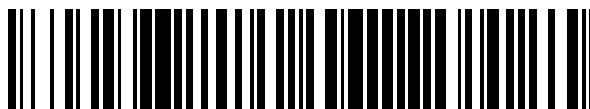


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 932 437**

51 Int. Cl.:

**A61L 15/32** (2006.01)

**A61L 15/42** (2006.01)

**A61L 26/00** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.07.2011** **PCT/GB2011/001102**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.01.2012** **WO12010848**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.07.2011** **E 11746600 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.09.2022** **EP 2595668**

54 Título: **Fibras, proceso para producir las fibras y apósito para heridas que las incorpora**

30 Prioridad:

**22.07.2010 GB 201012333**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la  
traducción de la patente:  
**19.01.2023**

73 Titular/es:

**CONVATEC TECHNOLOGIES INC. (100.0%)**  
**3993 Howard Hughes Parkway Suite 250**  
**Las Vegas, NV 89169-6754, US**

72 Inventor/es:

**BALLAMY, LUCY, LOUISA;**  
**LAM PO TANG, SHARON;**  
**HERBE, MARION;**  
**ROGERS, ALAN y**  
**KELLY, SEAN**

74 Agente/Representante:

**MARTÍN SANTOS, Victoria Sofia**

ES 2 932 437 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

Fibras, proceso para producir las fibras y apósito para heridas que las incorpora

5 Descripción de la Invención

La presente invención se refiere a las fibras y en particular al uso de las mismas en apósitos para heridas para la reducción de la actividad dañina de los componentes de exudado de heridas tales como enzimas que degradan proteínas y mediadores inflamatorios en heridas, y a un método para preparar las fibras. Las fibras se usan particularmente para unir, secuestrar o inhibir los componentes perjudiciales presentes en el entorno de una herida crónica. Las fibras son de preferencia fibras multicomponente que comprenden pectina y muy preferiblemente pectina y gelatina.

La presencia de componentes derivados de inflamación, tales como enzimas que degradan proteínas (proteasas), mediadores lípidos y similares, en un ambiente de herida puede ser perjudicial, cuando existen en exceso, para la progresión de la sanación de la herida. Existen dos clases principales de proteasas, las metaloproteinasas de matriz (MMP, por sus siglas en inglés) y las elastasas, las cuales actúan en conjunto para ser efectivas en degradar tejido corporal. Por ejemplo, la síntesis de un tejido de granulación nuevo puede verse inhibida por niveles elevados de enzimas que podrían impedir el proceso de sanación. Por lo tanto, se ha considerado deseable reducir estos niveles elevados o excesivos de componentes derivados de inflamación del ambiente de la herida para mejorar la sanación de la herida. La sanación de una herida puede observarse por la mejora visual del lecho de la herida (formación de nuevo tejido de granulación) y una reducción en el tamaño de la herida.

En el pasado, se propuso un número de apósitos para heridas con un propósito de modular proteasas en una herida. Estos apósitos incluyen Promogran™ (Systagenix wound Management), una composición de celulosa regenerada y oxidada con colágeno liofilizada en forma de una lámina de matriz que se gelifica al hacer contacto con exudado de herida. Sin embargo está dirigida sólo a MMPs. Biostep™ (Smith & Nephew), un apósito de heridas de matriz de colágeno compuesto de colágeno, alginato de sodio, carboximetilcelulosa y ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) está en forma de un apósito de lámina de matriz y también se dirige a MMPs. El Tegaderm™ Matrix (3M) que tiene como sus ingredientes activos una mezcla de sales metálicas que se asegura modulan MMPs está en forma de una lámina de matriz. Aparte de la especificidad para MMPs, todos estos apósitos tienen una capacidad de manejo de fluidos limitada en comparación con apósitos a base de fibras y particularmente aquellos a base de AQUACEL® (ConvaTec Inc).

En la técnica, se conocen apósitos que son ya sea específicos para una de las dos principales clases de proteinasas que se sabe que están presentes en heridas crónicas y por lo tanto son de efectividad limitada, o tienen capacidad de manejo de fluidos limitada, o son componentes de apósito en una forma que presenta dificultades prácticas, por ejemplo están en forma de polvo. Los polvos, si están sueltos en el apósito, pueden caer y tener que ser retirados por irrigación de la herida. Si están contenidos en cierto tipo de cavidad en el apósito o se usan como un componente embolsado separado no pueden ser cortados para ajustarse a la herida sin encontrar los problemas de polvo suelto. El documento US2002012693A describe un apósito que se dice tiene actividad reductora de proteasa el cual está compuesto de una matriz de soporte sobre la cual se incorporan inhibidores de elastasa péptida por enlace covalente. La composición está dirigida a elastasa únicamente. El documento US2006142242A Describe una composición de almidón de fosfato que se dice tiene capacidad de secuestro tanto de elastasa como de MMP pero se usa típicamente en forma de un polvo. En el documento de Edwards *et al* (2007) "Human neutrophil elastase and collagenase sequestration with phosphorylated cotton wound dressings" ["Secuestro de colagenasa y elastasa de neutrófilos humanos con apósitos para heridas de algodón fosforilado"] *Cotton Chemistry Utilization, Journal of Biomedical Materials Research parte A*, también se describieron una composición de algodón fosforilado con capacidad de reducción de aplicada a una simple gasa de algodón. El documento W007137733A y W009068249A describen un superabsorbente de poliacrilato (Paul Hartmann AG) que se dice tiene actividad inhibidora de MMP y buena capacidad de manejo de fluidos pero que parece ser activo contra MMPs únicamente. En el documento de Walker *et al* (2007) "In Vitro Studies to Show Sequestration of Matrix Metalloproteinases by Silver- Containing Wound Care Products" ["Estudios in vitro para mostrar el secuestro de metaloproteinasas de matriz por productos para el cuidado de heridas que contienen plata"] *Ostomy Wound Management* 2007; 53(9) :18-25, se describe la capacidad de varios productos para cuidado de heridas que incluyen un apósito Hydrofiber de carboximetilcelulosa (CMC) que contiene plata (Aquacel Ag) para reducir MMPs in vitro. También se remite al lector WO9610106 que describe un apósito para heridas formado por fibras que contienen alginato, gelatina, pectina y CMC.

Es por lo tanto deseable proporcionar fibras capaces de reducir en heridas la actividad perjudicial de un número de componentes de exudado de herida, tales como enzimas que degradan proteínas y mediadores inflamatorios, y los cuales tengan ya sea propiedades inherentes de manejo de fluidos o puedan procesarse en un apósito para heridas con propiedades de manejo de fluidos adecuadas. Se han hecho ahora fibras a base de pectina que son adecuadas para su uso en el tratamiento de heridas para aliviar los problemas anteriores.

En consecuencia, la presente invención proporciona fibras multicomponente para la reducción en heridas de la actividad dañina de los componentes de tales como enzimas que degradan proteínas y mediadores inflamatorios, las

fibras comprenden: de 10% a 100% en peso de las fibras, de pectina y un material proteínico de protección en una proporción de peso de 90:10 a 10:90 de pectina a material proteínico de protección, en el que la pectina es pectina de metoxi bajo con un contenido de metoxilo inferior al 15 %, o pectina amidada con un grado de esterificación en un rango del 10 al 30 % y un grado de amidación comprendido entre el 10 y el 30 %; y de 0 % a 90 % en peso de las fibras de otro polisacárido o un polímero soluble en agua, en el que el material proteínico de sacrificio se selecciona de gelatina, colágeno, suero, soja, caseína o albúmina.

Adecuadamente, las fibras también son capaces de reducir el nivel de actividad enzimática perjudicial en comparación con un control en al menos 25 %, más adecuadamente al menos 50 % y de preferencia en al menos 75 % cuando se mide por el método de MMP como se describe en el ejemplo 2 y en T = 0.

Además, la presente invención proporciona fibras de pectina multicomponente capaces de reducir el nivel de actividad enzimática perjudicial in vitro en al menos 25 % cuando se mide mediante el método de MMP tal y como se describe en el ejemplo 2 en T = 0.

Las fibras comprenden un material proteínico de protección seleccionado de gelatina, colágeno, proteína globular tal como proteína de suero, soja y leche, albúmina o caseína. La función del material proteínico de protección cuando está presente es la de ocupar al máximo las actividades catalíticas de las esta manera la actividad proteínica contra proteínas corporales. Preferiblemente, el material proteínico de protección es gelatina.

Para mejorar la integridad estructural de las fibras, pueden comprender otro polisacárido tal como alginato, quitosan o sus derivados, o derivados de celulosa, goma guar, goma xantánica, goma de algarrobo, dextrina, agar- agar, goma de celulosa u otro material a base de almidón, y para mejorar las capacidades de manejo de fluidos las fibras pueden comprender un polímero soluble en agua tal como poliácido, poliéster o poliamida. Para mejorar la función antibacteriana de las fibras, pueden comprender plata, oro y platino o sales de los mismos y/o agentes quelantes tales como EDTA o ácido cítrico. Las fibras también pueden comprender iones divalentes tales como calcio o zinc, magnesio, cobre o hierro y agentes reguladores de pH o un humectante o tensioactivo para mejorar la formación de textiles tal como polisorbato. Preferiblemente, las fibras comprenden de 75% a 100% en peso de las fibras o muy preferiblemente de 90% a 100% de pectina y un material proteínico de protección en una proporción de peso de 90:10 a 10:90 de pectina a material proteínico de protección. Preferiblemente, la proporción en peso de pectina a material proteínico de protección en las fibras es de 90:10 a 30:70, o de 80:20 a 50:50 y más preferiblemente 70:30. En un segundo aspecto de la presente invención, existe un apósito para heridas que comprende fibras de pectina multicomponente definidas en las reivindicaciones para su uso en la reducción en heridas de la actividad dañina de los componentes de exudado de heridas tales como enzimas que degradan proteínas y mediadores inflamatorios en las heridas.

Los apósitos para heridas de la presente invención pueden comprender otras fibras además de las fibras de pectina multicomponente tales como fibras de celulosa o derivados de celulosa. Las fibras pueden estar presentes como una mezcla homogénea de fibras multicomponente con fibras formadoras de textiles o gel o pueden estar presentes como una capa discreta en una construcción de apósito para heridas. El apósito puede comprender de 10% a 100% en peso de fibras de pectina multicomponente con 0% a 90% en peso de otra fibra formadora de gel tal como fibra CMC. Preferiblemente, el apósito puede comprender de 25% a 75% en peso de fibras de pectina multicomponente con 25% a 75% en peso de otra fibra formadora de gel, muy preferiblemente el apósito comprende una mezcla de 50% a 50%.

Las fibras de pectina multicomponente y adecuadas para su uso de acuerdo con la presente invención pueden prepararse mediante las siguientes etapas:

- (i) añadir pectina y un material proteínico de protección al agua para formar una masa; en donde la pectina es pectina de bajo metoxi con un contenido de metoxilo inferior al 15 %, o pectina amidada con un grado de esterificación en un rango de 10 a 30 % y un grado de amidación comprendido entre el 10 y el 30 % y en el que el material proteínico de sacrificio se selecciona entre gelatina, colágeno, suero, soja, caseína o albúmina;
- (ii) forzar la masa a través de una hilandera;
- (iii) entrelazar con una fuente de iones para formar fibras y
- (iv) secar las fibras.

Preferiblemente, la solución de masa se prepara a una concentración de 2 a 11% (p/v) al disolver pectina en agua caliente (40-80 °C) hasta que se obtenga una mezcla opaca homogénea seguida por enfriamiento a temperatura ambiente y reposo para estabilizar la viscosidad y eliminar burbujas de aire. El hilado para formar las fibras puede llevarse a cabo mediante hilado en húmedo convencional que incluye pasar la masa a través de una hilandera dentro de un baño de coagulación que puede estar compuesto de iones metálicos divalentes tales como cloruro de calcio o cloruro de zinc a una concentración de 0,5 a 35% (p/v). Después, las fibras de pectina obtenidas pueden ser

lavadas y estiradas en un baño de agua. Las fibras pueden ser enjuagadas con un solvente no acuoso miscible en agua tal como acetona, IDA, alcohol isopropílico o propan-2-ol para eliminar cualquier agua residual del núcleo de la fibra y facilitar el secado, seguidas por una etapa de secado a una temperatura generalmente debajo de 120 °C.

- 5 Alternativamente, se puede usar el electrohilado para producir nanofibras, por ejemplo, fibras que tienen un diámetro de unos pocos cientos de nanómetros.

La pectina adecuada para su uso en las fibras o la preparación de fibras de acuerdo con la invención es de preferencia ya sea metoxipectinas inferiores con un contenido de metoxilo de menos de 15%, o pectina anidada con un grado de esterificación en un intervalo de 10 a 30% y un grado de amidación comprendido entre 10 y 30%. El peso molecular de estas pectinas está de preferencia en un intervalo de 30.000 y 85.000 daltons para de esta manera optimizar la viscosidad requerida de la solución de masa y las propiedades de resistencia a la tracción de las fibras. La pectina adecuada es aquella disponible comercialmente como GENU Pectin Type LM-104 AS-FS antes CP Kelco que es una pectina estabilizada con azúcar. La gelatina útil en las fibras o en la preparación de las fibras de acuerdo con la invención es de preferencia gelatina tipo A. La gelatina adecuada es la disponible comercialmente como gelatina en polvo ex PB Leiner.

Según se usa en la presente, el término fibra significa un material orientado aleatoriamente tanto relativamente corto como discreto (conocido algunas veces como fibra corta) e hilos hechos a partir de la misma (conocidos algunas veces como hilo cortado) e hilo de filamento continuo relativamente largo y estructurado o fibra de filamento continuo. Las fibras pueden tener una longitud de fibra de 5 mm a 70 mm, usualmente 20 mm a 50 mm.

La invención se ilustra mediante los siguientes dibujos en los que la figura 1 muestra la actividad de MMP de varias fibras y sus componentes.

La invención se ilustra adicionalmente en los siguientes ejemplos:

#### **Ejemplo 1**

30 Las fibras multicomponentes según la invención se prepararon tal y como sigue a continuación.

Se prepararon 9 litros de solución de masa con 8% (p/v) de gelatina: pectina (30:70). Se añadieron lentamente 216 g de gelatina en polvo bajo agitación y homogeneizando en agua desionizada calentada previamente a 40 °C. La solución se dejó mezclar por un raspador y un homogeneizador durante 30 minutos a 40 °C. Después, se añadieron lentamente 504 g de pectina en polvo usando el mismo método que el de la gelatina y la mezcla se dejó agitar y homogeneizar durante 30 minutos más. Cuando la solución fue homogénea, se detuvo la agitación y se aplicó vacío a la solución durante 5 minutos a una presión de alrededor de 0,2 bares para eliminar así el exceso de aire de la mezcla. La solución se dejó enfriar y sedimentar durante aproximadamente 24 horas.

La solución de masa se transfirió a un tanque de 2 litros presurizado a 5 psi. El hilado se realizó a temperatura ambiente. Directamente después del tanque, la solución de masa se empujó a través de un filtro de candela compuesto de tela viscosa. Luego, la solución de masa se empujó a través de una manguera flexible hasta un filtro de malla montado en la hilandera antes de pasar a través de la hilandera. La hilandera tenía 500 orificios con un diámetro de 750µm y la velocidad de flujo de la bomba se estableció en 70 L/hora sobre tres hilanderas de 40 000 orificios cada una con un diámetro de orificio de 750µm. El baño de hilado era un baño de 10 litros de 5% (p/v) de cloruro de calcio deshidratado en agua desionizada para la primera prueba y un baño de 10 litros de 5% (p/v) de cloruro de zinc en agua desionizada para la segunda prueba. Después de dejar el baño de coagulación, los filamentos formados pasaron a través de cuatro baños de lavado diferentes; cada baño tenía una capacidad de 10 litros. El primer baño de lavado fue un baño con agua en donde se aplicó una proporción de extracción de 1:6, seguido de un baño con IDA (del inglés "*Industrial Denatured Alcohol*" o "*Alcohol Desnaturalizado Industrial*") acuoso al 25% (v/v). El tercer baño de agua se llenó con una solución acuosa de IDA al 50% (v/v) y el cuarto baño fue un baño acuoso de IDA al 75% (v/v). El baño final fue de 100% de IDA en el cual las fibras se dejaron durante aproximadamente 1 hora antes de ser retiradas, exprimidas manualmente y secadas en horno con ventilador a 40 °C. Los baños estaban separados por poleas que condujeron los filamentos a través de los siguientes baños y aplicaron un estiramiento a los filamentos. Se seleccionó una proporción de extracción de 1,6 entre la primera polea (salida del baño de coagulación) y el segundo baño.

Ambas carreras de hilado en calcio y en zinc proporcionaron filamentos que eran suaves y lo suficientemente resistentes como para ser procesados en apósitos para heridas. Las fibras eran físicamente comparables con otras fibras usadas en apósitos para heridas en términos de resistencia y diámetro. Las tablas 1 y 2 muestran detalles de resistencia medida por BSEN ISO 5079, 1996 y diámetro medido por SEM y herramienta de análisis de imágenes.

**Tabla 1. Resistencia de las fibras**

| Muestra | Fuerza máxima media (cN/fibra) | Extensión Promedio (%) |
|---------|--------------------------------|------------------------|
|---------|--------------------------------|------------------------|

| Muestra                                                           | Fuerza máxima media (cN/fibra) | Extensión Promedio (%) |
|-------------------------------------------------------------------|--------------------------------|------------------------|
| Fibras hiladas en $\text{CaCl}_2$                                 | 3,1 (3,6)                      | 9,0 (4,7)              |
| Fibras hiladas en $\text{ZnCl}_2$                                 | 4,0 (2,6)                      | 12,6 (5,1)             |
| Fibras de estopa de hidrofibra                                    | 5,9 (2,8)                      | 10,0 (2,9)             |
| Fibras de estopa de alginato                                      | 4,6 (0,9)                      | 11,8 (4,6)             |
| Nota: Los números entre paréntesis son las desviaciones estándar. |                                |                        |

**Tabla 2. Diámetro de las fibras**

| Muestra                           | Diámetro promedio de fibra (micras) | Desviación Estándar |
|-----------------------------------|-------------------------------------|---------------------|
| Fibras hiladas en $\text{CaCl}_2$ | 12,44                               | 1,13                |
| Fibras hiladas en $\text{ZnCl}_2$ | 15,66                               | 1,73                |
| Fibras de estopa de hidrofibra    | 11,56                               | 0,66                |
| Fibras de estopa de alginato      | 15,60                               | 4,22                |

5

### **Ejemplo 2**

Este ejemplo muestra la absorción de proteinasa de las fibras.

#### **Método de MMP**

Se colocaron muestras de 9 miligramos de las diferentes fibras en viales de 7 ml y a estas muestras se les añadieron 40  $\mu\text{l}$  de solución MMP pre-preparada. Estas muestras se dejaron reposar durante 2-3 minutos para asegurar que la enzima fuera completamente absorbida por el material. A estas muestras hidratadas se le añadieron 960  $\mu\text{l}$  de regulador de pH de reacción de ensayo MMP y las muestras se mezclaron suavemente con la mano. Después de otros 2 a 3 minutos más, 2 x 90  $\mu\text{l}$  de muestras se extrajeron de los viales y se transfirieron a pocillos individuales de una placa de multipocillos para su análisis posterior ( $T_0$ ). Los viales que contenían las muestras se dejaron reposar durante 2 horas a temperatura ambiente después de lo cual 2 x 90  $\mu\text{l}$  de muestras se extrajeron y procesaron tal y como se indicó anteriormente ( $T_{120}$ ). Se añadieron veinte microlitros de gelatina DQ previamente preparada a cada pocillo de la placas multipocillo (placas  $T_0$  y  $T_{120}$ ) y el cambio en los niveles de fluorescencia se midió durante un periodo de aproximadamente 30 minutos utilizando un espectrofotómetro para placas multipocillo Tecan F200. La reducción porcentual en la actividad MMP presente en los viales que contenían muestras se calculó a partir del nivel de fluorescencia detectado.

Se prepararon y analizaron en paralelo controles positivos y negativos apropiados, así como muestras en blanco.

El nivel de actividad MMP en el punto de tiempo  $T=0$  para todas las cuatro carreras de la fibra multicomponente es ampliamente comparable con aquél de Aquacel®. Sin embargo se observa una mejora para el punto de tiempo de  $T = 120$  minutos particularmente en aquellas fibras que contienen zinc. Esto sugiere que el efecto de modulación de MMP dura más en las fibras de la invención. La reducción en la actividad MMP es superior a la de estopa de CMC y estopa de Kaltostat en ambos puntos de tiempo. Los resultados se muestran en la tabla 3 (figura 1).

Estos resultados muestran el espectro de la actividad dañina de los componentes de exudado de herida provista por las fibras de esta invención.

35

### **Ejemplo 3**

Fibras fabricadas con el método del ejemplo 1 se observaron bajo microscopio electrónico de barrido ambiental para investigar sus propiedades de gelificación. Se encontró que las fibras demostraban hinchazón y gelificación moderadas, con algunas áreas mezclándose durante la fase de hidratación. La proporción de hinchamiento para las fibras hiladas en  $\text{CaCl}_2$  es mayor en 2,3 que la de las fibras hiladas en  $\text{ZnCl}_2$  (1,54).

40

**Ejemplo 4**

Las fibras fabricadas con el método del ejemplo 1 se procesaron en una forma de textil. Las fibras se cortaron en longitudes cortas de 55 mm, se abrieron manualmente usando cardas manuales y se cardaron usando una carda a escala piloto con un ancho de trabajo de 500 mm. Después se punzonaron con aguja en una cinta textil, con las características dadas en la tabla 5. El peso por área unitaria se midió gravimétricamente al pesar un tamaño de muestra conocido. La recuperación de humedad se midió gravimétricamente, después de un mínimo de 24 horas de acondicionamiento a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  y  $65 \pm 4\%\text{HR}$ , y después de secar durante 4 horas a  $105^\circ\text{C}$  en un horno con ventilador.

**Tabla 5. Características físicas de muestras textiles con 100 % de pectina/gelatina**

|                               | Muestra textil a partir de fibras hiladas en $\text{CaCl}_2$ | Muestra textil a partir de fibras hiladas en $\text{ZnCl}_2$ |
|-------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Peso por unidad de superficie | Muestra 1: 34,20 g/m <sup>2</sup>                            | 269,07 g/m <sup>2</sup>                                      |
|                               | Muestra 2: 119,20 g/m <sup>2</sup>                           |                                                              |
| Recuperar la humedad          | Muestra 2: 18,9%                                             | 18,4%                                                        |
| Espesor                       | Muestra 1: 1,27 mm                                           | 5,05 mm                                                      |
|                               | Muestra 2: 3,69 mm                                           |                                                              |

La absorbencia y retención de las muestras textiles fabricadas usando las fibras hiladas en cloruro de zinc se midieron usando una solución fisiológica recomendada por BP como un medio de hidratación. La absorbencia se mide al pesar una cantidad conocida de muestra (típicamente 5 cm x 5 cm), hidratando 20 veces su peso en el medio de hidratación, incubando a  $37^\circ\text{C}$  durante 30 minutos, drenando el exceso de fluido al sujetar la muestra con fórceps durante 30 segundos, y pesando la muestra hidratada y drenada. La retención se mide al aplicar el peso equivalente a 40 mmHg a la muestra hidratada y drenada después de que ha sido pesada, dejando durante 1 minuto y volviendo a pesar. Para evaluar más las capacidades de manejo de fluido, la capacidad del material para evitar dispersión lateral también fue evaluada. Lo anterior se realizó al sumergir una tira de 1,5 cm de ancho por 1 cm (a lo largo de una línea marcada) en una solución fisiológica recomendada por BP (solución A) que contenía colorante de eosina durante 1 minuto. Después del minuto, la muestra se retira y se mide la distancia de movimiento de fluido a partir de la línea marcada. La absorbencia, retención y absorción lateral del material producido se muestran en la tabla 6.

**Tabla 6. Propiedades de manejo de fluidos de muestras textiles 100 % pectina/gelatina**

|                                                 | Muestra textil a partir de fibras hiladas en $\text{ZnCl}_2$ |
|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Absorbencia por peso de muestra                 | 11,5 g/g                                                     |
| Absorbencia por área de muestra                 | 0,325 g/cm <sup>2</sup>                                      |
| Retención por peso de muestra                   | 6,0 g/g                                                      |
| Retención por área de muestra                   | 0,170 g/cm <sup>2</sup>                                      |
| Absorción lateral en la dirección de la máquina | 3,7 cm                                                       |
| Absorción lateral en dirección transversal      | 3,6 cm                                                       |

**Ejemplo 5**

Las fibras fabricadas con el método del ejemplo 1 se procesaron en una forma de textil en una mezcla al 50 % del material de estopa Hydrofibre, usando una ruta similar a la descrita en el ejemplo 4. Las características físicas, y características de manejo de fluidos, medidas según el ejemplo 4, se dan en la tabla 7.

**Tabla 7. Características físicas y de manejo de fluido de fibras mezcladas al 50%**

|  | Muestra textil mezclada al 50% a partir de fibras hiladas en $\text{CaCl}_2$ | Muestra textil mezclada al 50% a partir de fibras hiladas en $\text{ZnCl}_2$ |
|--|------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
|--|------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|

|                                                 |                         |                         |
|-------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Peso por unidad de superficie                   | 160,5 g/m <sup>2</sup>  | 134,1 g/m <sup>2</sup>  |
| Recuperación de humedad                         | 17,3%                   | 16,8%                   |
| Espesor                                         | 5,05 mm                 | 4,68 mm                 |
| Absorbencia por peso de muestra                 | 17,7 g/g                | 14,5 g/g                |
| Absorbencia por área de muestra                 | 0,271 g/cm <sup>2</sup> | 0,248 g/cm <sup>2</sup> |
| Retención por peso de muestra                   | 9,3 g/g                 | 7,9 g/g                 |
| Retención por área de muestra                   | 0,151 g/cm <sup>2</sup> | 0,135 g/cm <sup>2</sup> |
| Absorción lateral en la dirección de la máquina | 1,5 cm                  | 1,9 cm                  |
| Absorción lateral en dirección transversal      | 1,5 cm                  | 1,7 cm                  |

Estos resultados muestran la ventaja de las fibras de acuerdo con la invención que se pueden procesar junto con fibras para apósitos convencionales para dar un apósito que tenga las ventajas combinadas de características de manejo de fluidos adecuadas y la reducción de actividad dañina de los componentes de heridas.

#### **Ejemplo 6**

Las fibras multicomponente de acuerdo con la invención se fabricaron en un proceso de hilado en húmedo similar a aquél descrito en el ejemplo 1 pero a una escala más pequeña. Las fibras tenían una gama de proporciones de componentes como se muestra a continuación.

| Proporción | Componente de fibra             |
|------------|---------------------------------|
| 10:90      | Gelatina: pectina               |
| 15:70:15   | Gelatina: Pectina: CMC en polvo |
| 15:70:15   | Gelatina: Pectina: Alginato     |

Preparación de soluciones de masa:

Se prepararon 300 ml de soluciones con 8 % de sólidos para cada componente al calentar 288 ml de agua desionizada a 40 °C en una placa caliente de agitación. La gelatina se añadió lentamente con agitación y una vez que se integró completamente se le añadieron los demás componentes, añadiéndose la pectina en último lugar. Todo se mezcló y homogeneizó lentamente hasta que todos los sólidos se hubieran disuelto y las soluciones se dejaron enfriar durante la noche.

#### **Matriz de Pesos Requeridos (g)**

| Gelatina | Pectina | Alginato | CMC | Agua DI |
|----------|---------|----------|-----|---------|
| 2,4      | 21,6    | -        | -   | 288 ml  |
| 3,6      | 16,8    | -        | 3,6 | 288 ml  |
| 3,6      | 16,8    | 3,6      | -   | 288 ml  |

#### **Método de hilado en húmedo**

La solución de masa se bombeó usando una bomba peristáltica a una velocidad de flujo baja (2,25 ml/min) a una hilandera que hiló las fibras en un baño de coagulación con cloruro de calcio al 5%. Las fibras se recogieron en un baño de 50:50 de IDA:agua. Después se lavaron en 100 % de IDA antes de secarse al aire en una campana extractora.

Todas las carreras de hilado proporcionaron filamentos que eran lo suficientemente suaves y resistentes como para

ser procesados en apósitos para heridas.

### **Ejemplo 7**

- 5 En este ejemplo se evaluó la capacidad de fibras multicomponente de acuerdo con la invención que van a ser formadas en apósitos para heridas, junto con las propiedades físicas del apósito resultante. Se usó un aparato de hilado de escala media para producir 80 g de cada tipo de estopa de fibras. Las fibras se hilaron ya sea en un baño de cloruro de calcio o un baño de cloruro de zinc. La estopa resultante fue abierta, cardada y tratada con aguja para producir una fibra no tejida. A partir de cada estopa, se produjeron dos almohadillas no tejidas, una con 100 % de fibras de acuerdo con la invención y una con 50 % de fibra de acuerdo con la invención y 50% de Hydrofibre® que es una fibra de carboximetilcelulosa producida a partir de Lyocell y disponible con el nombre de producto Aquacel (antes ConvaTec). Las almohadillas resultantes fueron irradiadas para evaluar cualquier cambio en las propiedades físicas clave.
- 10
- 15 Hilado en húmedo: El proceso de hilado en húmedo fue igual a aquél usado en el ejemplo 1. Una vez que las fibras habían sido lavadas fueron cortadas, amarradas en un extremo y puestas en un baño que contenía 100 % de IDA durante 1 hora. Las fibras fueron después exprimidas y puestas en un horno a 40 °C durante 1 hora hasta secarse.
- 20 Observaciones: Las fibras se hilaron bien en el baño de coagulación de cloruro de calcio y las fibras una vez secas fueron muy suaves, se separaron fácilmente y tenían un color blanco/crema. Se experimentaron algunos problemas con el baño de coagulación de zinc ya que una parte del zinc se precipitó fuera de la solución y hubo cierta holgura en la fibra mientras emergía de la hilandera. Sin embargo las fibras fueron producidas y eran suaves y de un color blanquecino/ligeramente pardo.
- 25 Textilización de las fibras: Las fibras secas se cortaron a 55 mm y se abrieron manualmente usando cardas manuales. Luego se cardaron utilizando una carda escala piloto Automatex modelo CA500 con un ancho de trabajo de 500 mm, cilindro individual, 3 pares de trabajadores y arrancadores y un solo rodillo irregular. Se produjeron cuatro telas cardadas.
- 30 Tratamiento con aguja o Punzonado: El punzonado se llevó a cabo en un aparato a escala piloto. Las telas se doblaron ya sea en dos o cuatro dobleces para proporcionar más volumen durante el punzonado.

Los productos resultantes se referenciaron de la siguiente manera:

- 35 HF-2010/078-2: Fibras 100 % biointeractivas hiladas en una 2\* prueba con  $\text{CaCl}_2$  (dobladas 4 veces)  
 HF-2010/079: Fibras 100 % biointeractivas hiladas en  $\text{ZnCl}_2$  (dobladas 4 veces)  
 HF-2010/080: Fibras 50% biointeractivas hiladas en  $\text{CaCl}_2$  con 50% de Hydrofibre® (dobladas dos veces únicamente)  
 40 HF-2010/081: Fibras 50% biointeractivas hiladas en  $\text{ZnCl}_2$  con 50% de Hydrofibre® (dobladas dos veces únicamente)

Irradiación: Las muestras fueron irradiadas con rayos gama con una dosis de entre 25 -4 2 kGy.

### **Absorción**

- 45 **Resumen:** La absorbencia del material no tejido  $\text{CaCl}_2$ , en su forma no mezclada y mezclada, es comparable (sobre una base de peso por peso), con AQUACEL®. La absorbencia de las muestras hiladas en  $\text{ZnCl}_2$  es ligeramente más baja en general. Existe poca diferencia entre las muestras irradiadas y las no irradiadas. La siguiente tabla proporciona los resultados de absorbencia expresados en g/g.
- 50

|              | H F-201 0/078-2<br>Fibras 100 %<br>biointeractivas<br>hiladas en $\text{CaCl}_2$ | H F-20 10/079 Fibras<br>100 % biointeractivas<br>hiladas en $\text{ZnCl}_2$ | H F-201 0/080<br>Mezcla al 50 %<br>Fibras biointeractivas<br>hiladas en $\text{CaCl}_2$ | H F-20 10/081<br>Mezcla al 50 %<br>Fibras biointeractivas<br>hiladas en $\text{ZnCl}_2$ |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| No irradiado | N / A                                                                            | 11,5 (0,5)                                                                  | 17,7 (3,7)                                                                              | 14,5 (0,5)                                                                              |
| irradiado    | 17,2 (1,2)                                                                       | 11,7 (0,7)                                                                  | 18,0 (0,9)                                                                              | 15,0 (0,2)                                                                              |

### **Retención**

Resumen: Las fibras mezcladas tienen una retención ligeramente mejor que las fibras multicomponente puras, y en

general, la retención parece ser menor que la de AQUACEL®. Los resultados también indican que la irradiación da como resultado una pequeña caída en retención. La siguiente tabla proporciona los resultados de retención expresados en g/g.

|              | H F-201 0/078-2<br>Fibras 100 %<br>biointeractivas<br>hiladas en CaCl <sub>2</sub> | HF-20 10/079 Fibras<br>100 % biointeractivas<br>hiladas en ZnCl <sub>2</sub> | H F-201 0/080<br>Mezcla al 50 %<br>Fibras biointeractivas<br>hiladas en CaCl <sub>2</sub> | H F-20 10/081<br>Mezcla al 50 %<br>Fibras biointeractivas<br>hiladas en ZnCl <sub>2</sub> |
|--------------|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| No irradiado | N / A                                                                              | 6,0 (0,2)                                                                    | 9,3 (0,3)                                                                                 | 7,9 (0,2)                                                                                 |
| irradiado    | 5,8 (0,4)                                                                          | 4,9 (0,6)                                                                    | 7,6 (0,3)                                                                                 | 7,0 (0,2)                                                                                 |

Este ejemplo ha proporcionado la prueba de principio de que las fibras hiladas en calcio y zinc de acuerdo con la invención pueden fabricarse en una forma de textil, con propiedades de manejo de fluido atractivas. La prueba ha confirmado que las fibras de acuerdo con la invención son lo suficientemente fuertes como para ser fabricadas exitosamente en un material no tejido ya sea como un material al 100 % o como un material mezclado con Hydrofiber®.

Las fibras que fueron hiladas en un baño que contenía iones de calcio se textilizaron más fácilmente que las fibras hiladas en iones de zinc.

#### **Ejemplo 8**

Los apósitos producidos en el ejemplo 7 se rociaron con plata y se irradiaron usando el siguiente método.

Cada apósito se pasó a través de un rocío ultrasónico de solución acuosa de nitrato de plata (5 %) seguido por un rocío ultrasónico de solución acuosa de cloruro de sodio (3 %). El apósito se expuso primero a la solución de plata durante alrededor de 10 segundos y después a la solución de sal durante aproximadamente 10 segundos. El apósito resultante se secó utilizando un secador de aire forzado durante aproximadamente 1 minuto.

Cada uno de los apósitos se irradió utilizando irradiación gamma a una dosis de 31,4 kGy. Todas las muestras fueron visualmente equivalentes una vez irradiadas a aquellas antes de la irradiación.

#### **Ejemplo 9**

Para evaluar la capacidad de los apósitos del ejemplo 7 para modular elastasa, se llevó a cabo un ensayo de fluorescencia y los datos se reportaron como actividad de elastasa restante en el sobrenadante como un porcentaje del control positivo.

La prueba se realizó utilizando un kit de ensayo de elastasa EnzCheck siguiendo este método. Se colocaron muestras de nueve miligramos de varias fibras en viales de 7 ml y a estas muestras se le añadieron 40 µl de solución de elastasa previamente preparada. Estas muestras se dejaron reposar durante 2 a 3 minutos para garantizar que el material absorbiera completamente la enzima. A estas muestras hidratadas se le añadieron 960 µl regulador de pH de reacción de ensayo de elastasa y las muestras se mezclaron suavemente con la mano para asegurar. Después de otros 2 a 3 minutos se extrajeron 2 x 20 µl muestras de los viales y se transfirieron a pocillos individuales de una placa multipocillo para su análisis posterior (T<sub>0</sub>). Los viales que contenían las muestras se dejaron reposar durante 2 horas a temperatura ambiente, después de lo cual se extrajeron 2 x 20 µl de muestras adicionales y se procesaron como se indicó anteriormente (T<sub>120</sub>). Se agregaron noventa microlitros de tampón de reacción de ensayo de elastasa a cada pocillo de la placa multipocillo para llevar el volumen final a 110 µl.

Se añadieron cuarenta microlitros de elastina DQ previamente preparada a cada pocillo de la placas multipocillo (placas T<sub>0</sub> y T<sub>120</sub>) y el cambio en los niveles de fluorescencia se midió durante un periodo de aproximadamente 30 minutos utilizando un espectrofotómetro para placas multipocillo Tecan F200. El porcentaje de reducción en la actividad elastasa presente en los viales que contenían muestra se calculó a partir del nivel de fluorescencia detectado.

Se prepararon y analizaron en paralelo controles positivos y negativos apropiados, así como muestras en blanco. Por lo tanto, esto muestra tanto la capacidad de los apósitos para modular la actividad elastasa.

| Muestra    | % de actividad restante en T <sub>0</sub> | Desviación Estándar | % de actividad restante en T <sub>120</sub> | Desviación Estándar |
|------------|-------------------------------------------|---------------------|---------------------------------------------|---------------------|
| Negativo   | 6,2                                       | 9,42                | -23,1                                       | 28,7                |
| HF2010/078 | 7,9                                       | 5,29                | 6,5                                         | 12,66               |
| HF2010/079 | 15,4                                      | 12,3                | 42,6                                        | 6,44                |
| HF2010/080 | 9,2                                       | 5,82                | -8,0                                        | 15,88               |
| HF2010/081 | 16,4                                      | 0,46                | 13,2                                        | 20,14               |

Todos los apósitos acuerdo con la invención funcionan bien, tanto inicialmente como durante más de dos horas y el nivel más alto de elastasa vuelve al 40 % cuando se prueba HF2010/079. El apósito HF2010/078 funciona bien en general con una reducción de aproximadamente 90 % en T<sub>0</sub> y T<sub>120</sub>. En general, los materiales que contienen calcio funcionan mejor durante el transcurso del ensayo.

Para evaluar la capacidad de los apósitos para modular MMP, se realizó un ensayo de fluorescencia y los datos se muestran como actividad de MMP que permanece en el sobrenadante como un porcentaje del control positivo. El método seguido fue el del ejemplo 2 que dio los siguientes resultados:

| Muestra    | % de actividad restante en T <sub>0</sub> | Desviación Estándar | % de actividad restante en T <sub>120</sub> | Desviación Estándar |
|------------|-------------------------------------------|---------------------|---------------------------------------------|---------------------|
| Negativo   | 1,2                                       | 0,18                | 1,2                                         | 1,2                 |
| HF2010/078 | 4,5                                       | 2,75                | 69,7                                        | 9,36                |
| HF2010/079 | 5,4                                       | 1,74                | 9,9                                         | 4,64                |
| HF2010/080 | 3,8                                       | 1,61                | 90,3                                        | 10,6                |
| HF2010/081 | 1,8                                       | 0,16                | 11,9                                        | 3,77                |

### **Ejemplo 10**

En este ejemplo se prepararon fibras en nanoescala a partir de soluciones de gelatina y pectina. Las condiciones óptimas se centran en una concentración de sólidos de 25% p/p con relaciones de gelatina a pectina de entre 90/10 y 70/30 con una distancia entre aguja a colector de 10 cm y un voltaje de 20 kV.

Las soluciones para electrohilado se prepararon de la siguiente manera: Se midió un volumen de 10 ml de agua destilada al pesar y se calentó a una temperatura de 45 °C (±3 °C) usando una placa caliente. La temperatura del agua se midió periódicamente. La cantidad adecuada de gelatina y pectina se midieron por peso. La gelatina se disolvió en el agua añadiendo pequeñas cantidades de gelatina en el agua a la vez. La solución se agitó usando una mezcladora de laboratorio con una velocidad de rotación de 550 rpm (±50 rpm) hasta que cada cantidad se disolviera. Cuando la cantidad total de gelatina se disolvió completamente, se añadió la pectina de la misma manera. Después de disolver los componentes, la solución se pesó y se añadió agua si se había presentado evaporación. Esto aseguró que la solución final estuviera a la concentración especificada. Cuando todo el material se disolvió y mezcló completamente, la solución se dejó enfriar a la temperatura ambiente antes del electrohilado. Las soluciones no en uso se almacenaron en un refrigerador de laboratorio a -5 °C.

El equipo de electrohilado consistía en una fuente de energía de alto voltaje, bomba de aguja y un colector a tierra. Las soluciones fueron cargadas en una jeringa de vidrio Luer lock de 5 ml equipada con una aguja 22G que tiene un diámetro interno de 0,41 mm y una longitud de aguja de 12 mm. La aguja se montó en una bomba de jeringa con caudales de flujo de 0,1 ml/min - 1 ml/min. La bomba de jeringa se usó en un entorno de temperatura ambiente estándar, o se alojó dentro de una caja cerrada con temperatura controlada. El alto voltaje lo proporcionó una unidad de alto voltaje Glassman (0-30 kV) con respecto a tierra. El voltaje se midió en la aguja utilizando una sonda de alto voltaje y multímetro. Las muestras se recogen en un electrodo plano formado a partir de lámina de papel aluminio.

Los resultados indican que es posible electrohilar una combinación de gelatina / pectina es posible a una concentración de sólidos total de entre 15 % en peso y 30 % a una proporción de gelatina a pectina de 90/10 a

temperaturas elevadas. Las soluciones de hilado con una proporción de gelatina/pectina de 70/30 fueron posibles a concentraciones de 15 % en peso - 25 % en peso. A medida que aumentaba la viscosidad de la solución con el aumento de la concentración o el aumento de la proporción entre pectina y gelatina, se emplearon voltajes superiores a 15 kV para permitir que se produjera el proceso de electrohilado.

## REIVINDICACIONES

1. Fibras multicomponente para la reducción de la actividad dañina de los componentes del exudado de las heridas tales como las enzimas que degradan proteínas y los mediadores de inflamación en las heridas, las fibras que comprenden:
  - del 10 % al 100 % en peso de las fibras de pectina y un material proteínico de sacrificio en una proporción en peso de 90:10 a 10:90 de pectina a material proteínico de protección, en donde la pectina es pectina de metoxi bajo con un contenido de metoxilo inferior a 15 %, o pectina amidada con un grado de esterificación en un rango de 10 a 30% y un grado de amidación comprendido entre 10 y 30%; y
  - de 0% a 90% en peso de las fibras de otro polisacárido o un polímero soluble en agua, en el que el material proteico de protección se selecciona de gelatina, colágeno, suero, soja, caseína o albúmina.
2. Fibras multicomponente según la reivindicación 1, en las que las fibras comprenden de 75% a 100% en peso de las fibras de pectina y un material proteínico de protección una proporción en peso de 90:10 a 10:90 de pectina a material proteínico de protección.
3. Fibras multicomponente según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en las que las fibras comprenden 90 % a 100 % en peso de las fibras de pectina y un material proteínico de protección en una proporción en peso de 90:10 a 10:90 de pectina a material proteínico de protección.
4. Fibras multicomponente según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en las que proporción en peso de pectina a material proteínico de protección en las fibras las fibras es de 80:20 a 60:40, más preferiblemente 70:30.
5. Fibras multicomponente según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en las que la pectina tiene un peso molecular en el intervalo de 30.000 a 85.000 daltons.
6. Apósito para heridas que comprende las fibras multicomponente de cualquiera de las reivindicaciones anteriores.
7. Apósito para heridas según la reivindicación 6, para uso en la reducción de la actividad dañina de los componentes del exudado de heridas tales como las enzimas que degradan las proteínas y los mediadores inflamatorios en heridas.
8. Apósito para heridas para heridas según la reivindicación 6 o la reivindicación 7, en el que el apósito comprende de 10 % a 100 % en peso de fibras de pectina multicomponente con 0 % a 90 % en peso de otra fibra formadora de gel.
9. Método para preparar fibras de pectina multicomponente, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, comprendiendo el método las siguientes etapas:
  - i) añadir pectina y un material proteínico de protección al agua para formar una masa;
  - en el que donde la pectina es pectina de bajo metoxi con un contenido de metoxilo inferior al 15 %, o pectina amidada con un grado de esterificación en un rango de 10 a 30 % y un grado de amidación comprendido entre el 10 y el 30 % y en el que el material proteínico de sacrificio se selecciona entre gelatina, colágeno, suero, soja, caseína o albúmina;
  - (ii) forzar la masa a través de una hilandera;
  - (iii) entrelazar con una fuente de iones para formar fibras y
  - (iv) secar las fibras.
10. Método de conformidad con la reivindicación 9, caracterizado por que el material proteínico de protección es gelatina.
11. Método para preparar fibras de pectina multicomponente, caracterizado porque comprende las siguientes etapas:
  - (i) añadir pectina y un material proteínico de protección al agua para formar una masa;
  - en el que donde la pectina es pectina de bajo metoxi con un contenido de metoxilo inferior al 15 %, o pectina amidada con un grado de esterificación en un rango de 10 a 30 % y un grado de amidación comprendido entre el 10 y el 30 % y en el que el material proteínico de sacrificio se selecciona entre gelatina, colágeno, suero, soja, caseína o albúmina; y

- (ii) forzar la masa a través de una hilandería mientras que se induce un voltaje entre la hilandería y una placa colectora en un entorno de temperatura controlada.

Figura 1

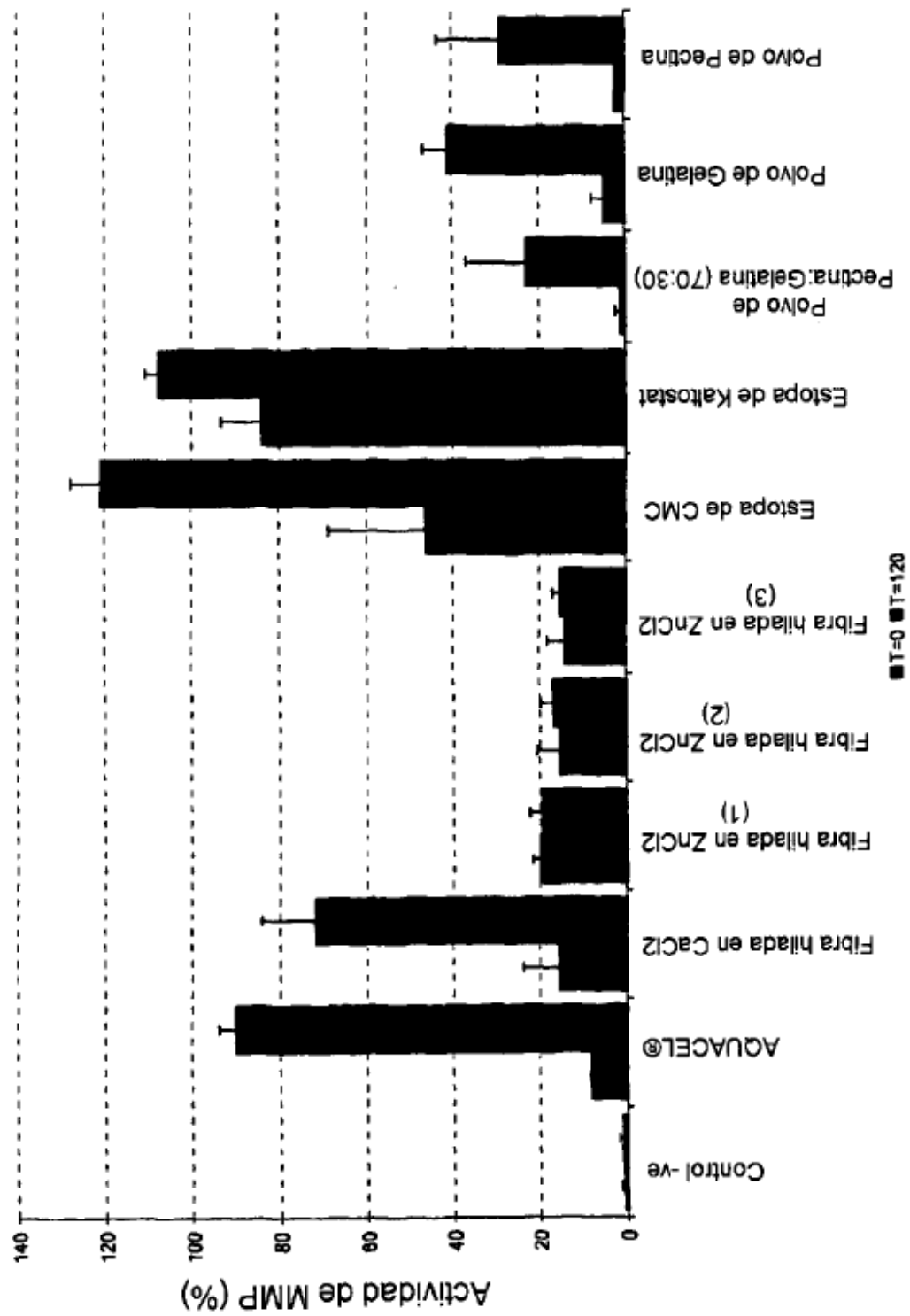


Tabla 3