de placas.

Tabla 2

	UFC por ml de muestra				
	0 h	2d	7d	14 d	28 d
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	8,6 × 10 ⁵	<10	<10	<10	<10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	9,2 × 10 ⁵	<10	<10	<10	<10

16. Actividad como antibiótico de fibras de quitosano

Para demostrar la actividad como antibiótico de fibras de quitosano, se produjo una fibra de quitosano mediante extrusión de 50 ml de una disolución de quitosano al 4 % en ácido acético al 2 %, mezclada con una cantidad igual de N-metilpirrolidona (NMP) a través de una aguja de 50 mm de longitud y un diámetro interior de 1,0 mm. Se

sumergió la aguja en un baño de coagulación que contenía una mezcla de 2 l (litros) de NMP y 3 ml de disolución acuosa de amoníaco al 25 %. Después de completarse la extrusión, se dejó la fibra en el baño de coagulación durante la noche. Luego se lavó dos veces en agua destilada que contenía el 0,1 % en peso de una disolución acuosa de amoníaco al 25 % durante 2 horas, y después se secó a temperatura ambiente.

Se cultivó *Staphylococcus carnosus* durante la noche a temperatura ambiente en un medio de crecimiento de caldo de tripticasa y soja. Posteriormente, se usaron 500 µl de la suspensión de bacterias obtenida de ese modo para recubrir una placa de agar Mueller-Hinton a pH 5,5. Se colocó una sección de fibra de quitosano de 4 centímetros de longitud y 0,2 milímetros de diámetro sobre la placa y se incubó durante la noche a 37 °C.

Se muestra el resultado del experimento en la figura 7. Se observó una zona clara de inhibición alrededor de la fibra de quitosano, lo que indica actividad como antibiótico de la fibra contra *Staphylococcus carnosus*.

17. Tratamiento de una infección por SARM

A un paciente de sexo masculino de 39 años de edad que padece anomalía arteriovenosa cerebro-orbitofacial asociada con hemorragia intensa recurrente de heridas faciales se le diagnosticó infección de heridas por SARM. Se trató pulverizando disolución de quitosano A3 diariamente durante 3 semanas sobre las heridas faciales. Después del tratamiento, ya no pudieron detectarse microorganismos viables de SARM y no pudo encontrarse ninguna otra infección microbiana en el sitio del tratamiento con quitosano.

18. Captación de agua del quitosano C

Se pesó quitosano C, producido tal como se describió en el ejemplo anterior, y luego se colocó en agua destilada durante 15 min. se comparó el peso de la película húmeda con el peso de la película seca, y se determinó que la captación de agua era del 72 % en peso.

19. Captación de agua del quitosano D4

Se pesó quitosano D4, producido tal como se describió en el ejemplo anterior, y luego se colocó en agua destilada durante 60 min. Se comparó el peso de la película húmeda con el peso de la película seca, y se determinó que la captación de agua era del 1217 % en peso 7 días después de la preparación de la película, y del 475 % en peso 14 días después de la preparación de la película.

20. Disolución de quitosano

Se ensayó la disolución controlada de los quitosanos B y C en experimentos de disolución usando agua destilada, disolución acuosa de cloruro de sodio al 0,9 % y disolución tamponada con ácido acético/acetato al 0,5 %, respectivamente. Se ajustó el pH de las disoluciones a los valores indicados en la tabla 2 usando cantidades apropiadas de disoluciones de hidróxido de sodio o ácido clorhídrico 1 N. Se cortaron los quitosanos B y C en muestras rectangulares que tenían pesos secos de entre 5 y 10 mg cada una. Se aplicó una gasa empapada con un exceso de 100 veces por volumen de la disolución respectiva hasta el peso seco de la película, a cada película de muestra y se registró el tiempo para la disolución completa de la película.

Tabla 3

pH de la mezcla de disolución	Material B (agua destilada)	Material B (cloruro de sodio acuoso al 0,9 %)	Material C (cloruro de sodio acuoso al 0,9 %)	Material C (tampón ácido acético/acetato al 0,5 %)
4,0	n.a.	n.a.	n.d.	0,5 h
4,5	n.a.	n.a.	n.d.	0,5 h
5,0	n.a.	n.a.	n.d.	2 h
5,5	0,1 h	0,5 h	n.d.	4 h
n.a. = no analizado n.d. = no se observó disolución después de 24 h				

El experimento de disolución controlada con el material de quitosano C y una mezcla de ácido acético al 0,5 %/acetato de sodio (columna a la derecha en la tabla 3), se ilustra en la figura 8. El material se ha teñido mediante almacenamiento en disolución acuosa de indigocarmín al 0,01 % durante 1 hora para una mejor visualización. Se observó una disolución completa después de 30 minutos a pH 4,0 y 4,5, después de 2 horas a pH 5,0, y después de 4 horas a pH 5,5, respectivamente.

21. Conversión in situ de quitosano soluble en agua en quitosano insoluble en agua

Se dejaron sin sellar muestras de la disolución A2 y los quitosanos D1, D2, D3 y D4 al aire a temperatura ambiente y una humedad del 20-40 %. En estas condiciones, se secó la disolución A2 hasta obtener una película sólida en el plazo de varias horas. Se analizó la disolución completa en agua destilada los días 3, 7 y 14. Se resumen los resultados en la tabla 4.

Tabla 4

Quitosano	Día 3	Día 7	Día 14
A2	soluble	insoluble	insoluble
D1	soluble	soluble	insoluble
D2	soluble	insoluble	insoluble
D3	soluble	insoluble	insoluble
D4	soluble	insoluble	insoluble

De manera similar, se observó la conversión de la forma soluble en agua en la insoluble en agua de la disolución secada A2 y los quitosanos D1, D2, D3 y D4 después de la aplicación del apósito para heridas sobre piel humana. En el caso de D3, se aplicó el quitosano a la piel con su lado de quitosano. También se observó la conversión de la disolución secada A2 soluble en agua en la forma insoluble en agua y los quitosanos D1, D2, D3 y D4 después de tratamiento alcalino o almacenamiento en una atmósfera alcalina.

22. Disolución de quitosano con disolvente de desprendimiento

Se disolvieron los quitosanos D1, E1 y F1 mediante almacenamiento en una disolución tamponada con 2% ácido acético/acetato. Se ajustó el pH de las disoluciones de almacenamiento a los valores indicados en la tabla 5 usando cantidades apropiadas de disoluciones de hidróxido de sodio al 10 %. Se dejaron al aire las películas D1, E1 y F1 que se componían de quitosanos con diferentes grados de acetilación (DA) durante 14 días para su conversión en la forma insoluble en agua, se cortaron en muestras rectangulares de 1x1 cm² de tamaño y se almacenaron en aproximadamente 10 ml de la disolución respectiva, y se registró el tiempo para la disolución completa de la película.

Tabla 5

pH	DA = 16 %	DA = 4 %	DA = 1,5 %
	Tiempo para la disolución completa (min)		
4,0	5	10	1
4,5	15	15	2
5,0	30	15	15
5,5	60	60	30
6,0	60	durante la noche	durante la noche

En otro experimento de disolución, se fijó una película C (3x1 cm²) en el interior de una tirita perforada comercial (5x2 cm) que se fijó después en una placa de Petri. Se añadió gota a gota una disolución tamponada con ácido acético/acetato (pH 5,5) a través de las perforaciones de la tirita, provocando que se disolviera la película de material de apósito para heridas. El lado del apósito para tejidos que comprende la película se muestra en la figura 9a antes y en la figura 9c después de la aplicación de la disolución. La aplicación de la disolución al lado de la tirita del apósito para heridas se muestra en la figura 9b.

23. Análisis de fracciones no soluble y soluble de quitosano de bajo DA

Se colocaron muestras de 0,1 g de quitosano con un DA del 1,5 %, preparadas tal como se describió en el ejemplo 2, cada una en 10 ml de disolución tamponada con fosfato y se mantuvieron a temperatura ambiente con agitación suave a pH 7,4. En los puntos de tiempo facilitados en la tabla X, se filtró la mezcla, y se lavó meticulosamente el quitosano insoluble que quedaba en el filtro x y finalmente se secó. Se determinó la cantidad de quitosano insoluble gravimétricamente en una balanza de laboratorio. Se resumen los resultados en la tabla 6:

Tabla 6

	Tiempo de almacenamiento en PBS				
	1 hora	8 horas	1 día	3 días	10 días
fracción de quitosano insoluble (%)	95,5	93,5	84	85	84,5
fracción de quitosano soluble (%)	4,5	6,5	16	15	15,5

24. Viabilidad celular con quitosano de bajo DA

Se colocaron películas de quitosano que tenían DA del 1,5, el 4,0 y el 14,5 %, respectivamente, en placas de cultivo celular de 24 pocillos, y se sembraron queratinocitos HaCaT humanos a una densidad de 5×10^4 células por cm^2 y se cultivaron durante 2 días. Se determinó la viabilidad celular usando el ensayo de MTS (Promega). Después de 4 h de incubación con MTS con las células, se midió la absorbancia de luz a 490 nm mediante un lector de placas ELISA y se restó de la de los controles (sin células) para producir la absorbancia corregida. Se estudiaron cinco muestras de cada DA. La figura 14 muestra las absorbancias de luz relativas α a 490 nm (PS = 100 %) para las tres muestras y un control que usa poliestireno (PS).

25. Crecimiento celular en quitosanos de diferentes DA

Se hicieron crecer queratinocitos humanos (5×10^4 células por pocillo) en una placa de 24 pocillos durante 2 días a 37 °C sobre películas de quitosano que tenían DA del 1,5 y el 14,5 %, respectivamente. Para los ensayos, se aislaron células de piel humana y se hicieron crecer hasta que se alcanzó la subconfluencia. Después de 24 h, se cambió el medio (medio de queratinocitos con mezcla de suplementos, Promocell) para retirar las células no adherentes. La figura 15 proporciona ejemplos representativos de células hechas crecer sobre películas de quitosano después de 1 día de incubación.

En la figura 10, se muestra esquemáticamente un tejido 1 que comprende una herida 2. Para una mejor ilustración, las figuras 5 a 8 no están trazadas a escala. La composición líquida que contiene quitosano según la invención se ha aplicado al tejido 2 y se ha permitido que el agua constituyente se evapore, dejando una película 3 que veda el tejido 2 que incluye la herida 3. En general, la película 3 tiene un grosor de aproximadamente 10 a 20 μm . Ventajosamente, la película 3 se ajusta firmemente a la superficie 4 del tejido, incluyendo la superficie 5 de la herida.

La figura 11 muestra esquemáticamente un quitosano en forma de una película 6 sólida que se aplica a un tejido 1, que comprende una herida 2. La película sólida tiene aproximadamente 80 μm de grosor. Las cavidades 7, 8 entre el tejido 1 y el quitosano 6 pueden llenarse con agua o fluido exudativo.

En la figura 12, un apósito 9 para tejidos que comprende una película 6 de quitosano de la figura 11 como primera capa y una película 10 de silicona como segunda capa se aplica a un tejido 1, que comprende una herida 2. La película 10 de silicona tiene un grosor de aproximadamente 50 μm . De nuevo, las cavidades 7, 8 entre el tejido 1 y el material 6 de apósito para tejidos pueden llenarse con agua o fluido exudativo. Finalmente, la figura 13 muestra un apósito 11 para tejidos aplicado a un tejido 1 que comprende una herida 2, difiriendo el apósito 11 para tejidos del 9 de la figura 12 en que la película 10 de silicona está perforada para permitir un intercambio de aire entre el tejido 1 y el entorno circundante a través del material 6 de apósito para heridas. Las perforaciones tienen un diámetro de entre 50 y 100 μm .

REIVINDICACIONES

1. Quitosano con un grado de acetilación de menos del 2,5 % para uso en un tratamiento de estimulación del crecimiento de células epiteliales de un tejido humano, en el que el tejido comprende cortes, abrasiones, quemaduras, irritación por el afeitado, heridas provocadas por virus, picaduras de insectos, tejidos afectados por acné, tejido en el área genital, tejido mucoso y tejido en cavidades u orificios corporales.
2. Quitosano para uso según la reivindicación 1, en el que el quitosano está en disolución acuosa.
3. Quitosano para uso según la reivindicación 2, en el que el quitosano está en disolución acuosa en una concentración de menos del 15 %, más preferiblemente menos del 10 %, más preferiblemente menos del 7,5 % y más preferiblemente menos del 5 %.
4. Quitosano para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la composición que contiene quitosano comprende un ácido orgánico seleccionado del grupo de ácidos orgánicos monobásicos o multibásicos que tienen de 2 a 12 átomos de carbono y un primer valor de pKa entre 1 y 5.
5. Quitosano para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la composición que contiene quitosano está libre de disolventes orgánicos.
6. Quitosano para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la composición que contiene quitosano permite la formación de una película después de la administración al tejido y en el que la película tiene un grosor de entre 0,1 y 50 μm .
7. Quitosano para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el quitosano es quitosano nativo.
8. Quitosano para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el quitosano tiene un grado de acetilación de menos del 2 %.
9. Quitosano para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el quitosano puede prepararse mediante un método que implica al menos dos etapas de desacetilación.
10. Quitosano para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 4 a 9, en el que la composición que contiene quitosano se proporciona como una composición sólida o similar a un gel.
11. Quitosano para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que la composición que contiene quitosano se proporciona como una composición de pulverización.
12. Quitosano para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el tratamiento está confinado localmente.
13. Quitosano para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el tratamiento es no sistémico.
14. Quitosano para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que el tratamiento es para la prevención duradera y/o el tratamiento de corta duración.
15. Quitosano para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que el quitosano o la composición que contiene quitosano se proporciona en un recipiente que impide la transformación del quitosano o la composición que contiene quitosano de su estado soluble en agua a su estado insoluble en agua siempre que esté en el recipiente y no haya expirado la vida útil.

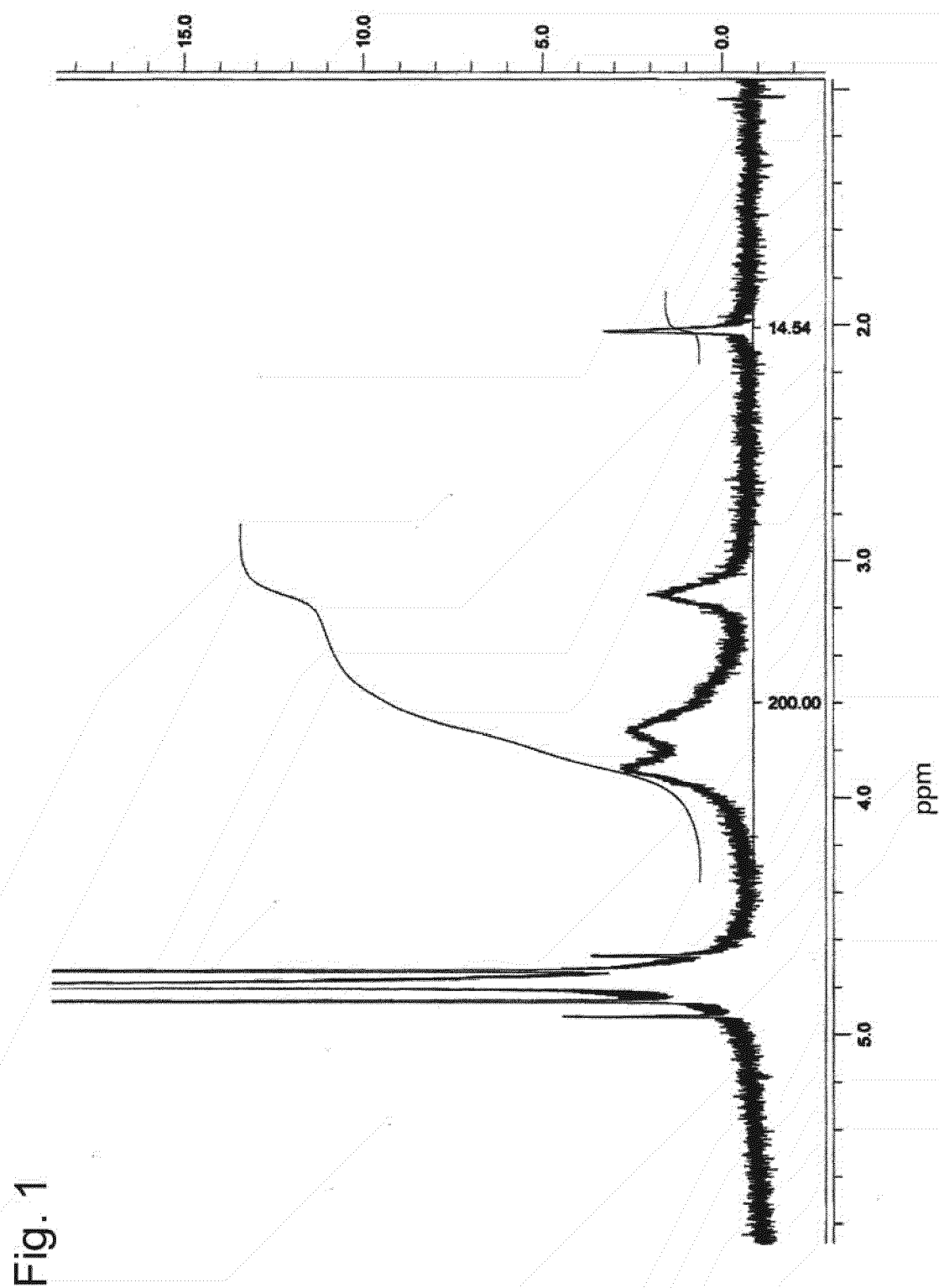


Fig. 1

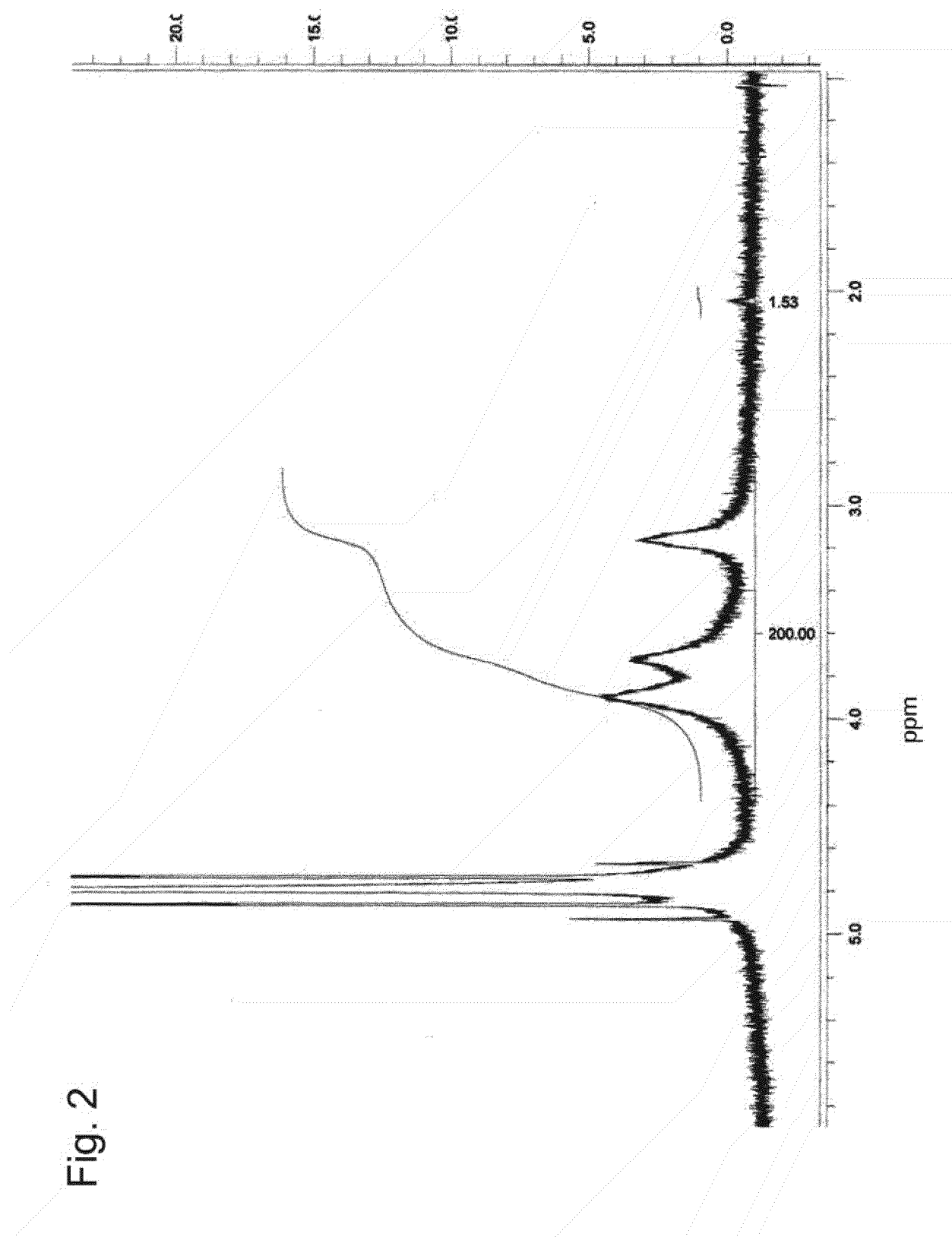


Fig. 2



Fig. 4

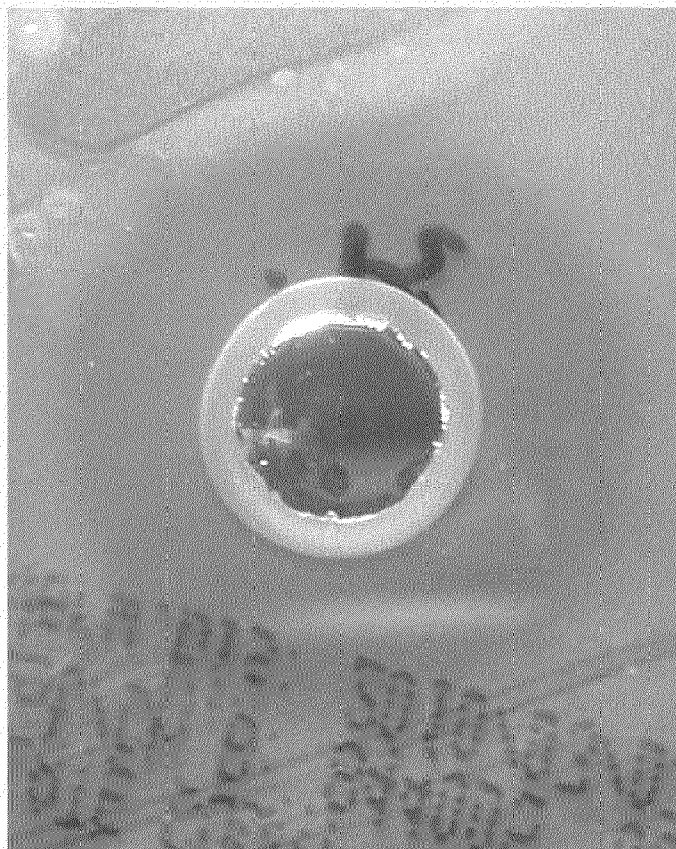


Fig. 3

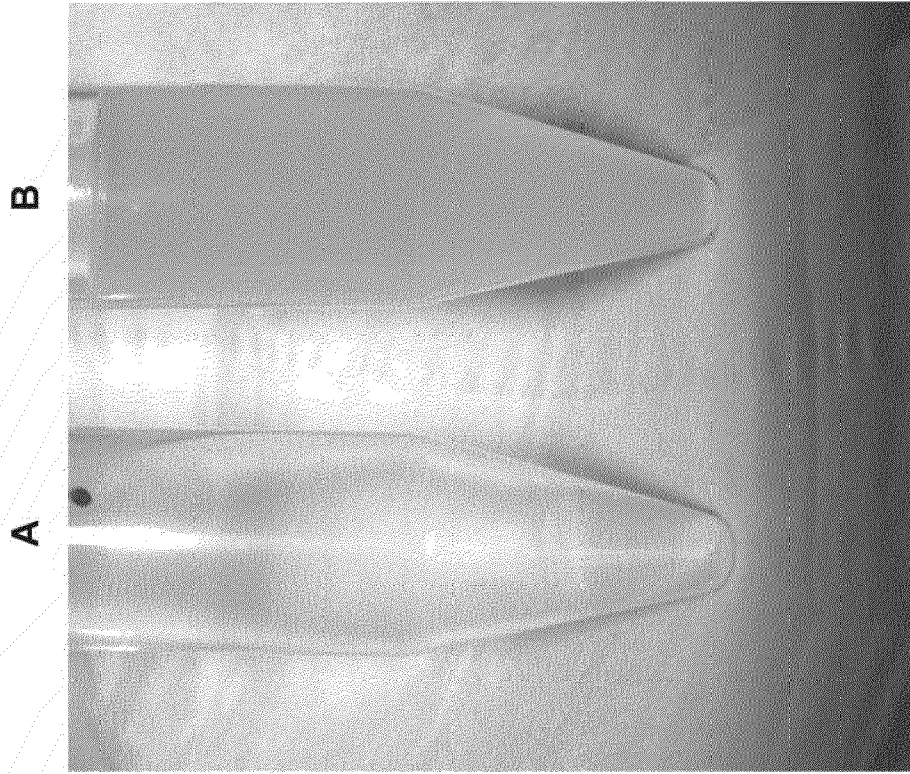


Fig. 6

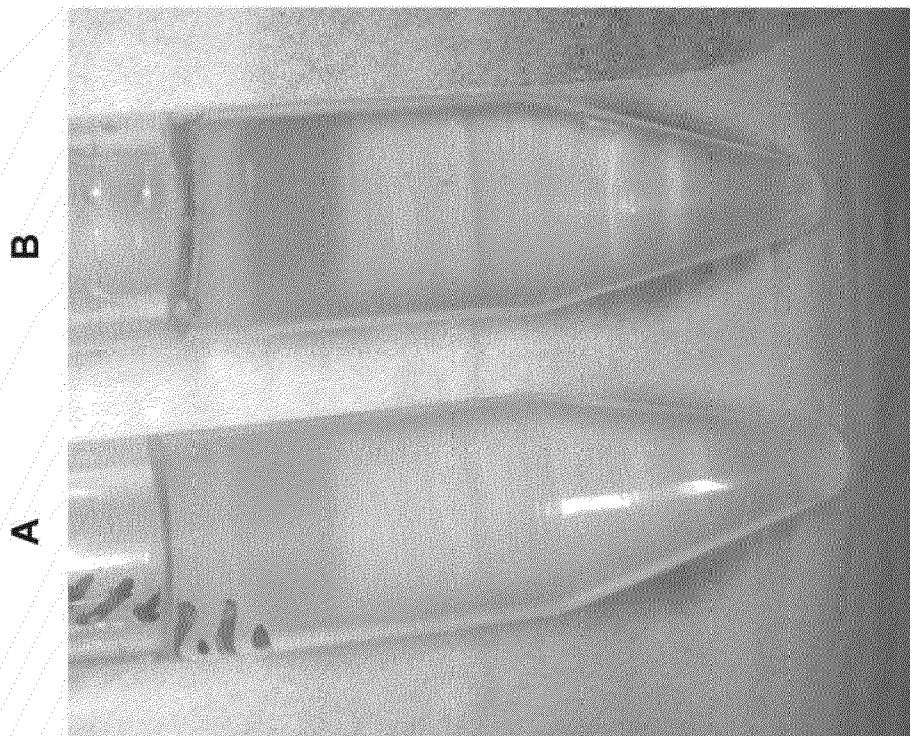


Fig. 5

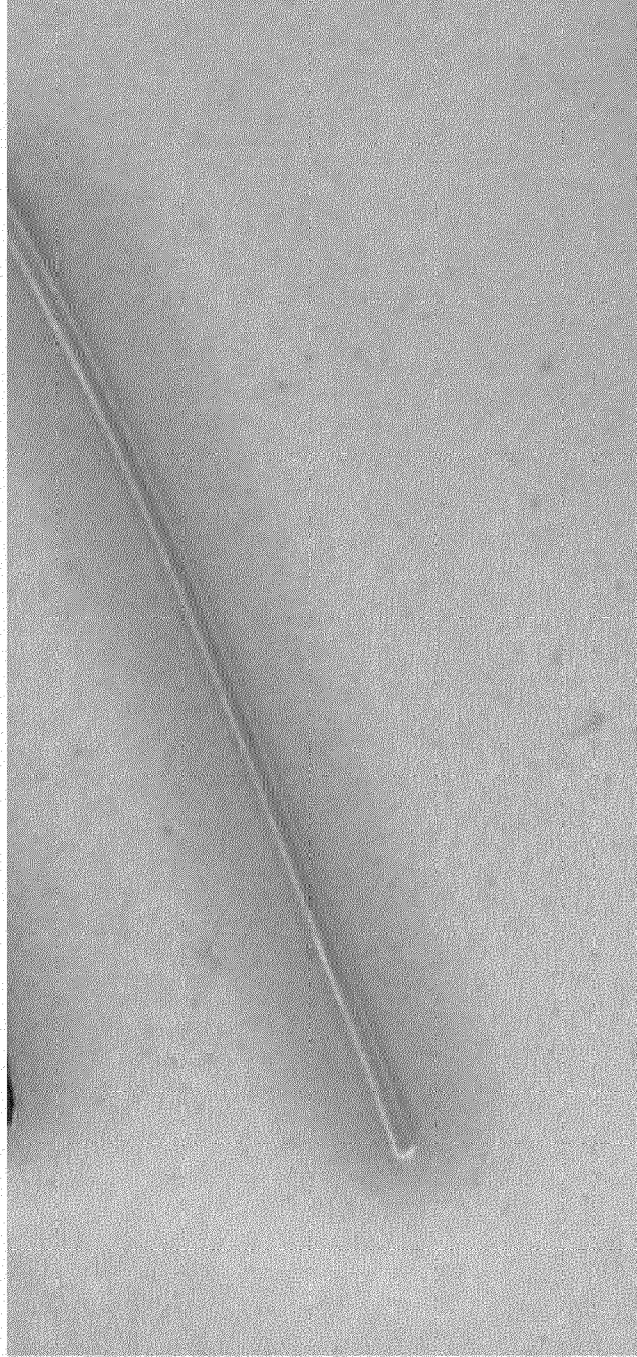


Fig. 7

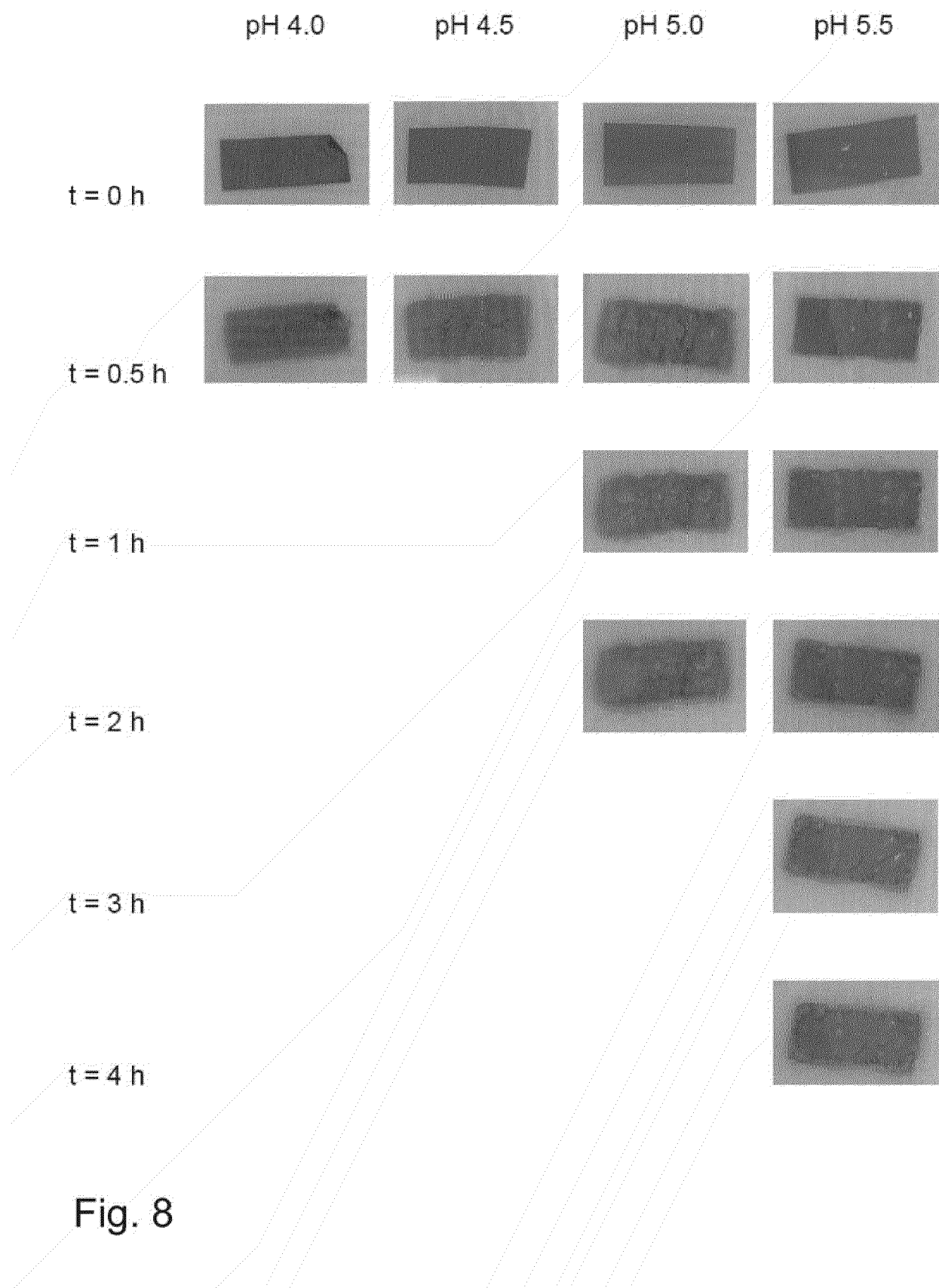


Fig. 9a

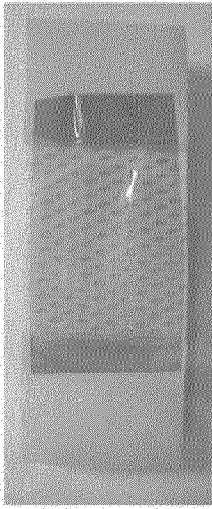


Fig. 9b

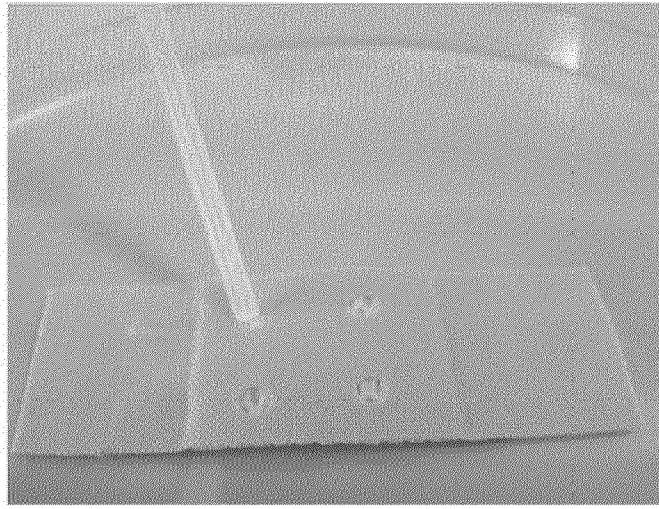


Fig. 9c

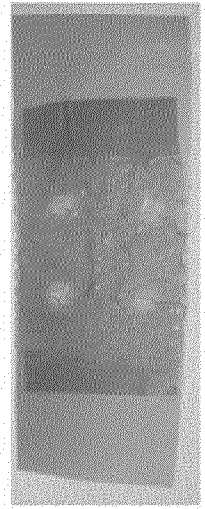


Fig. 10

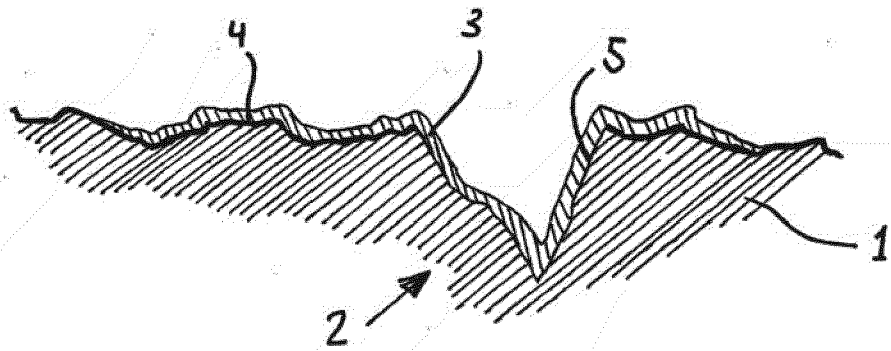


Fig. 11

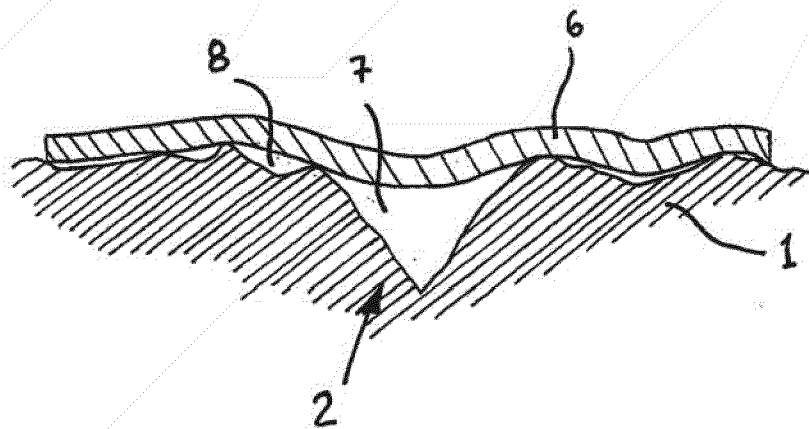


Fig. 12

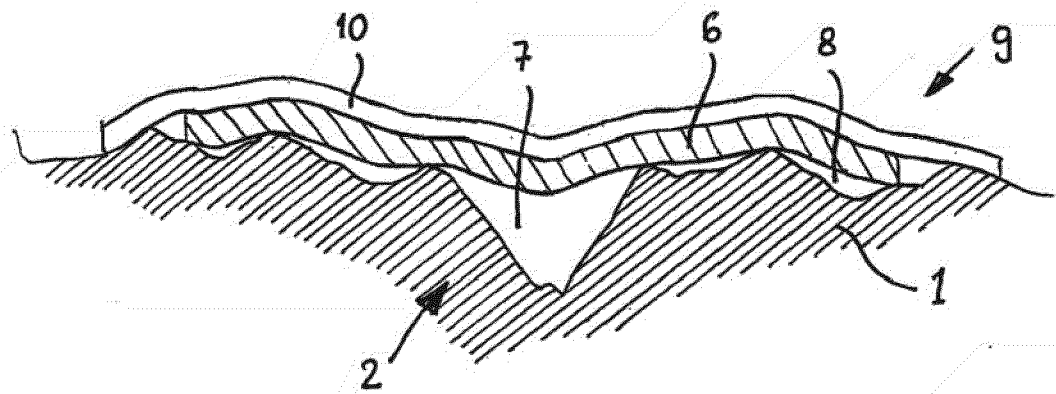
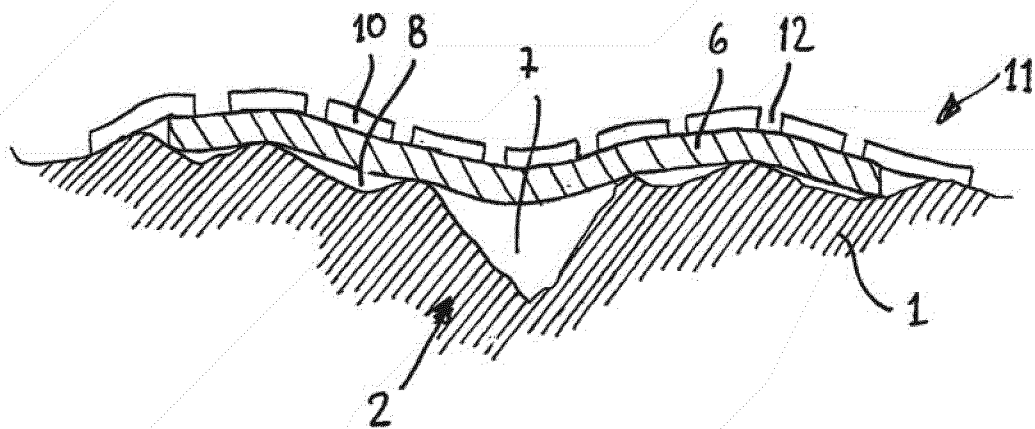


Fig. 13



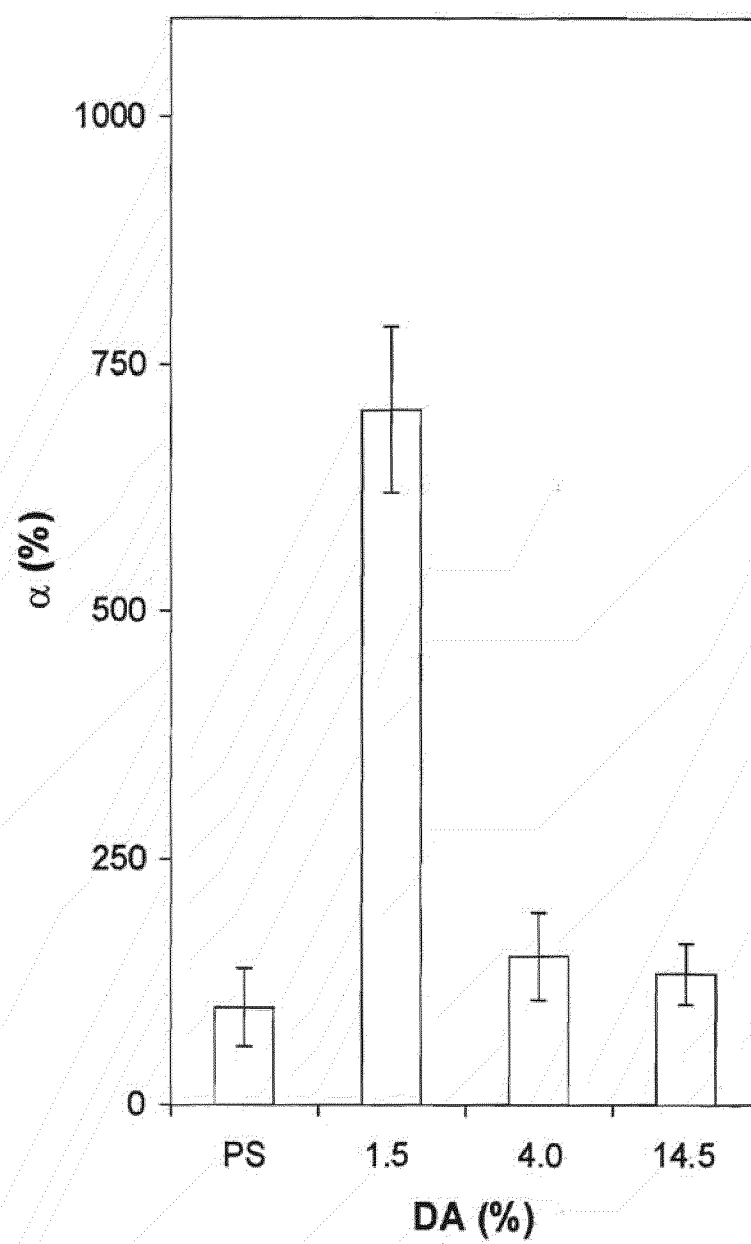
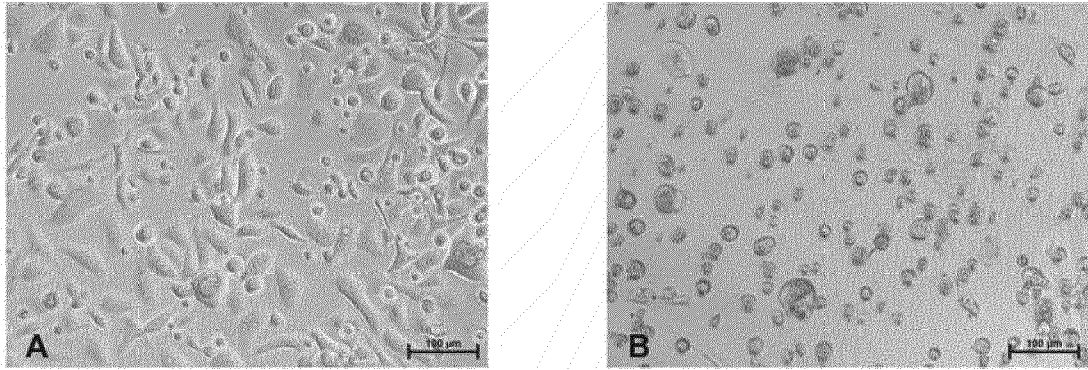


Fig. 14

Fig. 15



REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCION

La lista de referencias citadas por el solicitante es, únicamente, para conveniencia del lector. No forma parte del documento de patente europea. Si bien se ha tenido gran cuidado al recopilar las referencias, no pueden excluirse errores u omisiones y la OEP declina toda responsabilidad a este respecto.

Documentos de patente citados en la descripción

- WO 2009028865 A1 [0004]

Literatura no patente citada en la descripción

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • SHIGEMASA ; MINAMI. Applications of chitin and chitosan for biomaterials. <i>Biotech. Genetic. Eng. Rev.</i>, 1996, vol. 13, 383 [0003] • KUMAR. A review of chitin and chitosan applications. <i>React. Funct. Polym.</i>, 2000, vol. 45 (1), 1 [0003] • SINGH ; RAY. Biomedical applications of chitin, chitosan and their derivatives. <i>J. Macromol. Sci.</i>, 2000, vol. C40 (1), 89 [0003] | <ul style="list-style-type: none"> • LAVERTU et al. A validated ¹H NMR method for the determination of the degree of deacetylation of chitosan. <i>J. Pharm. Biomed. Anal.</i>, 2003, vol. 32, 1149 [0025] • Ph. Eur. [0083] |
|---|---|