



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 286 497**

51 Int. Cl.:  
**A61L 15/44** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **03795068 .0**

86 Fecha de presentación : **10.09.2003**

87 Número de publicación de la solicitud: **1536845**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **08.06.2005**

54 Título: **Materiales de apósito para heridas que comprenden complejos de polisacáridos aniónicos con plata.**

30 Prioridad: **11.09.2002 GB 0221062**  
**30.09.2002 US 414381 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**01.12.2007**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**01.12.2007**

73 Titular/es: **Johnson & Johnson Medical Ltd.**  
**Erskine House, 68-73 Queen Street**  
**Edinburgh EH2 4NH, GB**

72 Inventor/es: **Cullen, Breda Mary;**  
**Addison, Deborah;**  
**Greenhalgh, David;**  
**Esseler, Alicia y**  
**Gregory, Sarah-Jayne**

74 Agente: **Carpintero López, Francisco**

ES 2 286 497 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

Materiales de apósito para heridas que comprenden complejos de polisacáridos aniónicos con plata.

5 La presente invención se refiere a materiales de apósito para heridas que comprenden complejos formados entre polisacáridos aniónicos, tales como celulosa oxidada regenerada (ORC), y plata, y a los usos de los mismos para el tratamiento de heridas.

10 Los polisacáridos aniónicos tales como alginatos, ácido hialurónico y sus sales, y celulosas oxidadas tales como celulosa oxidada regenerada (ORC) se conocen por su uso como materiales de apósito para heridas. Los alginatos y ORC son hemostáticos cuando se aplican a una herida.

15 El documento EP-A-0437095 describe la preparación de un material textil de ORC neutralizado haciendo reaccionar ORC con una disolución tamponada de una sal de un ácido débil, tal como acetato de sodio. Se dice que el uso de un reactivo tamponado da como resultado una descomposición menor de los materiales textiles de ORC. La ORC neutralizada puede ayudar a otros agentes hemostáticos sensibles a ácidos tales como trombina o t-PA.

20 El documento WO98/00180 describe el uso de esponjas liofilizadas de colágeno mezcladas con celulosa oxidada regenerada (ORC) para el tratamiento de heridas crónicas. Las esponjas mezcladas proporcionan una cicatrización potenciada de heridas crónicas tales como úlceras varicosas, úlceras de decúbito y úlceras diabéticas. La memoria descriptiva menciona que la clorhexidina o sulfadiazina de plata pueden estar presentes como un aditivo antiséptico.

25 El documento GB-A-748283 describe complejos de polisacáridos con diversos metales, incluyendo plata. El documento WO91/11206 describe el uso de sales de alginato de plata en apósitos para heridas. El documento WO87/05517 describe sales de plata de ácido hialurónico que pueden usarse como en apósitos para heridas antimicrobianos.

30 El documento WO02/43743 describe apósitos para heridas que comprenden una sal de plata de un polisacárido aniónico, y que comprenden adicionalmente una sustancia para mejorar la fotoestabilidad de la sal de plata. La sustancia estabilizante puede incluir amoniaco, sales de amonio, tiosulfatos, cloruros y/o peróxidos. En una realización preferida, el agente estabilizante es cloruro de amonio acuoso.

35 El documento WO00/09173 describe composiciones antimicrobianas que comprenden un complejo de plata con una amina primaria, secundaria o terciaria, en las que el complejo está asociado con uno o más polímeros hidrófilos. La concentración de plata en la composición es preferiblemente desde el 0,5% hasta el 5% en peso. Los polímeros hidrófobos pueden incluir carboximetilcelulosa de sodio.

El documento WO96/13282 describe apósitos para heridas de alginato, en los que el alginato puede incorporar alginato de plata. La cantidad de plata no está especificada.

40 Y. S. Choi *et al.* en Journal of Materials Science. Materials in Medicine, Chapman y Hall, Londres, Vol. 12 No. 1, 2001, páginas 67-73 describen esponjas de gelatina/alginato que contienen opcionalmente sulfadiazina de plata. La cantidad de plata de sulfadiazina de plata no está especificada.

45 Y. S. Cho *et al.* en Journal of Materials Science. Materials in Medicine, Chapman y Hall, Londres, Vol. 13, No. 9, 2002, páginas 861-865 describen apósitos para heridas de espuma de poliuretano que incorporan ácido hialurónico y sulfadiazina de plata.

50 El documento WO02/24240 describe materiales de apósito para heridas antimicrobianos que comprenden una mezcla de fibras complejadas con plata con fibras que no contienen plata. Unos ejemplos describen una mezcla de plata-carboximetilcelulosa (plata-CMC) con CMC pura en los que las mezclas contienen el 0,5%, el 1,0% y el 2,0% en peso de plata. Otro ejemplo describe mezclas de alginato de plata/fibras de alginato de calcio que contienen plata en un nivel promedio del 0,6% en peso.

55 El documento WO02/36866 describe apósitos para heridas que comprenden fibras de CMC y/o alginato en los que un compuesto de plata, por ejemplo, partículas de hidrogenozirconiofosfato de sodio y plata, se dispersan en el mismo. La cantidad preferida de plata es desde el 0,5% en peso hasta el 2% en peso.

60 El documento WO01/24839 describe materiales de apósito para heridas que contienen plata que comprenden un entramado polimérico de estructura principal, un polisacárido no gelificable tal como goma de guar, y un antimicrobiano de plata incorporado en el mismo.

La presente invención proporciona un material de apósito para heridas que comprende un complejo de una celulosa oxidada con plata, en el que el material comprende desde el 0,1% en peso hasta el 0,3% en peso de plata.

65 El término "complejo" se refiere a una mezcla íntima a escala molecular, preferiblemente con enlace iónico o covalente entre la plata y la celulosa oxidada. El complejo preferiblemente comprende una sal formada entre la celulosa oxidada y  $Ag^+$ , pero puede también comprender agrupaciones de plata y/o metal de plata coloidal, por ejemplo producido mediante exposición del complejo a la luz.

## ES 2 286 497 T3

El termino "celulosa oxidada" se refiere a cualquier material producido por la oxidación de celulosa, por ejemplo con tetróxido de dinitrógeno. Tal oxidación convierte grupos de alcoholes primarios en los residuos de sacárido en grupos ácido carboxílicos, formando residuos de ácido urónico en la cadena de celulosa. La oxidación generalmente no se realiza con selectividad total, y como resultado los grupos hidroxilo en los carbonos 2 y 3 se convierten ocasionalmente en la forma ceto. Estas unidades ceto introducen una unión lábil a álcali, la cual a pH 7 o superior inicia la descomposición del polímero a través de la formación de una lactona y ruptura de un anillo de azúcar. Como resultado, la celulosa oxidada es biodegradable y bioabsorbible en condiciones fisiológicas.

La celulosa oxidada preferida para su uso en la presente invención es celulosa oxidada regenerada (ORC) preparada por oxidación de una celulosa regenerada, tal como rayón. Se ha sabido durante algún tiempo que la ORC tiene propiedades hemostáticas. La ORC ha estado disponible como un material textil hemostático denominado SURGICEL (marca registrada de Johnson & Johnson Medical, Inc.) desde 1950. Se produce este producto por la oxidación de un material de rayón de punto.

Preferiblemente, la celulosa oxidada es sustancialmente insoluble en agua a pH 7. Preferiblemente, la celulosa oxidada tiene un peso molecular superior a aproximadamente 20.000, más preferiblemente superior a aproximadamente 50.000. Preferiblemente, la celulosa oxidada está en la forma de una película, o fibras que tienen longitud superior a 1 mm.

Preferiblemente la cantidad de plata en el complejo es desde el 0,1% hasta el 50% en peso basándose en el peso de la celulosa oxidada, más preferiblemente desde el 1% hasta el 40%, todavía más preferiblemente desde el 2% hasta el 30% en peso, y lo más preferiblemente desde el 5% hasta el 25%.

Se ha descubierto que los complejos que contienen plata son adecuados para su uso en la preparación de materiales de apósito para heridas antimicrobianas. La plata confiere propiedades antimicrobianas al apósito para heridas. Más sorprendentemente, a bajas concentraciones del 0,1% en peso al 0,3% en peso, la plata muestra en el complejo un efecto proliferativo sobre las células de cicatrización de heridas y por tanto se espera que promueva la cicatrización de heridas incluso cuando los complejos según la invención se aplican directamente a una herida. Se conoce el efecto oligodinámico de la plata sobre células en cultivo, esto se refiere normalmente a afectar al crecimiento tanto de bacterias como de células. Por tanto, es sorprendente descubrir que la plata en los apósitos de la presente invención puede tener el efecto contrario sobre determinadas células de importancia para la cicatrización de heridas.

También se ha descubierto, sorprendentemente, que los materiales de apósito para heridas que contienen los niveles inferiores de plata mencionados anteriormente muestran una capacidad sorprendente para inhibir la producción de TNF- $\alpha$  e IL-1. Se espera que esto de como resultado propiedades antiinflamatorias beneficiosas de los materiales de apósito para heridas.

Los materiales de apósito para heridas según la presente invención pueden estar en cualquier forma conveniente, tal como un polvo, microesferas, copos, una estera o una película.

En ciertas realizaciones, el material de apósito para heridas según la presente invención está en la forma de un semisólido o pomada de gel para la aplicación tópica.

En ciertas realizaciones, el material de apósito para heridas según la presente invención está en la forma de esponja bioabsorbible liofilizada o de secado al disolvente para su aplicación a una herida crónica. Preferiblemente, el tamaño de poro promedio de la esponja está en la región de 10-500  $\mu\text{m}$ , más preferiblemente aproximadamente 100-300  $\mu\text{m}$ .

Aún en otras realizaciones, el material de apósito para heridas según la presente invención está en la forma de una película flexible, que puede ser continua o interrumpida (por ejemplo, perforada). La película flexible comprende preferiblemente un plastificante para convertirla en flexible, tal como glicerol.

Preferiblemente, el material de apósito para heridas está en la forma de una lámina, por ejemplo una lámina de espesor sustancialmente uniforme. El área de la lámina es normalmente desde 1  $\text{cm}^2$  hasta 400  $\text{cm}^2$ , y el espesor normalmente desde 1 mm hasta 10 mm. La lámina puede ser por ejemplo una esponja liofilizada, o una lámina fibrosa tejida o no tejida, de punto o una lámina de gel. Preferiblemente, la lámina comprende menos del 15% en peso de agua.

Preferiblemente, el material de apósito para heridas comprende desde el 0,1% en peso hasta el 10% en peso del complejo que contiene plata, más preferiblemente desde el 0,1% en peso hasta el 5% en peso, por ejemplo desde el 0,2% en peso hasta el 2% en peso. La cantidad de plata en el material de apósito para heridas es desde el 0,1% en peso hasta el 0,3% en peso, preferiblemente desde más del 0,1% en peso hasta 0,3% en peso, y por ejemplo desde el 0,2% en peso hasta el 0,3% en peso. Cantidades inferiores de plata podrían dar lugar a un efecto antimicrobiano insuficiente. Cantidades superiores de plata podrían dar lugar a efectos antiproliferativos en células de cicatrización de heridas.

Los materiales de apósito para heridas según la presente invención pueden comprender además uno o más polisacáridos que no se han complejado a plata. Estos polisacáridos pueden incluir uno o más polisacáridos aniónicos cualquiera seleccionados a partir de alginatos, hialuronatos, pectinas, carrageninas, gomas de xantano, dextranos sul-

## ES 2 286 497 T3

fatados, derivados de celulosa tales como carboximetilcelulosas, y celulosas oxidadas. Los otros polisacáridos pueden comprender adicional o alternativamente cualquier otro polisacárido médicamente aceptable, tal como por ejemplo celulosa, celulosas regeneradas tales como rayón, derivados de celulosa no aniónicos tales como hidroxietilcelulosa, y derivados de almidón.

5 Los materiales de apósito para heridas según la presente invención pueden comprender adicionalmente polisacáridos aniónicos que se han complejado a iones metálicos terapéuticamente eficaces diferentes de plata, por ejemplo, bismuto, cobre, níquel, zinc, manganeso, magnesio, oro, o mezclas de los mismos. Preferiblemente, la cantidad de tales polisacáridos complejados a otros metales es desde el 0,001 hasta el 10% en peso del apósito, más preferiblemente desde el 0,01 hasta el 1% en peso del apósito. Preferiblemente, la cantidad de dichos otros metales es desde 10 hasta 10000 ppm, más preferiblemente desde 50 hasta 1000 ppm en el apósito.

15 Los materiales de apósito para heridas según la presente invención pueden comprender adicionalmente otros materiales médicamente aceptables además de polisacáridos, incluyendo fibras textiles tales como nailon o fibras cortadas de poliéster, fibras no textiles tales como fibras de nailon ablandadas por soplado, y fibras bioreabsorbibles tales como fibras de poliáctido/poliglicólido. Las otras fibras pueden proporcionar refuerzo y dilución del polisacárido. Las otras fibras están presentes preferiblemente en una cantidad hasta aproximadamente el 90% en peso, más preferiblemente desde el 25% hasta el 75% en peso de los materiales de apósito para heridas.

20 Los materiales de apósito para heridas según la presente invención preferiblemente comprenden además colágeno, además del complejo de plata de una celulosa oxidadada. Preferiblemente la cantidad de colágeno en el apósito es desde el 10% hasta el 90% en peso basándose en el peso seco de los materiales de apósito para heridas, más preferiblemente desde el 25% hasta el 75%.

25 El colágeno puede seleccionarse de colágenos nativos tales como colágenos nativos de tipos I, II o III, colágeno atelopectídico, colágeno regenerado y gelatina.

30 En ciertas realizaciones el apósito según la presente invención puede reabsorberse en su totalidad. Preferiblemente, los materiales de apósito para heridas según la presente invención son adecuados para la aplicación directamente a una superficie de una herida.

35 Materiales de apósito para heridas preferidos según la presente invención son versiones que contienen plata de los apósitos según los documentos WO98/00180 o EP-A-1153622. En resumen, estos apósitos son esponjas liofilizadas que comprenden una mezcla de colágeno y ORC, y que preferiblemente están constituidos esencialmente por una mezcla de este tipo. Preferiblemente, la proporción en peso de colágeno a ORC es de 40:60 a 60:40. En las esponjas según la presente invención, se sustituye una parte de la ORC por un complejo de plata/ORC.

40 Materiales de apósito para heridas especialmente adecuados son esponjas liofilizadas que comprenden desde el 35% en peso hasta el 60% en peso de ORC, desde el 60% en peso hasta el 35% en peso de un colágeno, y desde el 0,5% hasta el 2% en peso de un complejo de ORC/plata, en las que el complejo comprende desde el 10% en peso hasta el 40% en peso de plata basándose en el peso en seco del complejo. En realizaciones preferidas, los materiales están constituidos esencialmente por el colágeno, ORC, y complejo ORC/plata.

45 En otro aspecto, la presente invención proporciona un apósito para heridas que comprende un material de apósito para heridas según la invención. El apósito para heridas puede estar constituido por, o estar constituido esencialmente por el material de apósito para heridas según la invención.

50 El apósito para heridas está preferiblemente en forma de lámina y comprende una capa activa del material de apósito para heridas según la invención. La capa activa sería normalmente la capa en contacto con la herida durante su uso, pero en algunas realizaciones podría separarse de la herida mediante una lámina superior permeable a líquidos. Preferiblemente, el área de la capa activa es desde 1 cm<sup>2</sup> hasta 400 cm<sup>2</sup>, más preferiblemente desde 4 cm<sup>2</sup> hasta 100 cm<sup>2</sup>.

55 Preferiblemente, el artículo comprende además una lámina de refuerzo que se extiende sobre la capa activa opuesta al lado que da a la herida de la capa activa. Preferiblemente, la lámina de refuerzo es más grande que la capa activa de modo que una región marginal de anchura de 1 mm a 50 mm, preferiblemente de 5 mm a 20 mm se extiende alrededor de la capa activa para formar el denominado apósito con isla. En tales casos, la lámina de refuerzo está revestida preferiblemente con un adhesivo de calidad médica sensible a la presión en al menos su región marginal.

60 Preferiblemente, la lámina de refuerzo es sustancialmente impermeable a líquidos. La lámina de refuerzo es preferiblemente semipermeable. Es decir, la lámina de refuerzo es preferiblemente permeable a vapor de agua, pero no es permeable a agua líquida o exudado de la herida. Preferiblemente, la lámina de refuerzo es también impermeable a microorganismos. Las láminas de refuerzo conformables continuas adecuadas tendrán preferiblemente una tasa de transmisión del vapor de humedad (MVTR) de la lámina de refuerzo sola de 300 a 5000 g/m<sup>2</sup>/24 h, preferiblemente de 500 a 2000 g/m<sup>2</sup>/24 h a 37,5°C al 100% para una diferencia de humedad relativa del 10%. El espesor de la lámina de refuerzo está preferiblemente en el intervalo de 10 micrómetros a 1000 micrómetros, más preferiblemente de 100 micrómetros a 500 micrómetros.

## ES 2 286 497 T3

La MVTR del apósito según la presente invención como un todo es inferior a la de la lámina de refuerzo sola, porque la lámina de orificios obstruye parcialmente la transferencia de humedad a través del apósito. Preferiblemente, la MVTR del apósito (medida a través de la parte de isla del apósito) es desde el 20% hasta el 80% de la MVTR de la lámina de refuerzo sola, más preferiblemente desde el 20% hasta el 60% de la misma, y lo más preferiblemente de aproximadamente el 40% de la misma. Se ha descubierto que tales tasas de transmisión del vapor de humedad permiten que cicatrice la herida bajo el apósito en condiciones húmedas sin hacer que macere la piel que rodea a la herida.

Polímeros adecuados para formar la lámina de refuerzo incluyen poliuretanos y poli(acrilatos de alcoxiálquilo) y metacrilatos tales como los descritos en el documento GB-A-1280631. Preferiblemente, la lámina de refuerzo comprende una capa continua de una espuma de poliuretano bloqueado de alta densidad que es predominantemente de células cerradas. Un material de la lámina de refuerzo adecuado es la película de poliuretano disponible bajo la marca registrada ESTANE 5714F.

La capa de adhesivo (cuando está presente) debe transmitir el vapor de humedad y/o modelarse para permitir el paso de vapor de agua a su través. La capa de adhesivo es preferiblemente una capa de adhesivo sensible a la presión, que transmite el vapor de humedad, continua del tipo usado convencionalmente para los apósitos para heridas del tipo con isla, por ejemplo, un adhesivo sensible a la presión a base de copolímeros de éster de acrilato, polivinil etil éter y poliuretano, tal como se describe por ejemplo en el documento GB-A-1280631. El peso base de la capa de adhesivo es preferiblemente de 20 g/m<sup>2</sup> a 250 g/m<sup>2</sup>, y más preferiblemente de 50 g/m<sup>2</sup> a 150 g/m<sup>2</sup>. Se prefieren los adhesivos sensibles a la presión a base de poliuretano.

Pueden integrarse capas adicionales de un artículo absorbente de múltiples capas entre la capa activa y la lámina protectora. Por ejemplo, estas capas pueden comprender una película de plástico de orificios para proporcionar soporte para la capa activa durante su uso, en cuyo caso los orificios en la película se alinean preferiblemente coincidiendo con los orificios en la capa de hidrogel.

El apósito puede comprender además una capa absorbente entre la capa activa y la lámina protectora, especialmente si el apósito es para uso sobre heridas con exudación. La capa absorbente opcional puede ser cualquiera de las capas usadas convencionalmente para absorber fluidos de heridas, suero o sangre en la técnica de la cicatrización de heridas, incluyendo gasas, materiales textiles no tejidos, materiales superabsorbentes, hidrogeles y mezclas de los mismos. Preferiblemente, la capa absorbente comprende una capa de espuma absorbente, tal como una espuma de poliuretano hidrófilo de células abiertas preparada según el documento EP-A-0541391. En otras realizaciones, la capa absorbente puede ser una banda de fibras no tejida, por ejemplo una banda cardada de fibras cortadas de viscosa. El peso base de la capa absorbente puede estar en el intervalo de 50 - 500 g/m<sup>2</sup>, tal como 100 - 400 g/m<sup>2</sup>. El espesor no comprimido de la capa absorbente puede estar en el intervalo de desde 0,5 mm hasta 10 mm, tal como de 1 mm a 4 mm. La absorbencia de líquido libre (no comprimido) medida para solución salina fisiológica puede estar en el intervalo de 5 g/g a 30 g/g a 25°C. Preferiblemente, la capa o capas absorbentes son sustancialmente coextensivas a la capa de quitosano/ORC.

La superficie que da a la herida del apósito está protegida preferiblemente por una lámina de cubierta que puede retirarse. La lámina de cubierta está formada normalmente de material termoplástico flexible. Materiales adecuados incluyen poliésteres y poliolefinas. Preferiblemente, la superficie que da al adhesivo de la lámina de cubierta es una superficie desprendible. Es decir, una superficie que es sólo débilmente adherente a la capa activa y al adhesivo en la lámina de refuerzo para ayudar a despegar la capa de hidrogel de la lámina de cubierta. Por ejemplo, la lámina de cubierta puede estar formada por un plástico no adherente tal como un fluoropolímero, o puede dotarse con un revestimiento desprendible tal como revestimiento desprendible de fluoropolímero o silicona.

Preferiblemente, los materiales de apósito para heridas y/o los apósitos para heridas según la presente invención son estériles. Preferiblemente, están envasados en un recipiente impermeable a microorganismos. Preferiblemente, el nivel de garantía de esterilidad es superior a 10<sup>-6</sup>. Preferiblemente, el apósito se esteriliza por radiación gamma.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso de un complejo de una celulosa oxidada con plata para la preparación de un material que comprende desde el 0,1% en peso hasta el 0,3% en peso de plata para su uso en el tratamiento de heridas, especialmente heridas crónicas tales como úlceras varicosas, úlceras varicosas, úlceras de decúbito o úlceras diabéticas. Preferiblemente, el tratamiento comprende aplicar el material de apósito para heridas directamente a la superficie de la herida.

También se ha descubierto que los materiales según la presente invención son sorprendentemente eficaces para inhibir la liberación de TNF- $\alpha$  de macrófagos. Se espera que esta propiedad convierta a los materiales en eficaces en el tratamiento de la inflamación. En consecuencia, en un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso de un complejo de una celulosa oxidada con plata para la preparación de un material que comprende desde el 0,1% en peso hasta el 0,3% en peso de plata para su uso en el tratamiento de la inflamación.

El complejo de una celulosa oxidada y plata contenida en los materiales de la presente invención puede prepararse mediante un procedimiento que comprende la etapa de tratar una celulosa oxidada con una disolución de una sal de plata. Preferiblemente, la disolución es una disolución acuosa.

Preferiblemente, la celulosa oxidada es sustancialmente insoluble en agua a pH 7, y por tanto el tratamiento se lleva a cabo sobre el polisacárido en el estado sólido. Por ejemplo, el polisacárido puede estar en la forma de fibras sólidas,

## ES 2 286 497 T3

lámina, esponja o material textil. En ciertas realizaciones, la celulosa oxidada es una sal y por tanto el tratamiento puede considerarse como un intercambio de iones. En otras realizaciones, la celulosa oxidada está al menos parcialmente en forma de ácido libre, en cuyo caso la sal de plata es preferiblemente una sal de un ácido débil, por ejemplo acetato de plata, mediante el que se neutraliza al menos parcialmente la celulosa oxidada por la sal de plata. Se describen procedimientos similares en el documento EP-A-0437095.

La reacción de neutralización puede llevarse a cabo en agua o alcohol sólo pero preferiblemente se lleva a cabo en mezclas de agua y alcoholes. El uso de una mezcla de agua y alcohol proporciona buena solubilidad para las sales de ácido débil mediante el agua, y el alcohol evita que la celulosa oxidada se hinche, distorsione y debilite excesivamente durante la neutralización. Así, se conservan las propiedades físicas del material. El metanol es el alcohol preferido porque muchas de las sales anteriormente mencionadas tienen buena solubilidad en este alcohol en combinación con agua. Preferiblemente, la proporción de alcohol a agua tiene un intervalo de aproximadamente 4:1 a 1:4. Si la disolución se vuelve demasiado rica en alcohol, algunas sales pueden dejar de ser solubles particularmente si el alcohol es distinto a metanol. Si la disolución se vuelve demasiado rica en agua, puede producirse algún hinchamiento del polisacárido cuando tiene lugar la neutralización y habrá alguna pérdida en las propiedades físicas tales como resistencia a la tracción del polisacárido. Otros alcoholes útiles incluyen, por ejemplo, alcohol etílico, alcohol propílico y alcohol isopropílico.

El uso de un agente de neutralización suave tal como un acetato de plata permite el control del grado de neutralización. El uso de cantidades estequiométricamente y químicamente equivalentes de agente de neutralización y ácido carboxílico en la celulosa oxidada no produce un polisacárido neutralizado al 100% tal como se produciría con reacciones irreversibles fuertes con bases tales como hidróxido de sodio, carbonato de sodio, bicarbonato de sodio e hidróxido de amonio.

Las celulosas oxidadas se comportan como un intercambiador de iones y sacarán de la disolución el catión plata de cualquier sal de plata que se pasa sobre ellos. El producto secundario de este intercambio es un ácido de la sal y usando una sal de un ácido orgánico débil, se produce un ácido débil tal como ácido acético que no daña al polisacárido. El uso de sales de ácidos fuertes tales como cloruro de sodio o sulfato de sodio produce productos secundarios de ácido clorhídrico o ácido sulfúrico respectivamente, y estos ácidos fuertes pueden producir daño tal como despolimerización de la celulosa oxidada.

Cuando se usan sales de plata de ácidos débiles, el ión plata se intercambia por un protón en la celulosa oxidada y parte de la sal se convierte a ácido débil. La mezcla de ácido y sal en la disolución da como resultado una disolución tamponada que mantiene un pH bastante constante y controla el grado de neutralización. Se establece una reacción de equilibrio por la que los iones plata se unen a la parte ácida de la celulosa oxidada y también a las moléculas de la sal. Este reparto de los iones plata evita que se complete la neutralización de la celulosa oxidada.

El uso de una cantidad estequiométrica de, por ejemplo, acetato de plata proporciona aproximadamente un grado de neutralización de 65-75% de los grupos del ácido carboxílico en un polímero de celulosa oxidada. Este control de pH mediante la producción de una disolución tamponada autogenerada y el uso de metanol para controlar el hinchamiento del material, conduce a un material parcialmente neutralizado en el que se conservan las propiedades físicas, por ejemplo, resistencia a la tracción y forma de la celulosa oxidada.

La cantidad de sal de plata usada es generalmente aproximadamente igual a o hasta el doble de la cantidad estequiométrica del contenido en ácido carboxílico de la celulosa oxidada. Como alternativa, puede usarse una segunda carga de una cantidad estequiométrica de sal de plata si se recarga la reacción con disolvente reciente y la sal tras la primera carga alcanza un pH constante. Entonces se lava el material con pH elevado para eliminar el exceso de sal de plata e iones del mismo.

Se apreciará que los complejos que pueden obtenerse mediante los procedimientos descritos anteriormente pueden usarse en los productos y procedimientos según cualquier aspecto de la invención. Más generalmente, cualquier característica o combinación de características que se describe como preferidas en conexión con cualquier aspecto de la invención o en conexión con los procedimientos anteriormente descritos se prefiere también en conexión con otro aspecto cualquiera de la invención. Además, cualquier combinación de las características preferidas o específicas descritas en el presente documento también se engloba en el alcance de la descripción.

Una realización específica del procedimiento y producto según la presente invención se describirá ahora adicionalmente, a modo de ejemplo, con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

la figura 1 muestra el efecto antimicrobiano frente a *Staphylococcus aureus*, representado gráficamente como zona de inhibición en mm a los 2 días, para un primer intervalo de materiales de material de apósito para heridas;

la figura 2 muestra el efecto antimicrobiano frente a *Staphylococcus Aureus*, representado gráficamente como zona de inhibición en mm a las 24 y 48 horas, para un segundo intervalo de materiales de material de apósito para heridas;

la figura 3 muestra el efecto antimicrobiano frente a *Pseudomonas Aeruginosa*, representado gráficamente como zona de inhibición en mm a las 24 y 48 horas, para el segundo intervalo de materiales de material de apósito para heridas;

## ES 2 286 497 T3

la figura 4 muestra el efecto sobre la proliferación celular de extractos de un tercer intervalo de materiales de material de apósito para heridas; y

la figura 5 muestra una gráfica de la concentración de TNF- $\alpha$  frente al tiempo para los siguientes materiales de apósito para heridas incubados con lipopolisacáridos y macrófagos monocitos: (A) un material de apósito para heridas según la invención, (B) disolución de acetato de plata 0,01 M, (C) un apósito de colágeno/ORC liofilizado sin plata, y (D) una gasa de apósito para heridas convencional.

### 10 Ejemplo de referencia 1

Se preparó un complejo de ORC con plata tal como sigue.

Se molió una tela SURGICEL<sup>®</sup> (Johnson & Johnson Medical, Arlington) usando una cortadora de cuchillas giratorias a través de una placa de selección, manteniendo la temperatura por debajo de 60°C, para proporcionar un polvo de ORC fibroso.

Se disolvió polvo de acetato de plata (4,08 g) en 800 ml de agua desionizada. Tras disolverse todo el polvo para formar una disolución transparente, incolora, se añadieron las fibras molidas de ORC (5 g) a esta disolución. Se dejó que la ORC reaccionara durante sesenta minutos, o inferior si se desea. Se filtró entonces la disolución y se recogieron las fibras y se lavaron con agua desionizada o bien con alcohol. Se dejó que el complejo de plata de ORC se secase a 37°C durante la noche o hasta que se secaron las fibras. Para reducir el oscurecimiento del producto final, se protegieron la disolución y las fibras que han reaccionado de la luz a lo largo de la reacción.

### 25 Ejemplos de referencia 2-5, ejemplo 6, y ejemplo de referencia 7

Se prepararon esponjas de colágeno/ORC liofilizadas adecuadas para su uso como materiales de apósito para heridas tal como sigue.

En primer lugar, se preparó el componente de colágeno a partir de dermis bobina tal como sigue. Se dividió la dermis bovina de cuero de vaca, se raspó y se empapó en una disolución de hipoclorito de sodio (0,03% p/v) para inhibir la actividad microbiana en espera de procesamiento adicional.

Se lavó entonces la dermis con agua y se trató con una disolución que contenía hidróxido de sodio (0,2% p/v) y peróxido de hidrógeno (0,02% p/v) para hinchar y esterilizar la dermis a temperatura ambiente.

Se sometieron las fracciones de dermis a una etapa de tratamiento en álcali en una disolución que contenía hidróxido de sodio, hidróxido de calcio y bicarbonato de sodio (0,4% p/v, 0,6% p/v y 0,05% p/v, respectivamente) a pH superior a 12,2, temperatura ambiente, y durante un tiempo de 10-14 días, con rotación, hasta que se alcanzó un nivel de nitrógeno de amida inferior a 0,24 mmol/g.

Se sometieron entonces las fracciones de dermis a una etapa de tratamiento en ácido con ácido clorhídrico al 1% a temperatura ambiente y pH de 0,8-1,2. Se continuó el tratamiento con rotación hasta que las fracciones de dermis absorbieron suficiente ácido para alcanzar un pH inferior a 2,5. Se lavaron entonces las fracciones con agua hasta que el valor de pH de las fracciones de dermis alcanzó 3,0-3,4.

Se trituraron entonces las fracciones de dermis con hielo en una picadora con platillo en primer lugar con un ajuste de trituración gruesa y después de trituración fina. La pasta resultante, que se ha realizado en una proporción de 650 g de las fracciones de dermis a 100 g de agua, como hielo, se congeló y almacenó antes de su uso en la siguiente etapa del procedimiento. Sin embargo, no se liofilizó el colágeno antes de la mezcla con la ORC en la siguiente fase.

Se añadieron el complejo de plata-ORC, polvo de ORC molido sin modificar, y el peso requerido (según el contenido en sólidos) de pasta de colágeno congelada a una cantidad suficiente de agua acidificada con ácido acético para obtener un valor de pH de 3,0 y un contenido en sólidos total de 1,0%-2,0%, en las siguientes proporciones en peso:

- |                          |   |
|--------------------------|---|
| Ejemplo de referencia 2: | 45% plata-ORC / 55% colágeno              |
| Ejemplo de referencia 3: | 20% plata-ORC + 15% ORC / 55% colágeno    |
| Ejemplo de referencia 4: | 10% plata-ORC + 35% ORC / 55% colágeno    |
| Ejemplo de referencia 5: | 2% plata-ORC + 43% ORC / 55% colágeno     |
| Ejemplo 6:               | 1% plata-ORC + 44% ORC / 55% colágeno     |
| Ejemplo de referencia 7: | 0,2% plata-ORC + 44,8% ORC / 55% colágeno |

## ES 2 286 497 T3

Se homogeneizó la mezcla a través de un homogenizador MZ130D de Fryma, reduciendo progresivamente los parámetros para formar una suspensión homogénea. Se mantuvo el pH de la suspensión a 2,9-3,1. Se mantuvo la temperatura de la suspensión por debajo de 20°C, y se mantuvo el contenido en sólidos al 1% ± 0,07.

5 Se bombeó la suspensión resultante hasta un vaso de degasificación. Se inició el vacío durante un mínimo de 30 minutos con agitación intermitente, para degasificar la suspensión. Se bombeó la suspensión entonces dentro de bandejas liofilizadoras hasta una profundidad de 25 mm. Se colocaron las bandejas sobre las estanterías de un liofilizador en el que se ha preseleccionado la temperatura a -40°C. Se inició entonces el programa del liofilizador para secar y reticular deshidrotermalmente el colágeno y ORC para formar almohadillas de esponja espesas.

10 Tras completar el ciclo, se liberó el vacío, se retiraron los bloques liofilizados, y se dividieron entonces para eliminar las capas de la superficie superior e inferior, y para dividir lo que queda de los bloques en almohadillas de 3 mm de espesor. La etapa de dividir los bloques liofilizados en almohadillas se llevó a cabo con una cortadora longitudinal K1 de Fecken Kirfel.

15 Finalmente, se troquelaron las almohadillas hasta el tamaño y forma deseados en un troquel, se envasaron, y se esterilizaron con 18-29 kGy de irradiación gamma de cobalto 60. Sorprendentemente, esta irradiación no produce una desnaturalización significativa del colágeno, que parece estabilizarse por la presencia de ORC. Las almohadillas de ORC de colágeno liofilizadas resultantes tienen un aspecto aterciopelado, blanco, uniforme.

20

### Procedimiento 1

25 Se sometió a prueba la actividad bacteriana de las esponjas preparadas en los ejemplos 2 a 7 en *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* observando la zona de inhibición.

30 Se cortaron seis cuadrados de 2 cm x 2 cm de cada muestra en condiciones estériles. En el día uno de los cultivos del experimento tanto de *Pseudomonas aeruginosa* como de *Staphylococcus aureus* se incubaron aeróbiamente a 37°C durante 24 horas sobre agar para el diagnóstico de la sensibilidad (Diagnostic Sensitivity Agar) (DSA). Tras 24 horas se colocó cada muestra de prueba sobre una placa de DSA y se humectaron inmediatamente con 0,5 ml de una disolución tampón. Se colocaron tres cuadrados de muestra sobre placas inoculadas con *Pseudomonas aeruginosa* y se colocaron tres sobre placas inoculadas con *Staphylococcus aureus*. Después se incubaron las placas a 37°C durante 24 horas. Después se midió la zona de crecimiento inhibido alrededor de la muestra usando calibres y se colocó la muestra de prueba sobre una nueva placa de DSA inoculada. Se llevó a cabo una prueba de hisopo sobre el área por debajo de la muestra para determinar si la muestra era bacteriostática si no bactericida frotando el hisopo sobre una placa de DSA e incubándola durante 24 horas y después examinando el crecimiento. Se transfirieron las muestras sobre placas inoculadas recientes llevando a cabo el procedimiento anterior cada 24 horas durante 72 horas siempre que las muestras permaneciesen intactas.

40 Como control negativo, se sometió a prueba una esponja liofilizada de 45% ORC/55% colágeno sin nada de plata. Se usaron un apósito antimicrobiano que contiene plata disponible comercialmente (ACTICOAT, marca registrada de Smith & Nephew) y una disolución de nitrato de plata (0,5%) como controles positivos y se observaron las zonas de inhibición para ambos durante el periodo de prueba.

45 En referencia a las figuras 1 y 2, puede verse que se observaron efectos bactericidas significativos frente a *Staphylococcus aureus* para los materiales que contienen 0,2% plata-ORC y superiores. El resultado fue comparable al del apósito ACTICOAT.

50 En referencia a la figura 3, puede verse que se observaron efectos bactericidas significativos frente a *Pseudomonas aeruginosa* para los materiales que contienen 10% plata-ORC y superiores. El resultado a las 24 horas fue superior al del apósito ACTICOAT.

### Procedimiento 2

55

Los efectos antiproliferativos del apósito de los ejemplos anteriores se evaluaron como sigue.

Se prepararon extractos de prototipo tal como sigue: se colocó 1 mg de cada material de apósito para heridas que va a someterse a prueba en 1 ml de medio libre de suero y se incubaron durante 4 horas a 37°C en condiciones estériles.

60

Se hicieron crecer fibroblastos dérmicos de ser humano adulto y se mantuvieron en DMEM; FBS al 10% (medio de cultivo convencional; medio esencial mínimo de Dulbecco; suero bovino fetal). Estas células se subcultivaron de forma rutinaria y se usaron para pruebas experimentales cuando eran confluentes en un 95%. Se recogieron fibroblastos dérmicos de ser humano adulto a una confluencia del 95% y se sembraron de nuevo en una placa de microtitulación de 96 pocillos (100 µl/pocillo) en DMEM + FBS al 10% a una densidad de célula de 2,5 x 10<sup>4</sup> células/ml. Se dejó que las células se adhirieran a la superficie de la placa durante 24 horas en un incubador humidificado a 37°C, CO<sub>2</sub> al 5%. Se retiró entonces el medio por aspiración y la monocapa celular se lavó con DMEM libre de suero. Se añadieron entonces muestras de prueba (extractos de cada prototipo) a la monocapa celular (100 µl/pocillo), y se sometieron a

65

## ES 2 286 497 T3

prueba 6 duplicados de cada concentración. Se uso medio de crecimiento que contiene suero (FBS al 10% en DMEM) como control positivo, y se uso medio libre de suero como control negativo. Se incubaron todas las muestras con las células durante 48 horas a 37°C, CO<sub>2</sub> al 5%. Tras este periodo de incubación se retiró el medio acondicionado mediante aspiración y se sustituyó con una disolución marcadora de un kit de proliferación celular comercial (XTT, Cell Proliferation kit II, número de catálogo 1 465 015, obtenido de Boehringer Mannheim). Una vez que se añadió esta disolución se obtuvo una lectura de absorbancia inicial a 450 nm, tras la cual se incubó la placa de microtitulación a 37°C, CO<sub>2</sub> al 5% y se monitorizó la absorbancia durante 4 horas. Se evaluó el efecto proliferativo de cada prototipo comparando las lecturas de absorbancia medidas frente a los controles positivo y negativo.

10 Como control positivo, se sometió a prueba una esponja liofilizada de 45% ORC/55% colágeno sin nada de plata, puesto que se sabía que esto promovía la proliferación de fibroblastos.

Se uso ACTICOAT como control negativo, puesto que en general se sabe que el efecto de la plata sobre células en cultivo era tóxico produciéndose la muerte celular a altas concentraciones.

15 Los resultados mostrados en la figura 4 fueron muy sorprendentes. Puede observarse que las muestras que contienen el 0,2% y el 1% del complejo de plata-ORC promueven fuertemente la proliferación de fibroblastos. Este efecto fue al menos el doble que el observado con colágeno/ORC solo que ha mostrado previamente que estimula la proliferación celular. Este efecto estimulador está limitado aparentemente a concentraciones inferiores de plata-ORC, puesto que concentraciones del 2% y superiores fueron perjudiciales para el crecimiento celular. El control ACTICOAT en este experimento muestra el efecto negativo esperado sobre la proliferación de fibroblastos.

### Procedimiento 3

25 Se estudió el potencial antiinflamatorio de los materiales de apósito para heridas según la invención tal como sigue.

Se ha demostrado que los lipopolisacáridos (LPS) inducen la producción de TNF- $\alpha$  e IL-1 en células de macrófagos monocitos. Esta respuesta puede usarse para evaluar el potencial antiinflamatorio de apósitos para heridas, puesto que se sabe que TNF- $\alpha$  e IL-1 potencian el proceso de inflamación.

30 Para evaluar las propiedades antiinflamatorias de los materiales de apósitos para heridas, se incubaron las muestras en presencia y ausencia de lipopolisacárido (*E. Coli* 055.B5, Sigma Chemical Co.) con macrófagos monocitos (células THP-1 de la colección europea de cultivos celulares). Como controles positivo y negativo, diversos materiales de apósito y concentraciones variables de acetato de plata de referencia se incubaron también con células THP-1 en presencia y ausencia de LPS. Las concentraciones de acetato de plata oscilaban desde 0,01 M hasta 0,001 mM. Se sabe que el acetato de plata es citotóxico a las concentraciones más altas en este intervalo y no tienen toxicidad en el extremo inferior. Se midieron los niveles tanto de TNF- $\alpha$  como IL-1 producidos por las células THP-1 durante un periodo de tiempo de 24 horas tras la adición de LPS.

40 Se sometieron a prueba los siguientes materiales de apósito para heridas:

- 45 (A) Un material de apósito para heridas de esponja liofilizada según la presente invención que contiene el 1% en peso de un complejo de plata/ORC, preparado tal como se describe anteriormente en el ejemplo 6;
- (B) Una esponja liofilizada que consiste en el 55% en peso de colágeno y el 45% de ORC preparada tal como se describe en el documento EP-A-1 153622 y disponible bajo la marca registrada PROMOGRAN de cuidado de heridas de Johnson & Johnson (ejemplo de control); y
- 50 (C) Una gasa médica disponible bajo la marca registrada SOF-WICK de cuidado de heridas de Johnson & Johnson (ejemplo de control).

El procedimiento experimental fue tal como sigue.

55 Se mantuvieron las células THP-1 en FBS al 10% con bajo contenido en LPS. Después se centrifugaron las células 1000 rpm durante 10 minutos y se volvieron a suspender para proporcionar una concentración de 10.000 células por ml. Se añadió entonces PMA (forbol 12-miristato 13-acetato, Sigma Chemical Co.) a la suspensión celular para proporcionar una concentración final de  $2,4 \times 10^{-7}$  M. Esta suspensión celular se uso entonces para sembrar placas de microtitulación de 24 pocillos con 10.000 células/pocillo. Se incubaron entonces las placas a 36°C, CO<sub>2</sub> al 5% durante 60 72 horas para permitir la adherencia de células al plástico de cultivo tisular.

Se preparó a continuación el medio RPMI que contiene 1 mg/ml de LPS (LPS se reconstituyó a 1 mg/ml en solución salina tamponada de fosfato estéril). Tras la incubación, el medio de PMA en las placas de microtitulación de 24 pocillos se retiró mediante aspiración y se sustituyó con RPMI + LPS o medio RPMI solo. Se retiraron muestras de perforación de 6 mm de los materiales que van a someterse a prueba y se empaparon en PBS durante no más de 2 minutos. Se muestrearon dos especímenes de cada tipo de material de apósito cuatro veces para proporcionar un total de ocho muestras para cada tipo de apósito. Se prepararon las disoluciones de acetato de plata en medios RPMI para proporcionar concentraciones de 0,1 M, 10 mM, 1 mM y 0,1 mM.

## ES 2 286 497 T3

Se añadieron entonces las biopsias de apósitos empapados previamente y concentraciones diferentes de acetato de plata a la placa de microtitulación. Se añadieron 10  $\mu$ l de cada disolución de acetato de plata a cada pocillo de prueba proporcionando concentraciones de prueba de 0,01 M, 1 mM, 0,1 mM y 0,01 mM.

5 Las placas de microtitulación se incubaron entonces a 37°C, CO<sub>2</sub> al 5%. Tras una incubación de 4, 6 y 24 horas, se retiraron alícuotas de 20  $\mu$ l de medios acondicionados de cada pocillo. Se transfirieron las muestras a tubos de bala y se almacenaron a -70°C hasta realizar análisis ELISA.

10 Antes del análisis ELISA, se dividieron las muestras de medios en alícuotas de 10  $\mu$ l y se diluyeron 1:2 con diluyente patrón (el diluyente patrón usado dependía del análisis ELISA realizado). Esta dilución dio muestras dentro del intervalo de curva normalizada. Se siguieron las instrucciones del fabricante para los kits de ELISA. Se suministraron los kits de ELISA por R&D Systems Limited.

15 Se representaron gráficamente las curvas normalizadas tanto para TNF- $\alpha$  como IL-1 $\beta$  y se usaron las ecuaciones generadas para transformar absorbancias de muestra a las concentraciones de citocina equivalentes. Se calcularon las concentraciones promedio tanto de TNF- $\alpha$  como de IL-1 $\beta$  para cada condición de muestra en cada punto de tiempo. Estos resultados se usaron entonces para comparar diferencias entre condiciones de prueba con el tiempo.

20 A niveles citotóxicos (0,01 M) el acetato de plata indujo la muerte celular y por tanto no se produjo TNF- $\alpha$ . A niveles citotóxicos (0,1 mM, y 0,001 mM) las células THP-1 permanecieron viables (tal como se determinó mediante examen microscópico) y se indujo una respuesta de dosis en la cantidad de TNF- $\alpha$  producida. El acetato de plata 0,01 mM demostró una capacidad para inhibir la cantidad de TNF- $\alpha$  producida, mientras que las concentraciones más bajas de acetato de plata estudiadas no tenían ningún efecto sobre la cantidad de TNF- $\alpha$  producida tras la estimulación con LPS.

25 En referencia a la figura 5, puede observarse que los diversos apósitos sometidos a prueba han demostrado diferentes capacidades para influenciar la cantidad de TNF-alfa producido por células THP-1. La gasa (muestra C) tuvo poco efecto, y las células en presencia de este apósito produjeron el mismo nivel de TNF- $\alpha$  tal como se vio en el control positivo (sólo LPS).

30 Las células en presencia de un apósito de esponja de colágeno/ORC libre de plata (muestra B) produjeron niveles inferiores de la citocina inflamatoria que los observados con LPS sólo.

35 Sin embargo, cuando un material de apósito de esponja de colágeno/ORC que contiene plata según la presente invención (muestra A) estuvo presente en el pocillo de ensayo, las células THP-1 no produjeron virtualmente nada de TNF- $\alpha$ . La inhibición por el material según la presente invención fue, sorprendentemente, incluso mejor que el alcanzado con concentraciones de acetato de plata (0,01 M) equivalentes a las presentes en el material.

40 Los resultados para IL-1 $\beta$  (datos no mostrados) fueron similares a los mostrados para TNF- $\alpha$ .

45 Los resultados indican una capacidad del material según la presente invención para inhibir la producción de citocinas inflamatorias importantes por THP-1 macrófagos monocitos. Se mostró que este efecto se sostenía a lo largo del periodo de prueba de 24 horas y sugiere que el material de la presente invención tiene una capacidad para influenciar la producción de citocinas durante un marco de tiempo prolongado. La actividad antiinflamatoria del material según la presente invención no pudo predecirse a partir de los dos componentes solos.

50 Los ejemplos se han descrito sólo para fines de ilustración. Muchas otras composiciones y procedimientos que caen dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas serán evidentes para lector experto.

50

55

60

65

## ES 2 286 497 T3

### REIVINDICACIONES

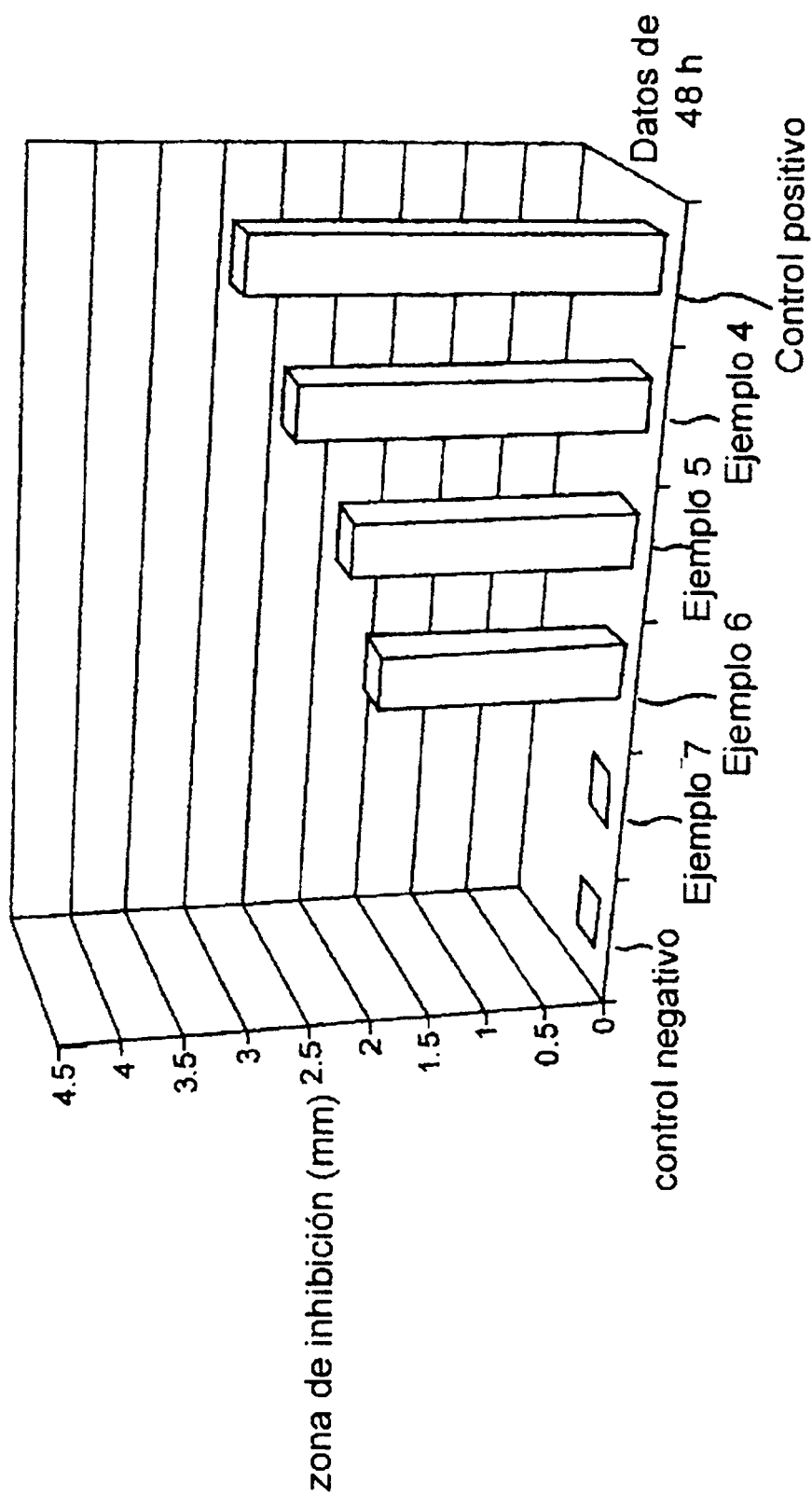
- 5 1. Un material de apósito para heridas que comprende un complejo de una celulosa oxidada con plata, comprendiendo el material desde el 0,1% en peso hasta el 0,3% en peso de plata.
2. El material de apósito para heridas según la reivindicación 1, en el que el complejo comprende una sal formada entre la celulosa oxidada y  $Ag^+$ .
- 10 3. El material de apósito para heridas según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la cantidad de plata en el complejo es desde el 1% hasta el 50% en peso basado en el peso de la celulosa oxidada.
4. El material de apósito para heridas según la reivindicación 1 en la forma de una lámina que comprende menos del 15% en peso de agua.
- 15 5. El material de apósito para heridas según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, comprendiendo el material de apósito para heridas desde el 0,1% en peso hasta el 10% en peso del complejo.
- 20 6. El material de apósito para heridas según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la cantidad de plata en el material de apósito para heridas es desde el 0,2% en peso hasta el 0,3% en peso.
7. El material de apósito para heridas según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la celulosa oxidada es una celulosa oxidada regenerada (ORC).
- 25 8. El material de apósito para heridas según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, comprendiendo el material de apósito para heridas colágeno y celulosa oxidada regenerada (ORC) complejada con plata.
- 30 9. Un apósito para heridas según la reivindicación 8, en el que el material de apósito para heridas es una esponja liofilizada que comprende desde el 35% en peso hasta el 60% en peso de colágeno, desde el 60% en peso hasta el 35% de una celulosa oxidada regenerada (ORC) y desde el 0,5% en peso hasta el 2% en peso de un complejo ORC/plata, en el que el complejo comprende desde el 10% en peso hasta el 40% en peso de plata.
10. Un apósito para heridas que comprende un material de apósito para heridas, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores.
- 35 11. El apósito para heridas según la reivindicación 10, comprendiendo el apósito para heridas estéril y está envasado en un recipiente impermeable a microorganismos.
- 40 12. El uso de un complejo de una celulosa oxidada con plata para la preparación de un material que comprende desde el 0,1% en peso hasta el 0,3% en peso de plata para su uso en el tratamiento de heridas.
13. El uso según la reivindicación 12, en el que dichas heridas son heridas crónicas tales como úlceras varicosas, úlceras de decúbito o úlceras diabéticas.
- 45 14. El uso según la reivindicación 12 ó 13, en el que dicho tratamiento comprende aplicar dicho material de apósito para heridas directamente a la superficie de la herida.
- 50 15. El uso de un complejo de una celulosa oxidada con plata para la preparación de un material que comprende desde el 0,1% en peso hasta el 0,3% en peso de plata para su uso en el tratamiento de inflamación.

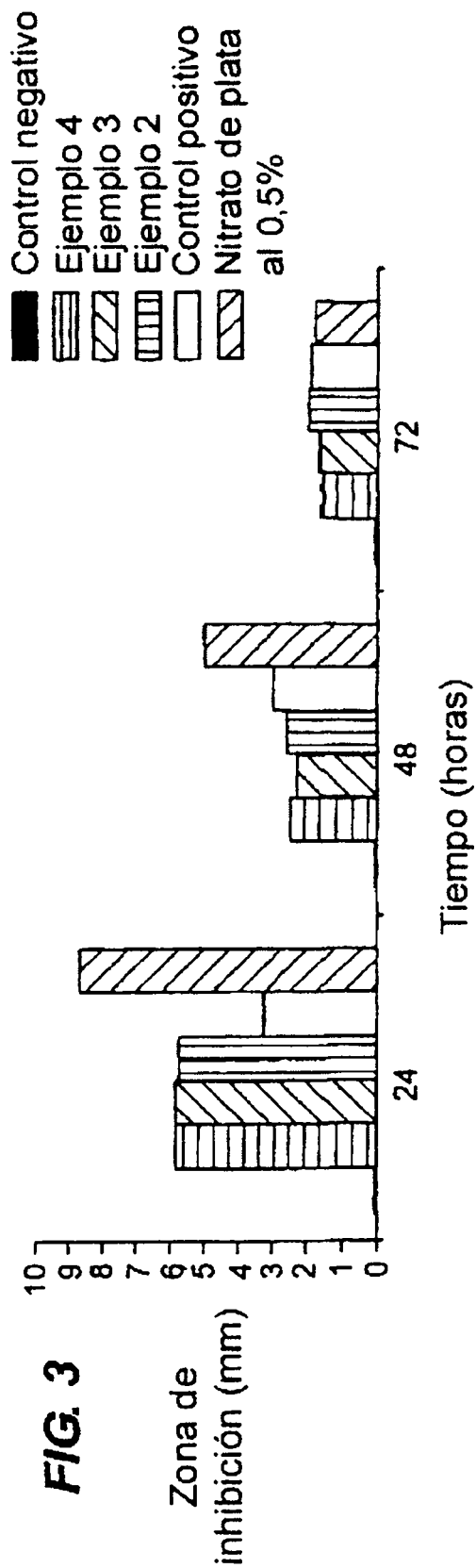
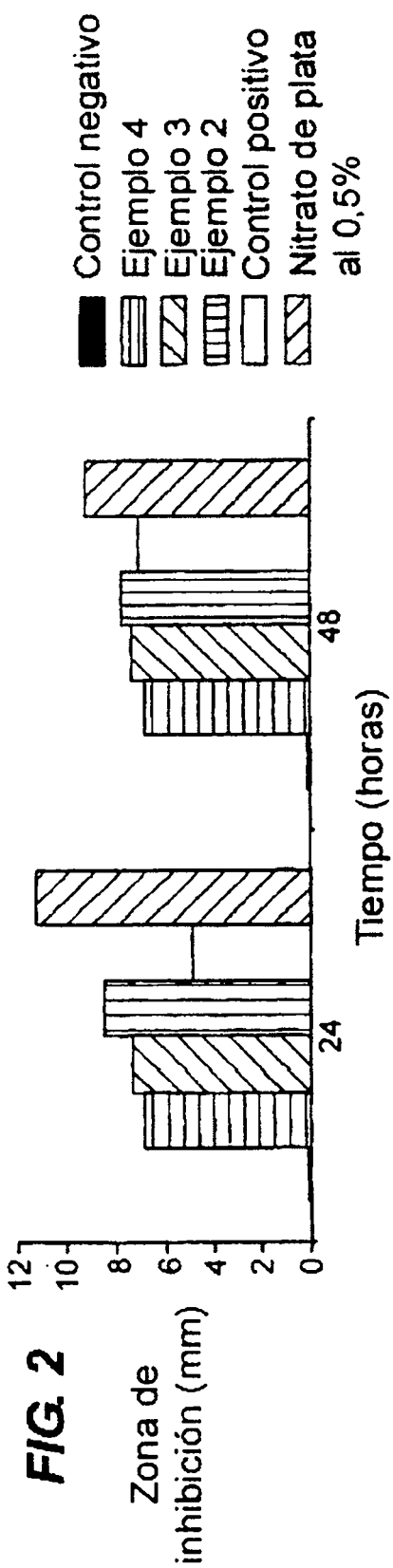
55

60

65

**FIG. 1**





**FIG. 4**

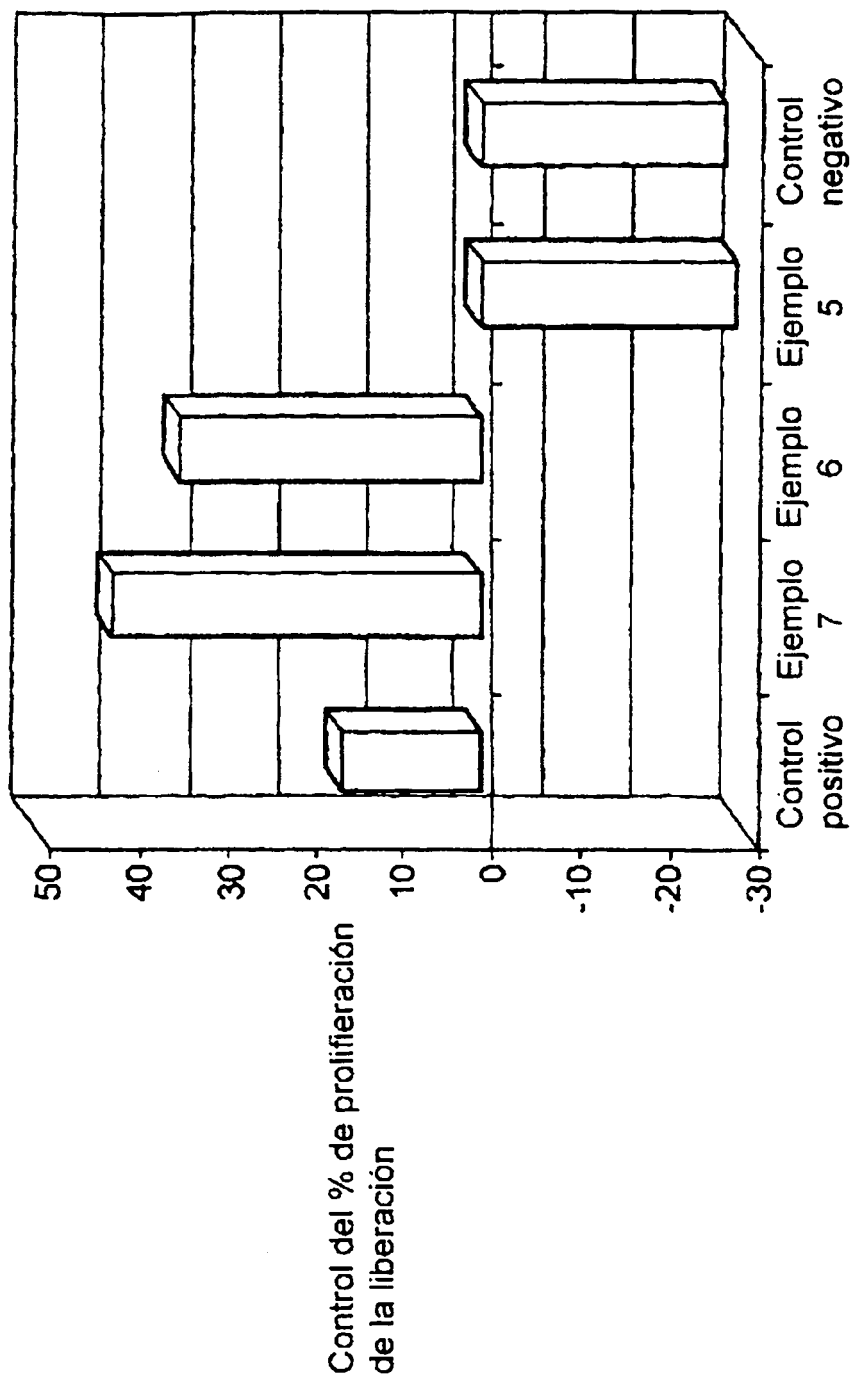


FIG. 5

