

CM



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION
PCT- FASE NACIONAL

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-011086- -00000-0000

Fecha: 2014-01-21 15:58:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 50

21. EXPEDIENTE No. _____

22. TITULO **ESPRAY PARA HERIDAS**

CLASIFICACION

INTERNACIONAL

SOLICITANTE **SASTOMED GMBH**

DOMICILIO **GEORGS MARIENHÜTTE, ALEMANIA**

APODERADO **JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS**

Bogotá, D.C.,

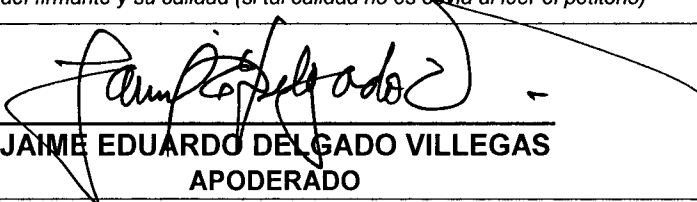


No. 14-011086- -00000-0000

Fecha: 2014-01-21 15:58:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 50

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/EP2012/003086	Fecha 23/07/2012
Publicación Internacional No.		WO2013/013799 A1	Fecha 31/01/2013
3	TÍTULO DE LA INVENCIÓN(200 caracteres o espacios máximos)		
ESPRAY PARA HERIDAS			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP)		
5	SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN TIPO
SASTOMED GMBH			[1]
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN		No. TELÉFONO	
Brüsseler Strasse 2 49124			
CIUDAD		CORREO ELECTRÓNICO	
Georgsmarienhütte			
DEPARTAMENTO/ESTADO		NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN	
		DE	
PAÍS DE RESIDENCIA		ALEMANIA	
7	INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
1. SANDER,		Michael	DE
2. PÖTZSCHKE,		Harald	DE
DIRECCIÓN DE CORREOELECTRÓNICO:			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
PAÍS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
ALEMANIA		Werther	Barenhorst 65 33824
ALEMANIA		Wiesbaden	Dresdener Ring 7 65191
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			
9	☐ REPRESENTANTE LEGAL ☒ APODERADO		
APELLIDOS		NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
DELGADO VILLEGAS		JAIME EDUARDO	C.C.19.270.955 T.P.43.308C.S.J.
DIRECCIÓN		No. TELÉFONO	
Avda. Carrera 24 No. 37 - 31 Of. 202		2444096	
CIUDAD		CORREO ELECTRÓNICO	
BOGOTA D.C.		mde@mdelaw.com	
PAÍS		No. RADICACIÓN DE PROTOCOLO DE PODER GENERAL	
COLOMBIA			
10	DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO		
(33) PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO (32) FECHA (AAAA/MM/DD)
1.OFICINA EUROPEA DE PATENTES		EP	11006057.1 23/07/2011
2.			

11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS		
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.</i>			
☐ SI ☒ NO			
Nota:En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.			
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES		
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.</i>			
☐ SI ☒ NO			
Nota:En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.			
13	REDUCCIÓN DE TASAS		
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i>			
☐ SI ☒ NO			
Nota:En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.			
Micro, pequeñas y medianas empresas ☐			
Universidades públicas o privadas ☐			
Entidades sin ánimo de lucro ☐			
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos			
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☐ SI ☒ NO		
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.			
15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N°	Fecha
16	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL		
Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)			
 JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS APODERADO			
17	ANEXOS		
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano		Documentación Jurídica	
1. ☒ Descripción N° de folios: 42		9. ☐ Poderes, si fuera el caso.	
2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 16		10. ☐ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.	
3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios: 1		11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
4. ☒ Resumen.		12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.		13. Reducción de tasas	
6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.		Micro, pequeñas o medianas empresas	
7. ☐ Arte final 12 x 12.		☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.	
8. ☐ Anexo formato digital.		☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.	
		Universidades públicas o privadas	
		☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación	
		Entidades sin ánimo de lucro	
		☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.	
		☐ Hoja de información complementaria.	
		☐ Otros, especificar	
		14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.	
		15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.	
		16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.	
		17. ☒ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.	

ESPRAY PARA HERIDAS

La presente invención se refiere a una composición, que comprende hemoglobina o mioglobina, en la que, en al menos el 40 % de dicha hemoglobina o mioglobina, el sitio de unión de oxígeno está cargado con un
5 ligando que no es O₂, y al menos un ingrediente adicional, un método para la preparación de dicha composición y el uso de hemoglobina o mioglobina cargada con un ligando que no es oxígeno para el tratamiento externo de heridas.

10 Se utilizan diferentes métodos para el tratamiento de heridas, en función de su estado. En primer lugar, una herida que todavía está abierta preferiblemente debería ser desinfectada y de ese modo protegida frente a influencias externas negativas. Esto se puede hacer por medio de soluciones desinfectantes adecuadas o vendajes de aerosol o también mediante la
15 aplicación de una solución de yodo. La verdadera curación de las heridas debe entonces producirse desde el interior. Esto significa que los vasos sanguíneos que todavía están en el lugar deben suministrarle al tejido destruido suficientes cantidades de materiales, de manera que el mecanismo de reparación del tejido pueda empezar.

20 Las heridas pueden ser causadas por diversos factores, como por ejemplo, lesiones o también después de operaciones o traumatismos.

Por otra parte es conocido que la formación de heridas, particularmente también las heridas crónicas, pueden ser provocadas asimismo por enfermedades en las que se produce la degeneración y/o la constricción de los
25 vasos sanguíneos grandes y/o pequeños. Esto puede ser el resultado, por

ejemplo en el caso de pacientes de edad avanzada, de estancias prolongadas en cama (decúbito) o de la diabetes mellitus que pueden dar lugar a degeneración y arteriosclerosis (P. Carpenter, A. Franco, Atlas der Kapillaroskopie [Atlas de Capilaroscopia], 1983, Abbott, Max-Planck-Inst. 2, D- Wiesbaden) de los vasos sanguíneos grandes y pequeños (macroangiopatía y microangiopatía de las arterias). También se demostró que una deficiencia de oxígeno (hipoxia) está presente en el área de la herida. Se considera que 40 mmHg es un valor crítico (C.D. Müller y colaboradores, Hartmann Wund [Wound] Forum 1 (1999), 17-25).

- 10 La sangre fluye a los tejidos, incluyendo la piel, a través de las arterias y suministra a las células materiales necesarios para la vida. Cualquier degeneración de los vasos sanguíneos resulta en un suministro deficiente de materiales a las células, que conduce a su muerte. Los materiales deben atravesar el último espacio, aparentemente insignificante de aproximadamente
- 15 20 μm , desde los vasos sanguíneos más pequeños (capilares) hasta las células por difusión; a este respecto, el oxígeno desempeña un papel especial, ya que es difícil para el organismo manejar este material.

Hay tres problemas principales implicados:

- (1) Es cierto que el oxígeno es absolutamente esencial para la vida (un ser humano experimenta muerte cerebral después de sólo aproximadamente
- 20 cinco minutos sin que su cerebro reciba oxígeno), pero al mismo tiempo, el oxígeno es altamente tóxico (un recién nacido que recibe tratamiento de respiración con oxígeno puro morirá después de solo unos pocos días).

- (2) El oxígeno tiene muy poca solubilidad en un medio acuoso. Esto da
- 25 como resultado, según la primera ley de FICK, una velocidad de difusión más

baja de oxígeno. Además, hay una ley fundamental de la difusión, esto es, la ley de SMOLUCHOWSKI y la ley de EINSTEIN, que indica que la velocidad de difusión (de oxígeno) disminuye con un aumento de la distancia de difusión. Ahora, la constante de difusión de oxígeno es tan baja que la velocidad de
5 difusión a una distancia de difusión tan pequeña como 20 μm , es sólo el 5 % del valor inicial. Una capa de agua de por ejemplo 50 μm , representa un aislamiento de las células casi total frente al oxígeno. El oxígeno es transportado a lo largo de largas trayectorias en el organismo, desde los pulmones a las puntas de los dedos de los pies con el torrente sanguíneo,
10 unido a la hemoglobina, y sólo de esta manera es capaz de superar las largas distancias de un modo que resulta adecuado para el organismo.

(3) Para el oxígeno, al contrario que con la glucosa, por ejemplo, no hay un área de almacenamiento en el cuerpo, por lo tanto, este material debe de estar a disposición de las células en todo momento y de forma rápida, en una
15 cantidad suficiente; el oxígeno es un denominado material de uso inmediato necesario para la vida.

Un organismo intacto ha resuelto estos problemas mediante el uso de varios mecanismos. Los efectos tóxicos del oxígeno se evitan de tal manera que, este último se une a la hemoglobina durante el transporte y de este modo
20 permanece inofensivo. Al mismo tiempo, el oxígeno libre se diluye y de este modo pierde además su potencial oxidativo perjudicial. Sin embargo, puesto que la unión a la hemoglobina es reversible, está disponible instantáneamente en una cantidad suficiente. El problema del rango de difusión bajo se soluciona de tal manera que el organismo ha desarrollado una red de vasos sanguíneos
25 muy finamente ramificada (red capilar), que asegura que como media, cada

célula está a una distancia de como máximo 25 μm de un capilar; de esta manera, la trayectoria de difusión de oxígeno en el organismo se mantiene por debajo de la longitud crítica de 50 μm . Además, a una célula se le puede suministrar oxígeno mediante difusión desde varios lados; esto representa un mecanismo de seguridad. La disponibilidad inmediata, de conformidad con la demanda (al oxígeno no se le permite estar disponible en exceso, de lo contrario tendría un efecto perjudicial) se logra en el organismo por medio de la regulación vascular del flujo de los vasos sanguíneos, que controla la perfusión y con ello optimiza el suministro de oxígeno.

- 10 Si hay una superficie de herida abierta, el suministro de oxígeno a las células se interrumpe. El suministro de oxígeno desde el aire exterior es pobre porque sobre la superficie celular (de tejido) se encuentra una película de líquido acuoso, el cual, como se explica, forma una barrera para la difusión del oxígeno. Heridas frescas en tejido normal se curan en pocos días si el
- 15 suministro de oxígeno desde abajo, es decir, desde el interior, es suficiente. Sin embargo, se ha demostrado en experimentos con animales que incluso heridas frescas curan mejor si la concentración de oxígeno del aire circundante se incrementa (M.P. Pai y colaboradores, Sug. Gyn. Obstet. 135 (1972), 756-758). Heridas más viejas, en particular heridas crónicas, se conoce que curan de una
- 20 forma muy lenta, si acaso lo hacen, debido a su deficiencia en oxígeno.

Para curar mejor heridas crónicas, se ha utilizado también la denominada terapia de oxígeno hiperbárico (HBO). En este tratamiento, los pacientes se colocan en cámaras presurizadas, donde son sometidos a un exceso de presión de oxígeno puro de aproximadamente 3 bar durante un

25 cierto período de tiempo (C.D. Müller y colaboradores, Hartmann Wund Forum

1 (1999), 17-25). De hecho, la curación de heridas puede mejorarse por este método. Sin embargo, el efecto disminuye con el número de tratamientos.

La Patente de Estado Unidos Nº 2.527.210 describe una solución de hemoglobina que supuestamente se puede utilizar para el tratamiento de
5 heridas, tanto por vía intravenosa y por vía tópica, por ejemplo mediante pulverización. En esta descripción, la hemoglobina se obtiene de los eritrocitos frescos que son sometidos a congelación de choque después de una centrifugación y de extraer la fracción de plasma de la sangre. Esto da como resultado la lisis celular, y la hemoglobina se libera. Las paredes celulares
10 lisadas también están presentes en el producto. Esta formulación es un detrito celular concentrado (fragmentos de células). De esta manera, se supone un efecto antiséptico de recubrimiento, tal como se consigue con solución de yodo, después de haber añadido 5 % de sulfuro de sodio. En otras palabras, la herida se cierra simplemente. El transporte de oxígeno no se menciona allí.

15 El documento WO 97/15313 describe el uso terapéutico de la hemoglobina para la mejora de la curación de heridas. Para este propósito, la hemoglobina libre de estroma y pirógenos se administra por vía intravenosa a los pacientes, en particular después de las operaciones y sucesos traumáticos para aumentar la presión de la sangre. En particular, para este propósito se
20 utiliza una hemoglobina reticulada con diaspirina.

El documento WO 2003/077941 enseña el tratamiento de heridas abiertas con una solución de hemoglobina que comprende hemoglobina aislada y, opcionalmente, reticulada. Las soluciones se preparan frescas con hemoglobina de sangre de cerdo y se aplican a heridas crónicas.

25 Durante la preparación y el almacenamiento de portadores de oxígeno

sobre la base de hemoglobina o mioglobina, éstos pueden perder parcial o completamente su funcionalidad. Para evitar esto es deseable estabilizar los portadores de oxígeno para que permanezcan utilizables y capaces de transportar oxígeno.

- 5 En general, existen diferentes aproximaciones a la preparación de portadores de oxígeno artificiales; uno de ellos es la preparación de soluciones adecuadas de hemoglobinas naturales o químicamente modificadas (véase "Cuestiones del V Simposio Internacional de Sustitutos de Sangre, San Diego, California, EE.UU., Marzo de 1993", Artificial Cells, Blood Substitutes, and
- 10 Immobilization Biotechnology 22 (1994), vol.2 - vol.4). Un problema en el manejo de dichas preparaciones farmacéuticas como portadores de oxígeno artificiales, es su creciente inactivación por oxidación espontánea a metahemoglobina, la cual ya no es capaz de transportar oxígeno. Esto ocurre por lo general durante la preparación por el fabricante y el posterior almacenamiento.
- 15 Se describen varias aproximaciones para resolver este problema. O bien se trata de minimizar el grado de oxidación de la hemoglobina, o de reducir la hemoglobina oxidada a su estado anterior.

Una posibilidad para la prevención de la oxidación espontánea es la desoxigenación de la hemoglobina (es decir, la eliminación de todo el oxígeno

20 de la preparación), ya que la desoxihemoglobina se oxida de forma mucho más lenta a metahemoglobina que la oxihemoglobina.

Además, es posible minimizar la cantidad de oxidación por almacenamiento y/o preparación a la menor temperatura posible (para soluciones acuosas, a aproximadamente 4 °C).

- 25 Además, la tasa de oxidación de la hemoglobina depende de la

concentración de iones hidrógeno, es decir, del pH. Por ejemplo, para la hemoglobina humana nativa hay un mínimo en el intervalo entre pH 7,5 y 9,5.

También, la adición de ciertos alcoholes puede disminuir la oxidación de la hemoglobina. Algunos de ellos funcionan incluso en bajas concentraciones.

- 5 Un problema es la toxicidad de estos alcoholes.

Ciertos iones metálicos (Cu^{2+} , Fe^{3+} , etc.) catalizan la oxidación espontánea de la hemoglobina. Pueden resultar ineficaces por formación de complejos con EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), aunque en sí EDTA promueve la oxidación espontánea de la hemoglobina.

- 10 La protección de los portadores de oxígeno artificiales frente a la oxidación puede lograrse además mediante la adición de sustancias reductoras. Bajo ciertas circunstancias, incluso dar lugar a una reactivación de la hemoglobina oxidada.

- 15 El documento EP 0 857 733 describe que la hemoglobina puede ser estabilizada mediante la unión de un ligando al sitio de unión del oxígeno, en particular monóxido de carbono. Se ha encontrado que una carbonilhemoglobina de este tipo se puede aplicar a un organismo sin que se desuna el ligando y es adecuado como un portador de oxígeno en el interior de la corriente sanguínea.

- 20 El objetivo de la presente invención es proporcionar un producto para el tratamiento externo de heridas, lo que aumenta la curación de la herida, que sea de fácil manejo y almacenable.

Este objetivo se alcanza, según la invención, mediante una composición, que comprende

- 25 (a) un portador de oxígeno, preferiblemente hemoglobina o mioglobina,

en la que en al menos el 40 % de dicho portador de oxígeno, el sitio de unión de oxígeno está cargado con un ligando que no es O₂, y

(b) al menos un ingrediente adicional, seleccionado de electrolito(s) conservante(s), estabilizante(s), anti-floculante(s), anticoagulante(s), agente(s) tamponadores del pH, disolvente(s), antioxidante(s), agente(s) formador(es) de película y agente(s) de reticulación

y el uso de un portador de oxígeno, preferiblemente hemoglobina o mioglobina, cargado en su sitio de unión de oxígeno con ligando que no es O₂ para la preparación de un agente o composición para el tratamiento externo de heridas.

De acuerdo con la invención, se utiliza preferiblemente un portador de oxígeno natural (nativo), en particular hemoglobina o mioglobina o un derivado modificado de las mismas, o mezclas de las mismas. La hemoglobina o mioglobina de origen humano o animal, en particular de origen equino, bovino o porcino preferiblemente, es particularmente adecuada para la presente invención. Como portador de oxígeno se prefiere particularmente la hemoglobina humana o porcina, que es natural o modificada como se describe a continuación. El portador de oxígeno puede ser recién aislado de la sangre humana o animal o puede prepararse artificialmente.

También se pueden utilizar las mezclas de portador de oxígeno natural y modificado, tal como, por ejemplo, en una proporción de 20:1 a 1:20, con referencia al peso. Además, las mezclas de hemoglobina y mioglobina, o sus derivados modificados pueden usarse en la proporción antes mencionada de 20:1 a 1:20.

En una realización particular adicional el portador de oxígeno puede ser

modificado. La modificación puede ser una reticulación intramolecular, polimerización (reticulación intermolecular), pegilación (unión covalente con óxidos de polialquileno), modificación con efectores reactivos químicamente, tal como piridoxal-5'-fosfato o 2-nor-2-formil-piridoxal-5'-fosfato, o también con
5 efectores no reactivos químicamente del enlace oxígeno, tal como 2,3-bisfosfoglicerato, hexafosfato de inositol, hexasulfato de inositol o ácido melítico, o una combinación de los mismos. Tales modificaciones son conocidas y se describen, por ejemplo, en DE-A 100 31 744, DE-A 100 31 742, y DE-A 100 31 740. La reticulación de los portadores de oxígeno también se
10 describe en DE 197 01 37, EP 97 1000790, DE 44 18 937, DE 38 41 105, DE 37 14 351, DE 35 76 651.

Ejemplos de portadores de oxígeno modificados son hemoglobinas que tienen un peso molecular de 65.000 a 15.000.000, tal como moléculas intramolecularmente reticuladas según el documento WO 97/1531, en particular
15 productos poliméricos, así como productos intermolecularmente reticulados que tienen un peso molecular medio de 80.000 a 10.000.000 g/mol, particularmente 100.000 a 5.000.000, o mioglobinas producidas de forma análoga que tienen un peso molecular de 16.000 a 5.000.000, particularmente de 100.000 a 3.000.000, preferiblemente de 1.000.000 g/mol. Se pueden utilizar aquellos
20 portadores de oxígeno que son polimerizados, por ejemplo, usando agentes de reticulación conocidos para modificación intermolecular, tales como agentes de reticulación bifuncionales como diepóxido de butadieno, divinilsulfona, diisocianato, en particular diisocianato de hexametileno, diisocianato de ciclohexilo, y ácido 2,5-bisisocyanatobenzol sulfónico, éster de di-N-hidroxi
25 succinimidilo, diimidoester, o dialdehído, especialmente glioxal, aldehído

glicólico que reacciona de manera análoga, o glutardialdehído.

Además, se pueden utilizar productos que son polimerizados de esta manera y pegilados con un polietilenglicol o derivados adecuados del mismo. Esto incluye, por ejemplo, óxido de polietileno, óxido de polipropileno, o un
5 copolímero de óxido de etileno y óxido de propileno, o un éster, éter, amida éster del mismo. Puede ser adecuado si el óxido de polialquileno unido covalentemente tiene una masa molar de 200 a 5000 g/mol.

Para la unión covalente de los óxidos de polialquileno, pueden ser adecuados aquellos derivados de óxido de polialquileno que contienen un
10 agente de unión ya unido covalentemente con un grupo funcional, permitiendo de ese modo una reacción química directa con amino, alcohol o grupos sulfhidrilo de las hemoglobinas, formando uniones covalentes de los óxidos de polialquileno, por ejemplo, óxidos de polialquileno con éster de N-hidroxi succinimidilo, epoxi (éter de glicidilo), aldehído, isocianato, vinilsulfona,
15 iodoacetamida, formiato de imidazolilo, grupos tresilato, y otros, reactivos. Muchos de estos polietilenglicoles activados monofuncionalmente están disponibles comercialmente.

Si se utilizan portadores de oxígeno modificados, se prefieren, modificados por reticulación (intramolecular o intermolecular), o productos de
20 hemoglobina reticulados y pegilados que tienen un peso molecular medio de 250.000 a 750.000 productos g/mol, o productos de mioglobina que tiene un peso molecular medio de 50.000 a 750.000 g/mol.

De acuerdo con la forma de realización preferida particular, la hemoglobina o mioglobina de origen humano o animal recién aislada, en
25 particular, de origen porcino se utiliza para la preparación de la composición de

la invención.

Según la presente invención, al menos 40 % de los sitios de unión de oxígeno del portador de oxígeno están cargados con un ligando que no es O₂. Preferiblemente, al menos 50 %, preferiblemente al menos 60 %, más preferido al menos 70 %, incluso más preferido al menos 80 %, particularmente preferido al menos 90 % o 95 % de la hemoglobina o mioglobina se proporciona en forma cargada con ligando. Esta carga puede aplicarse ya durante el aislamiento del portador o después de su purificación adicional, sin embargo, se prefiere en particular llevar a cabo el aislamiento del portador de oxígeno en su forma protegida, lo que significa que durante el aislamiento o la purificación el ligando se proporciona / o contacta con el portador de oxígeno.

El ligando que no es O₂ es preferiblemente monóxido de carbono (CO) o monóxido de nitrógeno (NO) o una mezcla de los mismos. Ambos ligandos tienen una alta afinidad por el/los sitio(s) de unión de O₂ de la hemoglobina/mioglobina y sirven como un protector frente a la oxidación del ion central Fe³⁺ del hemo.

El o los portador(es) de oxígeno cargado está/están preferiblemente disuelto(s) en un medio acuoso u orgánico, prefiriéndose una solución acuosa, en una cantidad de 0,1 a 35 % en peso, preferiblemente de 0,1 a 20 % en peso, más preferiblemente de 0,1 a 15 % en peso, para estar listas para su aplicación.

La composición de acuerdo con la presente invención comprende además al menos un aditivo adicional, preferiblemente seleccionado del grupo que comprende electrolito(s), estabilizante(s), anti-floculante(s), conservante(s), agente(s) tamponadores del pH, disolvente(s), antioxidante(s) y agente(s)

formadores de película, más preferiblemente seleccionado de electrolito(s), estabilizante(s), anti-floculante(s), conservante(s) y agente(s) tamponadores del pH. Lo más preferido es que la composición esté en forma de una solución y comprenda al menos un electrolito y, opcionalmente, un estabilizador.

5 La solución puede comprender electrolitos fisiológicamente compatibles, tales como sales, en cantidades adecuadas o deseadas. Los electrolitos pueden estar presentes en cantidades del 0,1 al 30 % en peso, preferiblemente del 0,1 al 10 %, pero preferiblemente están presentes en una concentración fisiológica, respectivamente. Preferiblemente, la composición comprende una
10 sal en las cantidades antes mencionadas, como por ejemplo, NaCl, KCl, NH₄Cl, CaCO₃, Na₂CO₃, K₂CO₃, MgSO₄, Na₂SO₄, CaCl₂, MgCl₂, citrato de sodio, lactato de sodio o mezclas de los mencionados o similares, sin estar restringida a estos ejemplos. La sal más preferida es NaCl, en particular en una concentración del 0,9 % (solución isotónica).

15 De acuerdo con la invención, se prefiere particularmente que la composición comprenda un compuesto que actúe como un estabilizador y/o anti-floculante para proteínas, en particular, para la hemoglobina / mioglobina, tales como N-acetil cisteína, cisteína, N-acil metionina, metionina, sales no caotrópicas, polioles, tales como azúcares, preferiblemente disacáridos, y
20 aminoácidos, preferiblemente cada uno en cantidades del 0,001 % en peso al 20 % en peso.

 Los polioles que se pueden emplear son preferiblemente polioles de bajo peso molecular aunque se pueden emplear derivados poliméricos. Dichos polioles incluyen etilenglicol, glicerol, eritritol y manitol. Los polioles cíclicos que
25 pueden ser empleados incorporan uno o más anillos alicíclicos y pueden tener

al menos una cadena lateral. Los polioles preferidos incluyen disacáridos y alcoholes de azúcar, por ejemplo lactitol, sorbitol e inositol. Se prefieren los compuestos que tienen de 2 a 10 grupos hidroxilo. La cantidad del poliol puede estar en el intervalo preferido del 0,001 al 20 %, más preferiblemente del 1 al 15 %, y lo más preferiblemente del 2 al 10 % p/v.

Además el aditivo estabilizador de proteínas puede ser seleccionado de un compuesto de tris(hidroximetil)metilo de fórmula 1; $(\text{HOCH}_2)_3\text{C-R}$ (1) en la que R es: alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido, NH_2 , $\text{NHC}(\text{CH}_2\text{OH})_3$, hidroxialquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$; carboxilato de alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$, NR^1R^2 (en la que R^1 y R^2 pueden ser de forma independiente: H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$, sulfonato de alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$, sulfonato de hidroxialquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$). Ejemplos de compuestos preferidos de fórmula (1) incluyen: tris(hidroximetil)etano; 1,1',1''-tris(hidroximetil)propano; tris(hidroximetil)aminometano o sales de los mismos, por ejemplo, cloruro, maleato, fosfato, sales de succinato; 1,3-bis[tris(hidroximetil)metilamino]propano; bis(2-hidroxietil)amino-tris(hidroximetil)metano; sulfonato de N [tris(hidroximetil)metil]-2-aminoetano; sulfonato de N [tris(hidroximetil)metil]-3-aminopropano; sulfonato de N [tris(hidroximetil)metil]-3-amino-2-hidroxipropano; N [tris(hidroximetil)metil]-glicina. Estos compuestos también se pueden añadir en el intervalo preferido del 0,001 al 20 % más preferiblemente del 1 al 15 %, y lo más preferiblemente del 2 al 10 % p/v.

Además el aditivo estabilizador de proteínas se puede seleccionar de un polielectrolito. El polielectrolito puede ser un polielectrolito catiónico o aniónico. Polielectrolitos anfóteros también pueden emplearse. El polielectrolito catiónico es preferiblemente un polímero con grupos catiónicos distribuidos a lo largo de

la cadena molecular.

Los grupos catiónicos, que son preferiblemente funciones derivadas de amonio cuaternario, pueden estar dispuestos en grupos laterales colgantes de la cadena o se pueden incorporar en ella. Ejemplos de polielectrolitos catiónicos incluyen: Copolímeros de vinil pirrolidona y metacrilato de metilo cuaternario, por ejemplo, series Gafquat (755N, 734, HS-100) obtenidos de ISP; poliacrilamidas sustituidas; polietilenimina, polipropilenimina y derivados sustituidos; homopolímeros de poliamina (Golchem CL118); copolímeros de poliamina (por ejemplo, condensados de epiclorhidrina y mono- o dimetilamina); cloruro de polidialil dimetil amonio (poliDADMAC); dextranos sustituidos; goma guar modificada (sustituida con cloruro de hidroxipropiltrimonio); proteínas sustituidas (por ejemplo, grupos cuaternarios sustituidos en proteína de soja y colágeno hidrolizado); poliaminoácidos (por ejemplo, polilisina); compuestos poliamino de bajo peso molecular (por ejemplo, espermina y espermidina). Se pueden emplear polímeros naturales o artificiales.

Se pueden emplear polielectrolitos catiónicos con pesos moleculares de 150 a 5.000.000, preferiblemente de 5.000 a 500.000, más preferiblemente de 5.000 a 100.000. Se prefiere una cantidad del 0,01 al 10 %, más preferiblemente del 0,1 al 2 %, especialmente del 0,05 al 5 % p/v.

El polielectrolito aniónico preferiblemente es un polímero con grupos aniónicos distribuidos a lo largo de la cadena molecular. Los grupos aniónicos, que pueden incluir carboxilato, sulfonato, sulfato u otros agrupamientos grupos ionizables cargados negativamente, se pueden disponer sobre grupos colgantes de la cadena o unidos directamente a la cadena principal del

polímero. Se pueden emplear polímeros naturales o artificiales.

Ejemplos de polielectrolitos aniónicos incluyen: Gantrez (Sseries, AN-series), ácido algínico y sales; carboximetil celulosas y sales; poliacrilamidas sustituidas (por ejemplo, sustituidas con grupos ácidos carboxílicos); ácidos poliacrílicos y las sales; ácidos sulfónicos de poliestireno y sales; sulfatos de dextrano; sacáridos sustituidos, por ejemplo octosulfato de sacarosa; heparina. Se pueden utilizar polielectrolitos aniónicos con pesos moleculares de 150 a 5.000.000, preferiblemente 5.000 a 500.000, más preferiblemente de 5.000 a 100.000. Se prefiere una cantidad del 0,01 % al 10 %, especialmente del 0,05 al 5 %, y más especialmente del 0,1 al 2 % p/v.

Un estabilizante preferido en particular es N-acetil cisteína en una cantidad del 0 al 10 %, preferiblemente del 0,01 al 5 %.

Además, la composición puede contener cualquier conservante como por ejemplo, fenoxietanol, isotiazolina, ácido sórbico o cualquier otro conservante adecuado conocido para las personas expertas en la materia.

La composición puede comprender además, preferiblemente cualquier agente tampón. Todos los tampones conocidos comúnmente puede ser utilizados, como Tris/HCl, K_2HPO_4/KH_2PO_4 , Na_2HPO_4/NaH_2PO_4 , MOPS (ácido 3-(N-morfolino)propansulfónico), HEPES (ácido 4-2-hidroxietil-1-piperazinetansulfónico), TAPS (ácido 3-[[tris(hidroximetil)metil]amino]propansulfónico), Bicina (N,N-bis(2-hidroxietil)glicina), Tricina (N-tris(hidroximetil) metilglicina), TES (ácido 2-[[tris(hidroximetil)metil]amino]etansulfónico), PIPES (piperazina-N,N'-bis(ácido 2-etansulfónico)), SSC (citrato sódico salino), MES (ácido 2-(N-morfolino)etansulfónico) sin limitarse a éstos.

Los disolventes adecuados en la composición según la invención son preferiblemente agua o soluciones acuosas, disolventes orgánicos como el alcohol, preferiblemente etanol, o polietilenglicol (PEG). También pueden utilizarse mezclas de dichos disolventes. Además aceites naturales pueden ser
5 utilizados como un disolvente para algunos de los ingredientes y la composición puede proporcionarse como una emulsión. Un disolvente particularmente preferido es agua o una solución acuosa.

Los antioxidantes útiles para la presente composición puede ser, por ejemplo, vitamina C, vitamina E, flavonoides, carotenoides, o sales o derivados
10 de los mismos.

Agentes formadores de película preferidos son aquellos agentes comúnmente usados en aplicación cosmética, como por ejemplo, acrilamida/sodio, copolímero de acrilato, copolímero de acrilatos/acrilamida, butil éster de copolímero PVM/MA, carboximetil quitina, quitosán, hidroxipropil
15 celulosa, Polyquaternium-36, PVP, copolímero de PVP/VA, copolímero de VA/crotonatos o copolímero de vinilo caprolactama/PCP/metacrilato de dimetilaminooctilo.

Todos los aditivos mencionados anteriormente pueden estar presentes en una cantidad del 0 al 20, preferiblemente del 0,001, 0,01, 0,05 o 0,1 al 10,
20 más preferiblemente del 0,5 al 5 % (p/v), si no se indica lo contrario.

Si se desea, pueden estar presentes aditivos adicionales, en particular en una cantidad del 0 al 20, preferiblemente del 0,1 al 20, preferiblemente del 0,2 al 15, especialmente del 0,5 al 10 % en peso. Los aditivos preferidos son nutrientes para las células. Estos pueden ser seleccionados de glucosa, por
25 ejemplo, en cantidades del 0,1 al 5 % en peso, insulina en cantidades de hasta

25 IU/ml, los aminoácidos naturales, en particular cisteína, por ejemplo del 0,1 al 5 % en peso, o factores de tejido, tales como interleucinas en cantidades fisiológicas, hasta una cantidad de 10 veces la de los mismos.

Preferiblemente, la composición representa una solución acuosa que
5 comprende

(a) un portador de oxígeno, preferiblemente hemoglobina o mioglobina, en la que en al menos el 40 % de dicho portador de oxígeno, el sitio de unión de oxígeno está cargado con un ligando que no es O₂, y

(b) al menos un ingrediente adicional, seleccionado de electrolito(s)
10 conservante(s), estabilizante(s), anti-floculante(s), anticoagulante(s), agente(s) tamponadores del pH, antioxidante(s), disolvente orgánico, agente(s) formador(es) de película y agente(s) de reticulación.

En una realización preferida de la presente invención, la composición comprende un portador de oxígeno, que se aísla de la sangre entera de un ser
15 humano o animal, preferiblemente de cerdos.

En consecuencia, es un aspecto adicional de la invención proporcionar un proceso para la purificación de un portador de oxígeno utilizable para la composición de la presente invención a partir de sangre entera.

Para la preparación de la composición según la realización preferida el
20 portador de oxígeno se aísla de la sangre de un ser humano o animal y se purifica adicionalmente para presentarse esencialmente libre de plasma y constituyentes de la membrana celular.

Con "esencialmente libre" se quiere decir que el compuesto o composición considerada no comprende más del 20 %, preferiblemente no más
25 del 10 %, incluso más preferiblemente no más del 5 % y particularmente

preferido no más del 2 % o menos del 1 % del o de los compuesto(s) no deseado(s) mencionado(s).

La purificación puede comprender cualquier medio o etapas de método adecuados, como por ejemplo, la lisis selectiva o precipitación, centrifugación, ultracentrifugación, centrifugación fraccionada, métodos de cromatografía como la cromatografía de intercambio aniónico, cromatografía de exclusión por tamaño, cromatografía de afinidad o de adsorción, cromatografía de filtración en gel o filtro molecular, o diálisis, sin estar limitada a estos ejemplos, con tal de que los métodos aplicados desnaturalicen lo menos posible el portador de oxígeno. Preferiblemente durante el aislamiento y purificación el portador de oxígeno se mantiene esencialmente en solución.

Cuando el portador de oxígeno está aislado de la sangre entera, se prefiere que o bien las células que comprenden el portador de oxígeno sean separadas de otros componentes de la sangre o bien que dichas células se lisen selectivamente para suministrar el portador de oxígeno (soluble) a la solución y, posteriormente, los componentes no solubles sean separados. Una combinación de los dos métodos es asimismo adecuada. La lisis de las células que contienen el portador de oxígeno puede ser llevada a cabo por cualquier método adecuado de lisis, por ejemplo, lisis química, lisis osmótica, lisis mecánica, lisis térmica o similar.

Los restos celulares se pueden separar por cualquier medio o método adecuado. Esto incluye por ejemplo, centrifugación, filtración, sedimentación y decantación, la diálisis o cualquier método similar.

Para separar las células no lisadas o los restos de células del portador de oxígeno disuelto un método común es la sedimentación del material sólido.

Por ejemplo se puede llevar a cabo una etapa de centrifugación. La centrifugación con 2 a 5000 x g por lo general es suficiente para sedimentar las células y restos celulares.

Para la sedimentación de otros componentes no disueltos, por ejemplo, cualquier precipitado desarrollado durante el proceso de purificación, en cualquier momento durante el proceso de purificación se pueden llevar a cabo más etapas de centrifugación, en particular, etapas de centrifugación utilizando fuerzas superiores, hasta ultracentrifugación con hasta 10^6 x g.

La purificación de la solución que contiene el portador de oxígeno, además o como una alternativa a cualquier etapa de centrifugación, puede comprender al menos una etapa de filtración, preferiblemente al menos dos, tres o más etapas de filtración. Esto puede llevarse a cabo ya sea mediante el uso de al menos uno, preferiblemente al menos dos, más preferiblemente al menos tres filtros (si se utiliza más de un filtro en la presente solicitud se utiliza el término "cascada de filtros"), o por una, dos, tres o más etapas de filtración separadas.

Dicha cascada de filtros o de las diferentes etapas de filtrado pueden incluir dos, tres, cuatro, cinco filtros de tipo diferente, material diferente y/o diferentes tamaños de poro. Además un filtro de lecho profundo, como por ejemplo lana de vidrio o similares se puede usar, preferiblemente como un primer material de filtro para retener los desechos celulares gruesos. Si se utiliza más de un filtro, se prefiere el uso de filtros que proporcionan diferentes diámetros de poro en orden decreciente. Por ejemplo, si se utilizan tres filtros diferentes, el primer filtro (después del filtro de lecho profundo) puede tener un tamaño medio de poro de 1 a $0,5 \mu\text{m}$, el segundo filtro puede tener un tamaño

de poro de 0,7 a 0,3 μm y el tercero un poro tamaño de 0,4 a 0,1 μm , donde independientes de los intervalos que se solapan citados antes, el siguiente filtro, en cualquier caso, tiene un tamaño de poro más pequeño que el filtro anterior a este. Mediante dicha(s) etapa(s) de filtrado, se elimina esencialmente
5 material sólido y precipitado que tiene un tamaño mayor que el tamaño de poro de los filtros utilizados.

Además, en el proceso de purificación se puede incluir una etapa de ultrafiltración para purificar el o los portador(es) de oxígeno. Mediante una etapa tal de ultrafiltración, macromoléculas no disueltas no deseadas se
10 pueden separar. Preferiblemente, el límite de exclusión de tamaño se selecciona para separar macromoléculas que son más grandes (peso molecular mayor, más alto) que los portadores de oxígeno deseados, y en consecuencia, dichas macromoléculas son retenidas por el filtro. Debido al peso molecular de la hemoglobina de aproximadamente 64.000 Dalton, el límite
15 de exclusión de tamaño del filtro de ultrafiltración debe ser mayor. Para asegurarse de que el rendimiento de hemoglobina no se reduce en la etapa de ultrafiltración, se prefiere seleccionar la exclusión de tamaño del filtro a aproximadamente 100.000 Dalton, preferiblemente a aproximadamente 200.000 Dalton, más preferiblemente a aproximadamente 300.000 Dalton, sin
20 estar limitada a estos valores.

Adicionalmente o como una alternativa, se puede llevar a cabo cualquier etapa de cromatografía adecuada. Un tipo particularmente preferido de cromatografía es intercambio iónico o cromatografía de exclusión por tamaño.

El mismo resultado puede obtenerse mediante una etapa de diálisis
25 utilizando una membrana de diálisis que proporciona los límites de exclusión de

tamaño anteriormente mencionados, permitiendo que el portador de oxígeno pase, pero reteniendo las macromoléculas que tienen un tamaño molecular más alto.

5 Para reducir la cantidad de compuestos de bajo peso molecular en solución se puede llevar a cabo una etapa de diálisis adicional utilizando una membrana de diálisis que tiene un límite de exclusión de tamaño de aproximadamente 50.000 Dalton, permitiendo que las moléculas más pequeñas pasen, pero reteniendo el portador de oxígeno.

10 Para disminuir la contaminación de virus y/o microorganismos en la composición se prefiere particularmente incluir una etapa de degradación de contenido de virus en el proceso de purificación. El contenido de virus se reduce mediante esta etapa, preferiblemente a una carga de menos de 10, preferiblemente menos de 5, más preferiblemente menos de 2 partículas de virus por ml, e incluso más preferiblemente a 0. En esta etapa se prefiere que
15 la solución que comprende el portador de oxígeno, se pase a través de un filtro de degradación del contenido de virus ("filtro de virus"). Tales filtros son comúnmente conocidos y disponibles en el mercado. Ejemplos son Sartorius Virosart® CPV, Planova® 15N, 20N, Millipore Viresolve® NFP o PALL Pegasus® Grado LV6, sin limitarse a éstos. Alternativamente o adicionalmente,
20 preferiblemente después del paso a través del filtro, se puede aplicar un tratamiento con luz UV, en particular la luz UV de una longitud de onda de 245 nm para eliminar cualquier virus restante.

Opcionalmente, en cualquier etapa durante el proceso de aislamiento del portador de oxígeno se puede llevar a cabo al menos una etapa de
25 calentamiento. Esta etapa comprende el calentamiento de la suspensión o la

solución que contiene el portador de oxígeno durante el procedimiento de aislamiento a una temperatura en el intervalo de 40 a 85 °C, preferiblemente de 60 a 80 °C, más preferiblemente en el intervalo de 65 a 75 °C. La etapa de calentamiento se lleva a cabo preferiblemente durante 10 minutos a 6 horas, 5 preferiblemente durante 20 minutos a 4 horas y lo más preferido de 30 min a 3 horas y puede comprender varias temperaturas diferentes dentro del rango antes mencionado.

De acuerdo con el procedimiento de la presente invención, se prefiere que el portador de oxígeno permanezca en solución durante todo el proceso de purificación. Además se prefiere que el portador de oxígeno permanezca en 10 solución durante todo el proceso de purificación y durante la preparación de la composición de la presente invención. Esto significa que se prefiere que el portador de oxígeno no se precipite durante el procedimiento de la presente invención y, por consiguiente conserve su estructura tridimensional natural 15 como la que presenta en su entorno natural.

En un proceso preferido particular de acuerdo con la presente invención, el procedimiento para purificar un portador de oxígeno de la sangre entera comprende al menos las etapas:

- (a) separar el plasma de la sangre entera
- 20 (b) lisar los glóbulos rojos de la sangre
- (c) cargar los portadores de oxígeno con el ligando
- (d) calentar la muestra a una temperatura en el intervalo de 40 a 85 °C
- (e) separar el portador de oxígeno de cualquiera de los componentes sanguíneos no deseados.

25 Mediante estas etapas se obtiene una solución que contiene un portador

de oxígeno que puede ser utilizado para la preparación de la composición de la presente invención. En particular, la solución que contiene un portador de oxígeno obtenible mediante estas etapas puede ser concentrada a una cantidad deseada del portador de oxígeno y a esta solución, se le añade/n, el al
5 menos un ingrediente adicional(es) para obtener la composición de la presente invención.

La etapa (a) del presente método se puede llevar a cabo mediante uno cualquiera de los métodos comúnmente utilizados para separar el plasma de la sangre entera, preferiblemente por centrifugación o filtración. Por centrifugación
10 durante aproximadamente 30 min a aproximadamente 2000 a 5000 rpm, por ejemplo, 4000 rpm, los glóbulos rojos de la sangre se sedimentan, mientras que los compuestos solubles y los glóbulos blancos de la sangre se quedan predominantemente en el sobrenadante. Mediante la repetición de resuspensión y sedimentación de los glóbulos rojos de la sangre, por ejemplo
15 de 2 a 5 veces, se puede aumentar la separación de los glóbulos rojos de la sangre de los compuestos no deseados de sangre.

La etapa (b) se lleva a cabo preferiblemente mediante la adición de agua, preferiblemente agua destilada o un tampón sub-isotónico adecuado, preferiblemente un tampón de fosfato, a la sangre espesada de la etapa (a).
20 Después de romper los glóbulos rojos de la sangre con agua o con un tampón sub-isotónico, se añade preferiblemente una sal a la solución / suspensión para obtener la concentración fisiológica de dicha sal en solución. Preferiblemente se añade NaCl a una cantidad del 0,9 % en solución.

La etapa (c) puede llevarse a cabo después de la etapa (a), después de
25 la etapa (b), después de la etapa (d) o después de la etapa (e), pero se lleva a

cabo preferiblemente al menos después de la etapa (b). Se señala de forma particular que la etapa (c) no se lleva a cabo necesariamente de forma inmediata como la siguiente etapa después de la etapa (b), sino que también puede llevarse a cabo o repetirse después de la etapa (d), después de la etapa 5 (e) o de cualquier etapa de tratamiento. La carga del portador de oxígeno en la solución / suspensión puede llevarse a cabo mediante la introducción de gas en la solución / suspensión, preferiblemente gas CO o NO o una mezcla de los mismos. En una realización preferida se introduce gas CO en la solución / suspensión por un período de tiempo lo suficientemente largo para obtener una 10 saturación > 90 % en la solución / suspensión, preferiblemente una saturación > 95 %.

La etapa (d) puede llevarse a cabo después de la etapa (a), después de la etapa (b), después de la etapa (c) o después de la etapa (e), pero se lleva a cabo preferiblemente después de la etapa (c). Además el calentamiento se 15 puede repetir durante el procedimiento de aislamiento. Esta etapa comprende el calentamiento de la suspensión o la solución que contiene el portador de oxígeno durante el procedimiento de aislamiento a una temperatura en el intervalo de 40 a 85 °C, preferiblemente de 60 a 80 °C, más preferiblemente en el intervalo de 65 a 75 °C. La etapa de calentamiento se lleva a cabo 20 preferiblemente durante 10 minutos a 6 horas, preferiblemente durante 20 minutos a 4 horas y lo más preferido de 30 min a 3 horas y puede comprender varias temperaturas diferentes dentro del rango antes mencionado.

En la etapa (e) el portador de oxígeno se purifica de otros ingredientes adicionales no deseados contenidos todavía en solución, como células no 25 lisadas, restos celulares, cualquier precipitado u otros ingredientes no solubles.

Además el portador de oxígeno puede ser purificado adicionalmente mediante la separación de, al menos parcialmente, compuestos solubles no deseados, como por ejemplo, macromoléculas solubles o compuestos solubles de bajo peso molecular.

- 5 En consecuencia dicha etapa (e) puede incluir varias etapas individuales, como filtración, ultrafiltración, centrifugación, ultracentrifugación, cromatografía, diálisis utilizando diferentes tipos de membranas de diálisis que proporcionan diferentes límites de exclusión de tamaño, etapas de lavado, concentración del contenido de portador de oxígeno, etc. Cualquiera de los
- 10 métodos citados anteriormente puede estar incluido en esta etapa de purificación.

- Preferiblemente, la etapa (e) comprende al menos una etapa de centrifugación y/o al menos una etapa de filtración. Por ejemplo, el lisado se puede centrifugar en una centrifugadora para separar las células y restos
- 15 celulares restantes o se filtra por ejemplo, por una cascada de filtros como se describió anteriormente. Asimismo, el lisado se puede centrifugar primero y, posteriormente filtrar, o puede ser filtrado en una primera etapa a través de un filtro de lecho profundo y, posteriormente, a través de al menos un filtro o un filtro en cascada. Mediante la centrifugación o el filtro de lecho profundo, se
- 20 simplifica el manejo durante cualquiera de las siguientes etapas de filtrado debido a la menor cantidad de material que se sedimenta u obstruye el/los filtro(s). Si no se utiliza una cascada de filtros, se prefiere que al menos un filtro se utilice para permitir que se retenga esencialmente la totalidad de los materiales sólidos contenidos en la suspensión y permitir que pasen todos los
- 25 componentes disueltos. En una forma de realización más preferida, al menos

uno de los filtro(s) utilizado(s) es capaz de retener asimismo microorganismos, actuando así como filtro estéril. Además puede llevarse a cabo preferiblemente una etapa de ultrafiltración y/o una etapa para disminuir el contenido en virus y/o microorganismos de la solución. Por consiguiente, se prefiere que después
5 de la etapa (e) la solución que contiene el portador de oxígeno esté esencialmente libre de cualquier partícula no disuelta, flóculo o precipitado.

En la etapa (e), además de cualquiera de las etapas / métodos citados anteriormente, la solución que comprende el portador de oxígeno deseado se puede lavar y/o concentrar. Por "lavado" se quiere decir que las moléculas más
10 pequeñas que el portador de oxígeno deseado (que tienen un peso molecular inferior) se separan, preferiblemente mediante la adición de la misma cantidad o un múltiplo (por ejemplo 5 a 10 veces) de una solución isotónica a la solución que contiene el portador de oxígeno y después de ello filtración de la solución obtenida (diluida) mediante un filtro que retiene el portador de oxígeno y
15 permite que las moléculas más pequeñas pasen. Para el lavado de la solución preferiblemente se utiliza una solución de NaCl al 0,9 %. La etapa de lavado se puede repetir 2 o 3 o 4 o 5 o hasta 10 veces. Una realización preferida se ejemplifica mediante el uso de un filtro que tiene un límite de exclusión de tamaño de 5000 Dalton, 10.000 Dalton o 20.000 Dalton, permitiendo que las
20 moléculas más pequeñas pasen. En esta etapa la solución que contiene el portador de oxígeno (preferiblemente después del lavado) se puede concentrar hasta una concentración deseada del portador de oxígeno, por ejemplo, a una concentración de 50 g/l, 100 g/l o 200 g/l sin ser restringida a estas cantidades. Cualquier concentración deseada se puede obtener ya sea mediante la
25 concentración por filtración o mediante la adición del 0,9 % de NaCl o una

solución isotónica similares.

La solución que contiene el portador de oxígeno así obtenida puede usarse a continuación para preparar la composición de la presente invención mediante la adición de al menos un ingrediente adicional descrito arriba a la
5 solución en la cantidad deseada.

En una realización preferida, la composición de la presente invención se prepara mediante la adición a la solución que contiene el portador de oxígeno de al menos un conservante, preferiblemente un conservante farmacéuticamente aceptable como por ejemplo, fenoxietanol, parabenos,
10 benzoato de sodio, alcohol bencílico, hexaclorofeno y un antioxidante y/o estabilizante como por ejemplo, N-acetilcisteína, octanoato de sodio, N-acetil-L-triptofanato, N-acetil-metioninato, vitamina E, vitamina C, metil prednisolona o manitol. Además cualquiera de los ingredientes adicionales descritos anteriormente puede ser añadido adicionalmente.

15 La composición terminada puede ser esterilizado de nuevo, si se desea, por ejemplo, por calentamiento, filtración, centrifugación, por la adición de conservantes, aplicación de vapor, la aplicación de gas o aplicación de UV o una combinación de al menos dos de éstas, preferiblemente por una etapa adicional de filtración estéril y preferiblemente se introduce en recipientes
20 estériles o bolsas estériles para almacenamiento.

De acuerdo con una realización preferida, las bolsas estériles son colocadas en un contenedor de aerosol para su uso posterior. Un ejemplo puede ser un sistema bolsa-en-válvula (Bag-on-Valve), que comprende una bolsa, por ejemplo, una bolsa de aluminio laminado y un contenedor de aerosol
25 de lámina de estaño o aluminio. Debido a la separación de producto y

propelente, el sistema bolsa-en-válvula se puede utilizar con aire comprimido o nitrógeno a una presión por ejemplo de 2 a 9 bar.

De acuerdo con la invención, la composición se utiliza preferiblemente para el tratamiento de heridas abiertas, preferiblemente heridas crónicas de seres humanos y animales, en donde se prefiere el uso para el tratamiento de seres humanos. El uso preferido es por tratamiento tópico de la herida(s) con el/los portador(es) de oxígeno cargado(s) descritos.

Sorprendentemente, se ha encontrado que es posible tratar eficazmente heridas abiertas con dichos portadores de oxígeno cargados. Como se describió anteriormente la curación de heridas crónicas a menudo se ve disminuida debido a la disminución del suplemento de oxígeno. En consecuencia, parece lógico que el tratamiento de las heridas requiera de portadores de oxígeno cargados de oxígeno para tratamiento. Sin embargo, de acuerdo con la presente invención, se encontró que es posible obtener una curación externa de herida positiva mediante la aplicación de un portador de oxígeno cargado con CO o NO. Sin estar ligado a ella, nuestra teoría es que debido a la presión parcial de oxígeno en el aire el ligando puede ser reemplazado por el oxígeno cuando se aplica a la herida y en consecuencia se refuerza la curación de la herida.

La composición de la presente invención tiene la clara ventaja de una mayor estabilidad del portador de oxígeno debido a su estado no oxidado basado en la carga con el ligando de CO o NO que resulta en una buena preparación y estabilidad de almacenamiento. Además, la composición es fácil de aplicar y fácil de manejar y proporciona un enfoque seguro y eficaz para mejorar la curación de heridas mediante la facilitación de la difusión mediada

por el portador / agente de oxígeno.

La composición de la presente invención se aplica externamente. Dependiendo del estado de la herida, se aplica preferiblemente pulverizada, sobre el área de la herida en forma de una pulverización fina.

5 De acuerdo con la invención, se ha demostrado que las heridas abiertas, en particular también las heridas crónicas que tienen muy diferentes causas, pueden ser tratadas eficazmente. Estas pueden ser heridas después de operaciones, después de un traumatismo, después de lesiones, heridas con mala curación o heridas hipóxicas, o también heridas causadas por cambios
10 degenerativos en el tejido. A este respecto, puede haber heridas causadas por cambios degenerativos de los vasos sanguíneos arteriales y heridas que resultan de la insuficiencia venosa crónica. Estas incluyen particularmente decúbito, así como heridas crónicas, en particular aquellas que resultan de la diabetes. Otras heridas causadas por quemaduras (ya sea por el calor, por
15 productos químicos o por congelación) o por escaldado pueden ser tratadas eficazmente.

FIGURAS

La Figura 1 muestra la curva de saturación de O₂ de hemoglobina dependiente de la presión parcial del O₂ circundante.

20 EJEMPLOS

Ejemplo 1:

La hemoglobina se aisló a partir de sangre entera de cerdos mediante la separación de los glóbulos rojos del suero, ruptura de los glóbulos rojos recogidos, sedimentación de restos de células, carga de la hemoglobina con
25 CO mediante la introducción de gas CO hasta que se obtiene la saturación de

la muestra de líquido, calentamiento de la solución, realización de varias etapas de filtración, incluyendo una etapa de filtración de virus y lavado de la solución de hemoglobina obtenida mediante la adición de dos veces un volumen 2 veces mayor del 0,9 % de solución salina y filtrado de la solución.

- 5 Se preparó una composición lista para usar para el tratamiento de heridas, que comprende el 10 % de hemoglobina purificada y estabilizada, el 0,05 % de N-acetil cisteína y el 0,7 % de fenoxi etanol en NaCl al 0,9 %. La composición se cargó de nuevo con gas CO, se separó en 10 porciones y se envasó en un contenedor de aerosol, respectivamente.

10 Ejemplo 2:

- Una primera porción de la composición del Ejemplo 1 se utilizó inmediatamente después de la preparación para el tratamiento de una paciente femenina (Diagnóstico: Diabetes, Hipertensión) con una herida crónica en el pie derecho (7x2cm). La herida se trató una vez al día mediante pulverización de la
- 15 composición sobre la herida. Después de 3 semanas los primeros signos de curación eran visibles. En las siguientes semanas el proceso de curación fue pronunciado y completo, obteniéndose el cierre de la herida después de 18 semanas.

Ejemplo 3:

- 20 Una segunda porción de la composición del Ejemplo 1 se almacenó a 4 °C durante 2 años después de la preparación y después de ello, se utilizó para tratar una herida crónica de un paciente masculino que sufría de diabetes mellitus tipo II. La composición se aplicó a una úlcera crónica superficial (4x3cm) en la tibia izquierda del paciente. La herida se trató una vez al día.
- 25 Después de 2,5 semanas la curación se hizo visible; después de 4 semanas la

herida se curó más del 50 % de la línea de base. En las siguientes semanas se observó una curación rápida y el cierre completo de la herida se obtuvo después de 8 semanas.

Ejemplo 4:

- 5 Una tercera parte de la composición del Ejemplo 1 se almacenó a 10 °C durante 2 años. Después de ello se utilizó para el tratamiento de una úlcera crónica superficial (4x2cm) en la pierna derecha de un paciente masculino que sufría de diabetes mellitus tipo II. La herida se trató una vez al día. Después de 2,5 semanas la curación era visible. En las siguientes semanas se observó una
- 10 curación rápida y el cierre completo de la herida se obtuvo después de 12 semanas.

Ejemplo 5:

- Una parte de la composición del ejemplo 1 se utilizó para tratar un paciente masculino después del contacto con agua hirviendo y vapor. El
- 15 diagnóstico fue de quemaduras de primer y segundo grado en el rostro.

El tratamiento inicial con gel frío y Neosporin durante una semana no mostró mejora y el médico que lo atendía propuso la aplicación de injertos de piel en la nariz y otras partes de la cara, como los párpados.

- Sin embargo, el paciente fue tratado con la composición del ejemplo 1
- 20 durante 7 semanas. La composición se aplicó a la piel por pulverización tres o cuatro veces al día. Se observó una mejoría y curación rápida de la piel y el paciente fue dado de alta del hospital después de siete semanas. No se requirieron injertos de piel.

Ejemplo 6: Comparación de hemoglobina cargada/no cargada

- 25 A) se preparó un espray cargado con hemoglobina de acuerdo con el Ejemplo

1

Se preparó una composición lista para usar para el tratamiento de heridas, que comprende el 10 % de hemoglobina purificada y estabilizada, el 0,05 % de *N*-acetilcisteína y el 0,7 % de fenoxi etanol en NaCl al 0,9 %. La
5 composición se cargó de nuevo con CO gas, se separó en 20 porciones y se envasó en un contenedor de aerosol, respectivamente.

La composición puede almacenarse entre 4 °C y temperatura ambiente durante meses a años.

B) Una segunda parte de sangre entera de cerdo se trató como en el Ejemplo 1
10 con la excepción de que no se realizó carga de CO. Durante la etapa de calentamiento precipitó una cantidad considerable de hemoglobina. Las siguientes etapas de filtración fueron difíciles de realizar. El rendimiento de hemoglobina purificada por litro de sangre entera disminuyó a menos del 30 % del rendimiento cuando la carga de CO se realiza antes del calentamiento. Esto
15 muestra que la carga de las muestras con CO durante la preparación estabiliza la hemoglobina de manera que durante una etapa de calentamiento precipita considerablemente menos hemoglobina.

Se preparó una composición lista para usar para el tratamiento de heridas que comprende el 10 % de hemoglobina purificada, el 0,05 % de *N*-
20 acetilcisteína y el 0,7 % de fenoxi etanol en NaCl al 0,9 %. La composición se repartió y envasó en contenedores de aerosol, respectivamente.

C) Una parte adicional de hemoglobina se aisló de sangre entera de cerdos por un método como se describe en el Ejemplo 1 del documento WO2003/077941 sin cargar la hemoglobina durante la preparación: la hemoglobina se liberó del
25 plasma y los constituyentes de la membrana celular sin calentamiento mediante

centrifugación y ultrafiltración, y se purificó.

Se preparó una composición lista para usar para el tratamiento de heridas, que comprende el 10 % de hemoglobina purificada, el 0,05 % de *N*-acetilcisteína y el 0,7 % de fenoxi etanol en NaCl al 0,9 %. La composición se
5 separó en 10 porciones y se envasó en un contenedor de aerosol, respectivamente.

Se preparó un espray de hemoglobina no cargada preparado de esta manera reciente durante el periodo de tratamiento tan a menudo como fuera necesario (los tres días) y se almacenó a 4 °C como máximo durante un día
10 antes de su uso.

Tratamiento de los pacientes:

Varios pacientes varones (edad 65-75) con úlcera por pie diabético en la parte inferior de la pierna fueron tratados durante tres meses con un espray de hemoglobina de acuerdo con A) (almacenado a 10 °C durante hasta 6 meses)
15 o un espray de hemoglobina recién preparado de acuerdo con C) (almacenado a 4 °C durante 3 días como máximo, es decir, los tres días se usó una composición reciente) hasta que se obtuvo la curación completa de la herida de todos los pacientes. De acuerdo con los dermatólogos asistentes, la curación de la herida obtenida con las composiciones de acuerdo con A) mostró en
20 todos los casos menor secreción, menor incrustación y/o menor supuración en comparación con las heridas tratadas con el espray de hemoglobina de acuerdo con C) y, en particular, en comparación con las heridas tratadas convencionalmente. Debido a problemas minoritarios las heridas tratadas con la composición de hemoglobina cargada de acuerdo con A) mostraron una
25 curación más rápida por cm^2 que las heridas tratadas con el espray de

hemoglobina no cargada C) y mucho más rápida que las heridas tratadas convencionalmente. Los pacientes tratados con la composición A) presentaron adicionalmente menores molestias.

Ejemplo 7:

5 Las muestras de las composiciones preparadas de acuerdo con el Ejemplo 6A), el Ejemplo 6B) o el Ejemplo 6C), respectivamente, se examinaron considerando la carga de O₂ de las muestras así como la producción de methemoglobina, una especie que es incapaz de unirse al O₂. Adicionalmente, la methemoglobina afecta a las moléculas de hemoglobina en la proximidad
10 cercana de manera que estas aún pueden unirse al O₂, pero no lo pueden liberar.

Todas las muestras de la Tabla 1 se diluyeron 1:1 con una solución de NaCl al 0,9 % para imitar las condiciones de un tratamiento de herida. Las muestras 7.1 a 7.8 se midieron inmediatamente después de la dilución (el
15 almacenamiento de las muestras 7.5 a 7.8 se realizó a temperatura ambiente antes de la dilución). El tratamiento con gas fue el siguiente: 6 ml de dicha solución diluida se transfirieron a un matraz de 30 ml cada uno. Se realizó el tratamiento con gas llenando el matraz de gas completamente con el gas respectivo, cerrando el matraz y girando la muestra durante 30 s. Todas las
20 muestras se almacenaron durante el periodo de tiempo mencionado a 30 °C. Las muestras se trataron de acuerdo con las condiciones descritas en la Tabla 1 y se midió la cantidad total de hemoglobina (hemoglobina + methemoglobina), el contenido de oxígeno, el contenido de methemoglobina y, opcionalmente, el contenido de CO.

Tabla 1

Ejemplo	muestra	tratamiento	Hb total g/dl	O ₂ %	CO %	MetHb %
7.1	Comp. recién preparada de acuerdo con el Ejemplo 6A)	ninguno	5,5	1,7	96,3	3,9
7.2	Comp. recién preparada de acuerdo con el Ejemplo 6B)	ninguno	5,7	26,8		5,1
7.3	Comp. recién preparada de acuerdo con el Ejemplo 6C)	ninguno	5,6	27,0		4,7
7.4	Composición del Ejemplo 6) almacenada durante 3 meses (10 °C)	ninguno	5,9	1,8	96,5	3,8
7.5	Composición del Ejemplo 7.2	Almacenado durante 24 h	5,6	26,9		11,2
7.6	Composición del Ejemplo 7.2	Almacenado durante 48 h	5,5	27,0		17,0
7.7	Composición del Ejemplo 7.3	Almacenado durante 24 h	5,7	26,5		10,5
7.8	Composición del Ejemplo 7.3	Almacenado durante 48 h	5,6	26,7		16,2
7.9	Composición del Ejemplo 7.4	0,5 h O ₂	5,8	13,7	84,7	4,4
7.10	Composición del Ejemplo 7.4	1 h O ₂	5,7	19,6	79,1	4,2
7.11	Composición del Ejemplo 7.4	2 h O ₂	5,8	25,7	73,1	4,3
7.12	Composición del Ejemplo 7.4	3 h O ₂	5,9	30,7	68,1	4,2
7.13	Composición del Ejemplo 7.4	24 h O ₂	5,7	33,5	59,6	9,8
7.14	Composición del Ejemplo 7.4	48 h O ₂	5,8	32,5	55,9	15,5

7.15	Composición del Ejemplo 7.4	72 h O ₂	5,7	31,7	55,8	16,0
7.16	Composición del Ejemplo 7.4	0,5 h CO ₂	5,8	4,0	91,8	5,7
7.17	Composición del Ejemplo 7.4	1 h CO ₂	5,7	6,0	90,0	5,7
7.18	Composición del Ejemplo 7.4	2 h CO ₂	5,9	9,2	86,7	5,8
7.19	Composición del Ejemplo 7.4	3 h CO ₂	5,7	9,6	85,1	6,9
7.20	Composición del Ejemplo 7.4	24 h CO ₂	5,6	4,9	77,5	19,7
7.21	Composición del Ejemplo 7.4	48 h CO ₂	5,8	8,2	68,2	27,4
7.22	Composición del Ejemplo 7.4	72 h CO ₂	5,7	9,4	65,9	28,3
7.23	Composición del Ejemplo 7.4	0,5 h aire	5,8	9,2	89,0	4,5
7.24	Composición del Ejemplo 7.4	1 h aire	5,7	12,4	85,9	4,4
7.25	Composición del Ejemplo 7.4	2 h aire	5,9	18,0	80,5	4,3
7.26	Composición del Ejemplo 7.4	3 h aire	5,6	20,7	77,9	4,3
7.27	Composición del Ejemplo 7.4	24 h aire	5,8	24,3	69,3	9,1
7.28	Composición del Ejemplo 7.4	48 h aire	5,7	25,4	64,3	13,9
7.29	Composición del Ejemplo 7.4	72h aire	5,7	26,8	62,2	14,3

Como puede verse a partir de los resultados en la Tabla 1 las composiciones de la invención, en las que el portador de oxígeno se carga con CO, no solo pueden almacenarse durante un largo tiempo sin que se forme methemoglobina, sino que además son capaces de reemplazar el CO unido por

5

O₂ cuando se ofrece al portador de oxígeno cargado. Si se expone al 100 % de O₂ (ejemplos 7.9 a 7.15) la saturación de O₂ de la hemoglobina aumenta muy rápido.

Si la composición se expone a CO₂, representando la situación dentro del tejido activo de la ruta de mamífero, se forma una mayor cantidad de methemoglobina (ejemplos 7.16 a 7.22).

La presión parcial de O₂ en el aire es solo de aproximadamente el 21 %, estando de acuerdo con por tanto con la curva de saturación de O₂ de la hemoglobina mostrada en la figura 1, siendo la saturación máxima posible de O₂ de la hemoglobina con oxígeno en aire de aproximadamente el 29 %. Considerando los ejemplos 7.23 a 7.29 el resultado sorprendente es que en 3 horas la composición expuesta al aire se carga con un 20,7 % de oxígeno, pero aún tiene un contenido de methemoglobina muy bajo. Cuando se tratan heridas externas, la composición se pulveriza sobre la superficie de la herida (limpia) y permanece en contacto con el aire.

Estos resultados muestran que una composición de acuerdo con la invención comprende un portador de oxígeno estabilizado que después de varios meses de almacenamiento proporciona un elevado transporte de oxígeno cuando se pone en contacto con aire.

REIVINDICACIONES

1. Composición, que comprende
 - (a) un portador de oxígeno, preferiblemente hemoglobina o mioglobina, en la que en al menos el 40 % de dicho portador de oxígeno, el sitio de unión a oxígeno está cargado con un ligando que no es O₂, y
 - (b) al menos un ingrediente adicional, seleccionado de electrolito(s), conservante(s), estabilizante(s), anti-floculante(s), anticoagulante(s), agente(s) tamponadores del pH, disolvente(s), antioxidante(s), agente(s) formador(es) de película o agente(s) de reticulación.
2. Composición de acuerdo con la reivindicación 1 caracterizada por que la composición es una solución acuosa u orgánica.
3. Composición de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizada por que al menos el 50 %, preferiblemente al menos el 60 %, más preferido al menos el 70 %, incluso más preferido al menos el 80 %, particularmente preferido al menos el 90 % del portador de oxígeno se proporciona en forma cargada con ligando.
4. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada por que el ligando se selecciona entre monóxido de carbono y monóxido de nitrógeno.
5. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4,

caracterizada por que el portador de oxígeno es hemoglobina o mioglobina, preferiblemente hemoglobina o mioglobina de origen natural de origen humano o animal, o es hemoglobina o mioglobina tratada artificialmente, reticulada o modificada, de origen humano o animal.

5

6. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 proporcionada en forma esterilizada.

7. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, proporcionada en un contenedor de aerosol, preferiblemente en un contenedor de aerosol de paquete a presión.

8. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso para el tratamiento externo de heridas.

15

9. Método para preparar una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que (i) el portador de oxígeno se carga con el ligando protector durante o después del aislamiento de su entorno natural, (ii), se añade al menos un ingrediente adicional (b), (iii) la composición se esteriliza opcionalmente y (iv) la composición se envasa, preferiblemente en un contenedor de aerosol.

10. Método de acuerdo con la reivindicación 9, en el que la composición se esteriliza en la etapa (iii) por calentamiento, filtración, centrifugación, adición de conservantes, aplicación de vapor, aplicación de gas o aplicación UV o una

25

combinación de al menos dos de ellos.

11. Uso de hemoglobina o mioglobina cargada en su sitio de unión a oxígeno con un ligando que no es O_2 para la preparación de un agente o una
5 composición para el tratamiento externo de heridas.

12. Hemoglobina o mioglobina cargada en su sitio de unión a oxígeno con un ligando que no es O_2 para su uso en un método para el tratamiento externo de heridas.

10

13. Composición de acuerdo con la reivindicación 8 o uso de acuerdo con la reivindicación 11 o 12, caracterizada por que las heridas que han de ser tratadas son heridas crónicas, heridas quirúrgicas, heridas de lesiones, heridas después de un traumatismo, heridas abiertas, heridas crónicas, heridas con
15 mala curación o heridas hipóxicas, heridas que surgen de la degeneración o de la estenosis de los vasos sanguíneos arteriales, heridas que surgen por la enfermedad diabética, heridas que surgen de la insuficiencia venosa crónica o heridas por úlcera de decúbito o heridas de quemaduras por calor, quemadura química o quemadura por congelación o heridas de escaldado.

20

14. Proceso para purificar un portador de oxígeno, que es hemoglobina o mioglobina a partir de sangre entera, que comprende las etapas de:

- a. separar el plasma de la sangre entera
- b. lisar los glóbulos rojos de la sangre
- 25 c. cargar el portador de oxígeno con un ligando

- d. calentar la muestra a una temperatura en el intervalo de 40 a 85 °C
- e. separar el portador de oxígeno de cualquiera de los componentes sanguíneos no deseados.

en el que la etapa (e) incluye al menos una etapa de filtración.

5

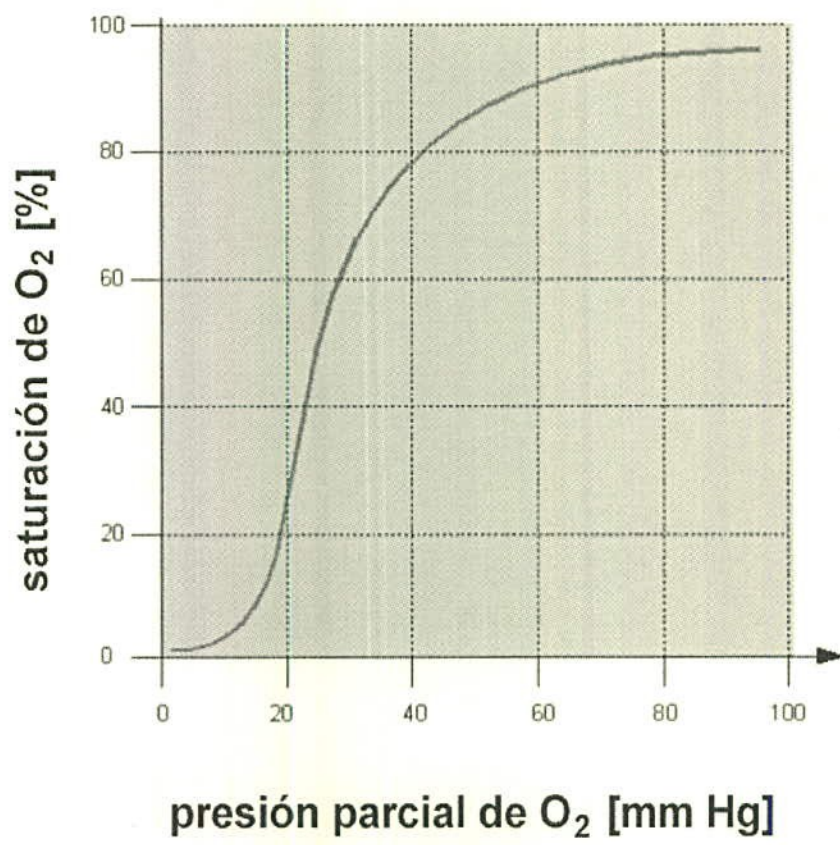
15. Proceso de acuerdo con la reivindicación 14, en el que el ligando es monóxido de carbono o monóxido de nitrógeno.

16. Proceso de acuerdo con la reivindicación 14 o 15, en el que la filtración
10 en la etapa (e) comprende el uso de un filtro estéril y/o un filtro para virus.

RESUMEN

La presente invención se refiere a una composición, que comprende hemoglobina o mioglobina, en la que en al menos el 40 % de dicha hemoglobina o mioglobina el sitio de unión a oxígeno está cargado con un
5 ligando que no es O₂, y al menos un ingrediente adicional, un método para la preparación de dicha composición y el uso de hemoglobina o mioglobina cargada con un ligando que no es oxígeno para el tratamiento externo de heridas.

Figura 1



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 000530

Bogotá D.C., Enero 07 de 2014 - 12:45:54

RECIBIDO DE : MARIO DELGADO ECHEVERRY E HIJOS LTDA

NI 800.020.909

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
RECIBO DE CA	999999999	492	07/01/2014		3.325.000.00
RECIBO DE CA	999999999	514	07/01/2014		2.355.000.00
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	201224251	30/12/2013	3.496.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	515.000.00	515.000.00
			\$515.000.00

SON: **QUINIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable:

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. PCT/EP2012/003086

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-011086- -00000-0000

Fecha: 2014-01-21 15:58:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 50

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Enero 7 de 2014 - 12:45:58

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 006289

Bogotá D.C., Enero 21 de 2014 - 11:25:35

RECIBIDO DE : MARIO DELGADO ECHEVERRY E HIJOS LTDA

NI 800.020.909

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
RECIBO DE CA	999999999	6288	21/01/2014		186.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
6 50005-01-01	SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	31.000.00	186.000.00
				\$186.000.00

SON: **CIENTO OCHENTA Y SEIS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable:

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. PCT/EP2012/003086

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-011086- -00000-0000

Fecha: 2014-01-21 15:58:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 50

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Enero 21 de 2014 - 11:25:36

10

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
TARJETA ARCHIVO TEMATICO

PATENTE DE INVENCION X PCT X MODELO DE UTILIDAD DISEÑO INDUSTRIAL

(21) N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud:

(51) Clasificación Internacional :

(71) Solicitante(s) **SASTOMED GMBH**

(72) Inventor(es): **SANDER, Michael; PÖTZSCHKE, Harald**

(74) Apoderado: **JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS**

Prioridad	(31)	No. Prioridad	32)	Fecha	(33)	País
		11006057.1		23/07/2011		EP

(85) Fecha límite inicio fase nacional: **23/02/2014**

(86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT

Fecha de presentación de la solicitud: **23/07/2012**

No. de solicitud **PCT/EP2012/003086**

(87) Publicación internacional:

Fecha: **31/01/2013**

No. Publicación: **WO2013/013799 A1**

(54) Título: **ESPRAY PARA HERIDAS**

(57) Resumen: Composición, que comprende: (a) un portador de oxígeno, preferiblemente hemoglobina o mioglobina, en la que en al menos el 40 % de dicho portador de oxígeno, el sitio de unión a oxígeno está cargado con un ligando que no es O₂, y (b) al menos un ingrediente adicional, seleccionado de electrolito(s) conservante(s), estabilizante(s), anti-floculante(s), anticoagulante(s), agente(s) tamponadores del pH, disolvente(s), antioxidante(s), agente(s) formador(es) de película o agente(s) de reticulación.

CONTINUA AL RESPALDO

49

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

PATENTE DE INVENCION X PCT X MODELO DE UTILIDAD DISEÑO INDUSTRIAL

(21) N° de solicitud:

(22) Fecha de solicitud:

(51) Clasificación Internacional :

(71) Solicitante (s) **CLOSED JOINT STOCK COMPANY "BIOCAD"**

(72) Inventor(es) **CHERNOVASKAYA, Tatyana Veniaminovna; DENISOV, Lev Alexandrovich; RUDENKO, Elena Georgievna; KLENOVA, Angelina Vsevolodovna; MOROZOV, DmitriyValentinovich; MOROZOVA, Elena Leonidovna.**

(74) Apoderado: **JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS**

(30) Prioridad	(31)	No. Prioridad	(32)	Fecha	(33)	País
		2010133875		13-08-2010		RU

(85) Fecha inicio fase nacional: **13/03/2013**

(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT

Fecha de presentación de la solicitud: **19/07/2011**

No. de solicitud **PCT/ RU2011/000532**

(87)

Publicación internacional

Fecha: **16/02/2012** Fecha (dd/mm/aa)

N° publicación: **WO2012/021088 A1**

(54) Título: **UN NUEVO CONJUGADO DE GRANULOCITO COLONIA-ESTIMULANTE FACTOR (G-CSF) CON POLIETILENO GLICOL**

50

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCIONPCT	
(21) N° de solicitud		(22) Fecha de solicitud:	
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	11006057.1	23/07/2011	EP
		(51) Int Cl:	
		(71) Solicitante(s)	SASTOMED GMBH
		(72) Inventor(es)	SANDER, Michael PÖTZSCHKE, Harald
		(74) Apoderado:	JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS
(85) Fecha límite inicio fase nacional:		23/02/2014	
Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT			
Fecha de presentación de la solicitud		23/07/2012	
No. de solicitud		PCT/EP2012/003086	
		(87) Publicación	Internacional
		Fecha:	31/01/2013 (dd/mm/aa)
		N° publicación:	WO2013/013799 A1
(54) Título: ESPRAY PARA HERIDAS			

Resumen

Composición, que comprende

- (a) un portador de oxígeno, preferiblemente hemoglobina o mioglobina, en la que en al menos el 40 % de dicho portador de oxígeno, el sitio de unión a oxígeno está cargado con un ligando que no es O₂, y
- (b) al menos un ingrediente adicional, seleccionado de electrolito(s) conservante(s), estabilizante(s), anti-floculante(s), anticoagulante(s), agente(s) tamponadores del pH, disolvente(s), antioxidante(s), agente(s) formador(es) de película o agente(s) de reticulación.