

S/Ref.: A-2337

N/Ref.: O.G. 30.271/AV

PATENTE DE INTRODUCCION

439349

24 FEB. 1977

CONCEDIDA

Int. Cl.: G02c//c03B

MEMORIA DESCRIPTIVA

Sobre:

METODO DE ELIMINACION DE DEPOSITOS PROTEINICOS DE LENTES
BLANDAS DE CONTACTO.

Solicitante: La Corporacion del Estado de California --
ALLERGAN PHARMACEUTICALS, domiciliada en: --
2525 Dupont Avenue - IRVINE, California (U.S.A.).

POOR
QUALITY

Ya han sido descritos materiales plásticos hidrofílicos o parcialmente hidrofílicos para su empleo en la producción de las denominadas lentes de contacto blandas. Por ejemplo, la patente estadounidense nº 3.503.393, de Seiderman, y la de igual nacionalidad nº 2.976.576, de Wichterle, describen procedimientos de producción de polímeros hidrofílicos tridimensionales de polihidroxietilmetacrilato en medios de reacción acuosos que tienen una estructura de hidrogel polimero escasamente ligada en sentido transversal y el aspecto de hidrogeles transparentes, blandos y elásticos. Otras lentes de contacto blandas incluyen las construídas de silicona y otros materiales flexibles ópticamente adecuados.

Las virtudes principales de estas lentes consisten en su blandura y adecuabilidad óptica. Las lentes hidrofílicas son particularmente útiles en oftalmología debido a su notable capacidad de absorción del agua, con su correspondiente dilatación a una masa blanda de resistencia mecánica extremadamente buena, completa transparencia y capacidad de retención de la forma y dimensiones cuando se equilibra en un fluido determinado.

Uno de los problemas relacionados con estas lentes de contacto blandas es el método de limpieza de las mismas. La misma propiedad de las lentes blandas hidrofílicas que les permite absorber hasta el 150% en peso de agua, permite también la absorción de formulaciones que de otro modo podrían emplearse para su limpieza e incluso su concentración y ulterior liberación cuando la lente de contacto blanda se encuentra colocada en el ojo. La citada liberación puede ser mucho más lenta que la absorción; por consiguiente, la formulación limpiadora conti-

5. nua acumulándose en las lentes. Esta acumulación afecta finalmente a las características físicas de aquéllas, incluyendo sus dimensiones, color, etc. Esto puede tener el nocivo resultado de dañar o manchar la propia lente de contacto y/o de perjudicar los sensibles tejidos de la conjuntiva o córnea.

10. Las lentes de contacto duras no absorben cantidades apreciables de agua (concretamente del 0,1 al 0,4%) y por consiguiente el uso de preservadores efectivos no crea ningún problema en el terreno de estas lentes de contacto duras. Tal como se indica en la publicación médica "Highlights of Ophthalmology" ("Novedades Destacadas en Oftalmología"), Volumen III, 3 de Noviembre de 1.969, la esterilización y limpieza de las lentes de contacto blandas se llevan a cabo
15. actualmente hierven las lentes en agua durante 15 minutos, operación bastante peligrosa e inconveniente. Además, los usuarios de lentes de contacto blandas son prevenidos de que bajo ninguna circunstancia deberán usarse soluciones
20. destinadas a lentes de contacto duras, por la razón de que los materiales de tales soluciones pueden ser absorbidos e incluso concentrados por la lente blanda, pudiendo dañar seriamente ésta última y/o el ojo de su usuario.

25. Un segundo problema relacionado con las lentes de contacto blandas ha sido descubierto ahora. Se ha comprobado que se depositaban materiales total o parcialmente opacos sobre la superficie de tales lentes. Esta fijación de material es firme y no puede eliminarse por métodos de limpieza convencionales que no dañen de otra manera la lente o el ojo de su usuario, por ejemplo mediante impregnación o ebullición en
30. salina normal. La acumulación de material es gradual, aunque

5. finalmente termina por dar opacidad a la lente. Además, incluso antes de que la lente se torne opaca, su usuario observa que aquella se hace cada vez más incómoda de llevar, debido a la irritación causada en el ojo por la gradual acumulación de dicho material sobre la superficie de la lente.

10. La lisozima es una enzima que tiene un punto isoeléctrico (pI) de 11. Es decir, a un pH de 11, se carga neutralmente una molécula de lisozima. A un pH inferior a 11, la lisozima queda positivamente cargada y a un pH superior a 11, negativamente cargada. Al pH de la lágrima humana, es decir, un pH de 6,5 a 7,5, la lisozima es fuerte y positivamente cargada. La naturaleza básica de la lisozima se debe al número de aminoácidos básicos presentes en su estructura, de los que el más básico es la arginina.

15. El material proteínico presente en la superficie de las lentes de contacto, especialmente de las blandas, puede eliminarse mediante el contacto de la lente, durante un tiempo suficiente para limpiarla, con una solución acuosa sustancialmente isotónica que contenga una cantidad efectiva de una proteasa.

20. La presente invención se relaciona también con una composición que contiene proteasa, adecuada para eliminar materiales proteínicos de las lentes de contacto.

25. La figura 1(A) es una microfotografía de una sección transversal de una lente de contacto blanda revestida de proteína por un método de laboratorio.

La figura 1 (B) es una microfotografía de una sección transversal de una lente de contacto blanda revestida de proteínas de origen humano.

30. Las figuras 2(A, B, C y D) son microfotografías de

porciones del interior y exterior superficiales de una lente de contacto blanda revestida con proteína por un método de laboratorio.

5. Las figuras 3 (A, B, C y D) son microfotografías de porciones de las superficies interna y externa de una lente de contacto blanda revestida de proteína de origen humano.

10. Las figuras 4 (A, B, C y D) son microfotografías de correspondientes porciones de las superficies interna y externa de la lente de contacto blanda de las figuras 2(A, B, C y D), que han sido limpiadas por el procedimiento de la presente invención.

15. Las figuras 5 (A, B, C y D) son microfotografías de correspondientes porciones de las superficies interna y externa de la lente de contacto blanda mostrada en las figuras 3(A, B, C y D), que han sido limpiadas por el procedimiento de la presente invención.

20. La figura 6 es un gráfico en el que se comparan los espectros ultravioletas de una lente de contacto blanda revestida de lisozima y una lente de contacto blanda revestida de proteína humana, la última después de haberse limpiado por el procedimiento de la presente invención.

25. Las proteasas que pueden usarse en la presente invención son las enzimas proteolíticas que no afectan a las lentes blandas y que resultan atóxicas para los ojos de su usuario. La preferida enzima proteolítica es la papaína. Otras adecuadas enzimas proteolíticas incluyen la tripsina, la quimo-tripsina, la estreptoquinasa, la estreptodornasa, la ficina, la pepsina, la carboxipeptidasa, la aminopeptidasa, la quimo-papaína, la bromelina y otras enzimas proteolíticas.

30. ticas.

La cantidad de proteasa que debe emplearse en la presente invención varía del 0,01 al 5% aproximadamente y, preferiblemente, del 0,05 al 1,0%.

5. La preferida formulación consiste en una solución acuosa sustancialmente isotónica que contiene papaina estabilizada en lactosa (Frolasa 300) con hidrocloreuro de cisteína monohidrato y edetato disódico en una base de fosfato y salina.

10. La papaina es una enzima derivada del fruto verde nativo de la papaya tropical o árbol malonero (Carica papaya), cuyo fluido acuoso claro es recogido, secado, pulverizado y cribado para producir la papaina. Es una enzima similar a la pepsina, pero actúa en solución ácida, alcalina o neutra. Es un polvo blanco a gris moderadamente hidrocópico. Disuelve 15. aproximadamente 200 veces su peso de albúmina de huevo coagulada en líquido alcalino aproximadamente en 5 horas, es muy soluble en agua y glicerina, pero casi insoluble en alcohol.

20. La proteasa Frolase 300^R es comercialmente asequible y contiene las enzimas proteolíticas activadas y refinadas derivadas de la planta tropical Carica papaya. La Frolase 300^R se suministra en forma de polvo de color canela - claro de potencia uniforme. Cada gramo de Frolase 300^R contiene 300 unidades de Actividad papainica Wallerstein, de- 25. terminado por un método de ensayo de coagulación de leche o por un método de digestión de caseína.

30. Con referencia ahora más detallada a los dibujos, las figuras 1(A) y (B) son microfotografías electrónicas de exploración (20.000 aumentos) de secciones transversales de lentes de contacto blandas Bausch & Lomb. La lente mostrada

en la figura 1(A) ha sido revestida por el procedimiento del Ejemplo 1 con lisozima; la lente mostrada en la figura 1(B) es una lente de uso humano. Las micrografías se efectuaron seccionando transversalmente las lentes y aplicando un revestimiento metálico evaporado al vacío. Se efectuaron micrografías del borde cortado de las lentes, aproximadamente en sentido perpendicular al plano de la lente, usando un microscopio electrónico de exploración Cambridge.

La lente revestida con lisozima, mostrada en la figura 1(A) tiene una capa definida de proteína fijada a su superficie. El grosor de la capa era de un promedio de 0,25 micra sobre la zona observada. Se observaron grandes partículas semiesféricas de 0,7 micra aproximadamente de diámetro empotradas en la capa superficial.

La superficie de la lente de uso humano mostrada en la figura 1(B) no muestra la capa de proteína tan marcadamente como la lente revestida con lisozima. La presencia de dicha capa se observó visualmente en la pantalla del tubo de rayos catódicos, pero tal capa se fundió al polímero de la lente debido al calentamiento producido por el haz de electrones, antes de que pudiese tomarse una fotografía. Sin embargo, la capa superficial muestra algunas partículas esféricas de un diámetro de 7,619 nm. aproximadamente.

Las figuras 2(A, B, C y D) son fotografías con 500 y 2000 aumentos de las superficies interna y externa de una sección de lente de contacto blanda Bausch & Lomb que ha sido revestida con lisozima por el método del Ejemplo 1. La presencia de la capa de lisozima es claramente evidente.

Las figuras 3(A, B, C y D) son similares a las figuras 2 (A, B, C y D), con la excepción de que las lentes -

blandas fueron usadas por una persona y por consiguiente --
los depósitos son de proteína humana. La presencia de la ca-
pa de proteína es menos evidente que en la figura 2, pero -
no obstante se ve el revestimiento, especialmente en la su-
perficie exterior de la lente, con 2000 aumentos.

5.

Las figuras 4 (A, B, C y D) son fotografías con
500 y 2000 aumentos de las superficies interna y externa de
porciones de la misma lente mostrada en la figura 2, con la
excepción de que la porción mostrada en la figura 4 ha sido
previamente limpiada con el uso del método mostrado en el
Ejemplo VII. La lente fue limpiada durante 48 horas. La --
gran mancha blanca de la parte superior central de la figura
4C es una fibra suelta introducida durante el proceso de --
preparación de la muestra.

10.

Las figuras 5 (A, B, C y D) son fotografías con
500 y 2000 aumentos de las superficies interna y externa de
porciones de la misma lente mostrada en la figura 3, con la
excepción de que la porción mostrada en la figura 5 ha sido
previamente limpiada de acuerdo con el Ejemplo VII. La len-
te fue limpiada durante 48 horas.

15.

20.

Como resulta evidente mediante una comparación de
las figuras 2 y 4 con las 3 y 5, la presente invención per-
mite limpiar eficazmente los depósitos proteínicos de las
lentes, tanto las revestidas en el laboratorio como las que
han sido usadas por una persona.

25.

La figura 6 muestra el espectro ultravioleta de --
una lente de contacto blanda Bausch & Lomb revestida con --
linozima por el método del Ejemplo I. El espectro fue tomado
frente a una lente blanda de referencia para mostrar solamen-
te el espectro del depósito. La figura 6 muestra también el

30.

espectro ultravioleta de una lente de contacto blanda -- Bausch & Lomb que ha sido usada por una persona y que presentaba depósitos de proteína, analógicamente tomado frente a una lente blanda de referencia. Las curvas son notablemente similares, indicando que la proteína depositada por el usuario es completamente similar al depósito de lisozima. La figura 6 muestra también un espectro ultravioleta de la lente del modelo de laboratorio anteriormente descrita, que fue limpiada por el método del Ejemplo VI.

10. Una composición típica de la presente invención puede contener, además de los ingredientes activos descritos anteriormente, lubricantes para ayudar a hacer más confortable para el usuario la composición limpiadora oftálmica.

15. También pueden usarse adecuados neutralizadores y estabilizadores, incluyendo citrato sódico o potásico, -- ácido cítrico, ácido bórico, Na_2EDTA , varios neutralizadores fosfatos mezclados y NaHCO_3 . Generalmente pueden usarse neutralizadores y estabilizadores en cantidades comprendidas entre el 0,001 y el 2,5% y preferiblemente entre el 0,01 y el 1% en peso, aproximadamente.

20. Además, pueden usarse agentes atóxicos adecuados para su empleo en la esterilización de lentes de contacto blandas, en combinación con las formulaciones de proteasa -- de la presente invención.

25. Se ha descubierto también que la efectividad de la proteasa puede acentuarse mediante el uso de un compuesto que contenga grupos sulfahidrilos atóxicos. Adecuados compuestos activadores que contienen sulfahidrilos incluyen --
30. al hidrocloreuro de cisteína, ditiotreitól, ditioeritritol,

bisulfito sódico, metabisulfito sódico y tiourea. Generalmente, pueden usarse activadores en proporciones comprendidas entre el 0,01 y el 5% preferiblemente entre el 0,05 y el 1,0% en peso.

5* La solución de tratamiento para lentes de contacto se mantiene generalmente en salina fisiológica o aproximadamente salina al 0,9%. Una solución hipotónica, por ejemplo agua del grifo, hará que la lente se adhiera firmemente a la córnea, mientras que las soluciones hipertónicas (exceso de salina) tendrán por resultado picores, lacrimación y enrojecimiento del ojo.

10* Debe entenderse que la anterior descripción de las proporciones de los diversos compuestos que pueden usarse en la presente invención se refiere a los porcentajes de inredientes en solución. La formulación puede presentar también la modalidad de una o más formas de dosificación sólidas convencionales, tales como tabletas adecuadas para su empleo en una cantidad medida de un adecuado disolvente, -- tal como agua. La composición porcentual de las formas de dosificación sólidas será tal que, cuando se disuelve en --

15* un volumen específico de agua, la solución presente la composición porcentual dentro de los límites expuestos en la descripción. Si se usan formas de dosificación sólidas, la formulación puede incluir lubricantes, aglutinantes y excipientes convencionales, que incluyan al glicerol, sorbitol, ácido bórico, glicol propilénico, glicoles polietilénicos, dextrano, celulosa metilica, hidroxietilcelulosa, sales de carboximetilcelulosa solubles en agua o hidrofílicos naturales, tales como gelatina, alginatos, tragacanto, pectina, --

20* acacia y almidones solubles. Estos materiales se usan en --

25* --

30* --

proporciones que varían entre el 0,01 y el 10% y preferible-
mente entre el 0,1 y el 5% en peso. Una tableta que puede -
usarse contiene los ingredientes expuestos en el Ejemplo -
VII (bajo el encabezamiento "Tableta"). La tableta puede -
5. combinarse con agua aproximadamente en las proporciones ex-
puestas en una relación de 25 a 250 mg aproximadamente de -
composición por cada 10 ml de agua.

El método de uso de la solución limpiadora es el
siguiente. El usuario de las lentes de contacto blandas las
10. retira de sus ojos y las coloca en un adecuado recipiente -
con una suficiente cantidad de la composición de la presen-
te invención para cubrirlas. Se dejan impregnar durante un
período de 1 minuto a 48 horas y preferiblemente de 1 minu-
to a 24 horas, aproximadamente, a temperatura ambiente, o -
15. durante períodos más cortos a elevadas temperaturas, por -
ejemplo de 1/2 a 6 horas a 37°C.

Para ilustrar la manera en que puede ponerse en -
práctica la invención, se ofrecen los siguientes ejemplos.
Se comprenderá sin embargo que éstos tienen solamente una
20. finalidad ilustrativa y que no ha de considerarse limitada
la invención a ninguno de los materiales o condiciones espe-
cíficos en ellos expuestos. Salvo indicación en contrario -
"%" significa % (p/v) e igualmente, si no se indica otra co-
sa, se emplearon lentes de contacto blandas Bausch & Lomb
25. Soflens (R).

El sistema de homologación ideado para especificar
la naturaleza de cualquier depósito hallado en las lentes -
blandas fue el siguiente. Si no eran visibles tales depósi-
tos a simple vista, se consideraba aceptable la lente. Algu-
30. nas lentes "aceptables" tenían depósitos que podían verse al

- microscopio, pero tales depósitos no se consideraron importantes. Si éstos eran algo visibles a simple vista y claramente discernibles por el microscopio, se consideraba la lente como del tipo III y potencialmente nociva. Si los depósitos eran claramente visibles a simple vista, la lente se consideraba del tipo IV. Las lentes de este último tipo se consideraron nocivas. Además, si hasta algo menos de 1/4 de la superficie de la lente presentaba depósitos, ésta se describía como "A". Análogamente, la lente se describía como "B" si hasta algo menos de la mitad de su superficie tenía depósitos, "C" si hasta algo menos de 3/4 de su superficie presentaba tales depósitos y "D" si más de los 3/4 de su superficie tenía dichos depósitos.

EJEMPLO I

15. Para ensayar la hipótesis de que la lisozima o proteína análoga a ella estaba causando los depósitos opacos en las lentes de contacto blandas, se creó un modelo de laboratorio. Se usó una solución de proteína de un pH de 7,4, como sigue.
20. Solución de proteína
0,1% lisozima de esclerótica de gallina.
0,23% $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
1,15% Na_2HPO_4
0,2% ClNa
25. H_2O hasta el 100,00%
- Se hirvieron en la solución de proteína durante media hora 6 lentes de contacto blandas (Bausch & Lomb "Softlens") de polihidrosietilmetacrilato limpias. Luego se retiraron y se inspeccionaron. Se observaron las seis lentes recubiertas con un grueso depósito del Tipo IV.

Ejemplo II

Se hirvieron en salina al 0,9% durante media hora seis lentes de contacto blandas (Bausch & Lomb "Softlens") de polihidroxietilmetacrilato limpias. Luego se retiraron y se dejaron impregnar en la solución de proteína del Ejemplo I. Se repitió el ciclo como queda indicado y se inspeccionaron las lentes para la posible existencia de depósitos.

Los resultados de este Ejemplo aparecen en la siguiente Tabla.

10.

TABLA I

Número de lentes que resultaron:

<u>Ciclos</u>	<u>Aceptables</u>	<u>III</u>				<u>IV</u>			
		<u>A</u>	<u>B</u>	<u>C</u>	<u>D</u>	<u>A</u>	<u>B</u>	<u>C</u>	<u>D</u>
0	6	-	-	-	-	-	-	-	-
15.	6	-	-	1	-	-	-	-	-
11	4	-	1	1	-	-	-	-	-
16	4	-	-	1	-	-	-	1	-
20	4	-	-	1	-	-	-	1	-
25	4	-	-	-	-	-	1	-	-
20.	49	1	-	1	-	-	-	1	1

El anterior Ejemplo II indica la proteína en depósitos en Modelos de Laboratorio sobre las lentes blandas dentro de seis ciclos. Los subsiguientes ciclos muestran generalmente la formación de depósitos más densos.

25.

EJEMPLO III

Se repitió el Ejemplo I, con la excepción de que se emplearon dos lentes blandas y la solución de proteína no contenía neutralizador fosfato. Ambos lentes resultaron recubiertas con un espeso depósito del tipo IV.

30.

EJEMPLO IV

Este ejemplo describe el procedimiento usado para

determinar la naturaleza química de la película opaca blanca observada en las lentes de contacto blandas. Se usó un analizador aminoácido convencional. Las lentes de contacto blandas aquí empleadas eran "Soflens" Bausch & Lomb y comprendían (1) siete lentes usadas por persona (2) siete lentes usadas por conejos y (3) cuatro lentes producidas en el laboratorio, todas ellas con densos depósitos opacos en sus superficies. Los depósitos fueron producidos en personas y conejos mediante uso de las lentes por los respectivos sujetos durante un período de dos a cuatro semanas y 6 a 7 horas al día. Las lentes fueron impregnadas en salina al 0,9% durante toda la noche entre los períodos de uso. Los depósitos opacos sobre las cuatro lentes producidas en el laboratorio fueron realizados por el procedimiento del Ejemplo I.

15. Hidrólisis ácida

Se colocaron cuatro lentes usadas por personas -- (Muestra A), cuatro lentes blandas usadas por conejos (Muestra B) y dos lentes blandas del modelo de laboratorio (Muestra C) respectivamente en ampollas de vidrio de 10 ml. Se añadió a cada ampolla 10 ml de ácido clorhídrico 6N y se congeló el contenido de cada ampolla usando un baño de acetona y hielo seco. Las ampollas fueron regadas con nitrógeno y selladas; se colocaron en un horno a 100°C y se mantuvieron a esta temperatura durante 48 horas. Pasado este tiempo de 48 horas de hidrólisis ácida, se evaporaron las soluciones de ácido clorhídrico hasta su secamiento, respectivamente. Se volvieron a disolver las muestras secas en un volumen total de 1,0 ml de neutralizador citrato, a un pH de 2,0. Se inyectaron las muestras en el analizador de aminoácidos de la manera convencional y se tabularon los resultados.

Hidrólisis básica

Se colocaron tres lentes blandas usadas por personas (Muestra D), tres lentes blandas usadas por conejos (Muestra E) y dos lentes blandas del modelo de laboratorio (Muestra F) respectivamente en ampollas de vidrio de 10 ml. Se añadieron a cada ampolla 10 ml de solución de hidróxido bórico al 6,5% y se congeló el contenido de cada ampolla usando un baño de acetona y hielo seco. Se regaron las ampollas con nitrógeno y se sellaron; luego se incubaron durante un periodo de 48 horas a 100°C. Se ajustó la mezcla de reacción enfriada a un pH de 6,0 con ácido sulfúrico 2N, se calentó hasta su ebullición y se centrifugó para separar el sulfato bórico. El líquido sobrenadante y las aguas de lavado se evaporaron hasta su secamiento y se disolvió el residuo en 2 ml de neutralizador citrato a un pH de 2,0. Se inyectaron las muestras en el analizador de la manera convencional y se tabularon los resultados.

La siguiente Tabla 2 muestra los resultados de los anteriores análisis sobre los depósitos opacos en las lentes usadas por personas, conejos y producidas en el laboratorio y compara los resultados con los datos publicados sobre la lisozima de lágrima humana (J. Lab. and Clin. Med., diciembre 1967, páginas 951-952) y la lisozima de esclerótica de gallina (Biken Journal, Volumen 9, páginas 107-114, 1966).

Tabla 2

Relaciones de aminoácidos observados en los depósitos de lentes de contacto blandas en comparación con las relaciones publicadas de aminoácidos en la lisozima humana y de esclerótica de gallina.

Co	Nº	Nº	Nº	Nº	Nº	Nº
Aminoácidos	Lisozima lá- grina humana publicada	Depósito lento uso humano	Lisozima esole rética gallina publicada	Lisozima escleróti ca gallina, lente modelo laboratorio	Depósito len tes usada por cone jos.	
Treonina	6	6	7	7	7	7
Serina	7	7	10	10	9	9
Acido glutámico	9-10	9	5	5	11	11
Prolina	3	5	2	2	-	-
Glicina	11	11	12	12	12	12
Alanina	12-13	10-11	12	12	6	6
Semi-cistina	6	-	8	-	-	-
Valina	8	6	6	6	6	6
Metionina	2	-	2	-	-	-
Isoleucina	5	3-4	6	6	4	4
Leucina	8	7	8	8	7	7
Tirosina	5	4	3	3	-	-
Fenilalanina	2	3	3	3	7	7
Histidina	1	1	1	1	2	2
Lisina	5	2	5	5	4	4
Arginina	11-12	10-11	11	11	9	9
Triptofano	-	-	-	-	-	-
Acido aspártico	-	-	-	-	-	-

La Tabla 2 muestra que, como era de esperar, las relaciones de aminoácidos en la proteína depositada en las lentes blandas utilizando el modelo de laboratorio admiten una comparación muy estrecha con la relación de aminoácidos de la publicada lisozima de esclerótica de gallina. Esto era de esperar porque el modelo de laboratorio utilizó lisozima de esclerótica de gallina para revestir las lentes.

La Tabla 2 muestra también que la relación de aminoácidos de la proteína de lentes blandas usadas por personas admite una comparación muy estrecha con la relación de aminoácidos de la lisozima de lágrima humana publicada, deduciéndose muy marcadamente que la proteína depositada sobre las lentes usadas por personas es lisozima o una proteína análoga.

Los resultados mostrados en la Tabla 2 muestran también claramente la naturaleza de los delgados depósitos opacos que se acumulan sobre las lentes blandas como proteína clasificada como básica debido a las elevadas proporciones de lisina y arginina presentes.

Debe destacarse que las relaciones de aminoácidos de la proteína de las lentes usadas por personas presentaron una comparación muy favorable con la proteína de las lentes del modelo de laboratorio, indicando que el modelo de laboratorio en su conjunto constituye una aproximación muy buena al depósito sobre las lentes blandas de uso humano.

Finalmente, debe destacarse que, aunque la proteína depositada en el modelo de lente usada por conejos es una proteína básica y sus propiedades parecen completamente diferentes en cuanto a su composición de aminoácidos y relación respecto a la proteína de la lente de uso humano y la

proteína de la lente del modelo de laboratorio.

EJEMPLO V

5. Se restregaron con salina seis lentes de contacto blandas revestidas con lisozima del tipo IV, para eliminar cualquier depósito suelto. Se impregnaron las lentes en 5 a 10 ml de la siguiente solución enzimática a temperatura ambiente.

Solución enzimática

10. Metabisulfito sódico 0,1M

Cistina, 0,01M

Edetato disódico 0,002M

Papaina en agua purificada 10 mg/100 ml

15. Se ajustó el pH de la solución en 6,5 con fosfato hidrógeno disódico antes de la adición de papaina. Se retiraron dos lentes con intervalos de media hora, se restregaron con salina, se examinaron visualmente y volvieron a colocarse en la solución. Se obtuvo el espectro ultravioleta de una lente revestida con lisozima del tipo IV D, frente a una lente limpia. Se impregnó en salina durante 24 horas una lente 20. tratada con solución enzimática y se obtuvo su espectro ultravioleta. Se compararon estos espectros con el de una solución de lisozima. Los espectros ultravioletas de la lente revestida con lisozima del tipo IV D, comparados con una solución de lisozima, eran muy similares. El espectro de una lente limpia 25. da y de una lente nueva sin usar mostró análogamente poca absorción, indicando que la película de lisozima había sido eliminada de modo esencialmente completo.

30. Las dos lentes que fueron retiradas de la solución enzimática periódicamente para su examen empezaron a mostrar áreas limpias después de unas tres horas. Al cabo de 20 horas

de impregnación a temperatura ambiente, todas las lentes --
aparecieron aceptables.

EJEMPLO VI

Se tipificaron 35 lentes de uso humano de acuerdo
5. con la naturaleza de las películas presentes en ellas. De
estas 35 lentes, seis del tipo IV D fueron seleccionadas --
para su estudio. Se obtuvieron los espectros ultravioletas
de las lentes contra lentes de referencia limpias y selec-
cionadas. Se agregó como control una lente IV D revestida
10. con lisozima. Luego se impregnaron todas las lentes durante
20 horas en la solución enzimática del Ejemplo V. Se lava-
ron con salina y se tipificaron. También se determinaron --
los espectros ultravioletas de las lentes frente a las mis-
mas lentes de referencia. Los resultados del anterior ensa-
15. yo fueron que, después de la limpieza, cuatro de las seis --
lentes originalmente del tipo IV D fueron tipificadas como
"aceptables", una lente como del tipo IV A y otra como del
Tipo III D. El control fue tipificado también como "acepta-
ble" después de su limpieza. Además, después de limpiar las
20. lentes, los espectros ultravioletas mostraron poca o ninguna
absorción, aparte de la correspondiente a la propia lente.
Además, se realizó un espectro ultravioleta de una
de las lentes revestidas con proteína humana (lente nº 1) y
de la lente revestida con lisozima (lente nº 2) contra una
25. lente de referencia limpia. La figura 6 compara los resulta-
dos obtenidos. Como resulta evidente por la figura 6, el es-
pectro ultravioleta de la película depositada por una perso-
na es muy similar al espectro ultravioleta de la película --
de lisozima. La figura 6 muestra también el espectro ultravio-
30. leta de la lente nº 1 después de su limpieza. Obsérvese que la

lente limpia mostró poca o ninguna absorción, aparte de la correspondiente a la propia lente.

EJEMPLO VII

Se seleccionaron 9 lentes de contacto blandas con depósito de proteína humana como representativas y se dejaron impregnar en la siguiente solución enzimática (pH 7), — siendo tipificadas por horas. La solución citada se preparó añadiendo una tableta que pesaba 125 mg y contenía la siguiente composición porcentual respecto a 10 ml de H₂O, — para producir la indicada solución:

	<u>Solución Enzimática%</u>	<u>Tableta, %</u>
	0.1 papaína (Prolase 300)	8.0 papaína (Prolase 300)
	0.1 Cisteína CLH	8.0 cisteína CLH
	0.02 KH ₂ PO ₄	1.6 KH ₂ PO ₄
15.	0.2 NaHCO ₃	16.0 NaHCO ₃
	0.08 Na ₂ EDTA	6.4 Na ₂ EDTA
	0.73 NaCl	58.4 NaCl
	0.02 PEG 4000 ¹	1.6 PEG 4000 ¹

La siguiente Tabla 3 muestra los datos obtenidos.

20.

Tabla 3.

<u>Lente</u>	<u>Inicial</u>	<u>Horas de limpieza</u>									
		1	2	3	4	5	6	7	24	48	
1	IVD	IVC	OK ²	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK
2	IVB, IIIB	IVA, IIIC	IIIC	IIIC	IIIC	IIIC	IIIC	IIIC	IIIC	OK	OK
3	IVC	IVC	IIIC	IIIC	IIIC	IIIC	IIIC	IIIC	IIIC	OK	OK
25.	4	IVD	IVC	IVC	IVC	IVB	IVA	IVA	IVA	OK	OK
5	IVD	IVD	IVD	IVC	IVC	IVC	IVC	IVC	IVC	IVC	IVA
6	IVD	IVD	IVB	IIIA	IIIA	OK	OK	OK	OK	OK	OK
			IIIB								
7	IIIC	IIIC	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK
8	IVB, IIIB	IVB	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK
30.	9	IVD	IVC	IVB,IVA	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK

OK - aceptable.

1. PEG-4000: Glicol polietilénico de un peso molecular de 4000 aproximadamente.

5. La Tabla 3 indica que el limpiador enzimático limpió aceptablemente 5 de 9 lentes en 6 horas y 8 de 9 lentes en 24 horas.

EJEMPLO VIII

10. Se colocaron cuatro lentes de contacto blandas en la solución enzimática del Ejemplo VII. Se retiraron dos lentes y se analizaron para determinar la presencia de proteasa, sin enjuagado ni enmuciado. Las dos lentes restantes fueron retiradas y enjuagadas brevemente bajo 5 a 10 ml de agua desionizada corriente, analizándose seguidamente para determinar la presencia de proteasa. Los resultados de los análisis indicaron la presencia de 11 y 30 μ g aproximadamente de proteasa activa en las lentes no enjuagadas con agua y menos de 1 μ g de proteasa activa en cada una de las lentes enjuagadas con agua. Basándose en lo que antecede, es evidente que la proteasa no se adhiere a la lente de contacto blanda y que un breve enjuagado con agua separa los vestigios residuales de proteasa de la lente.

15.

20.

EJEMPLO IX

25. Para probar el efecto de una prolongada impregnación en una solución enzimática, se impregnaron seis lentes de contacto blandas durante 60 días, a 24 horas diarias, en una solución enzimática que contenía un 0,1% de Prolase 300. Al cabo de los 60 días, no se observó ningún cambio sustancial en el diámetro medio de las lentes, ningún cambio en el contenido acuoso de ellas ni ningún otro cambio visible o daño en las mismas.

30.

EJEMPLO X

Se instilo la solución enzimática del Ejemplo VII en el ojo izquierdo de nueve conejos albinos hembras adultos de Nueva Zelanda. Tres de estos conejos recibieron una gota cuatro veces al día durante 20 días; otros tres conejos recibieron dos gotas cuatro veces al día durante 20 días y otros tres recibieron tres gotas cuatro veces al día durante igual período de tiempo. Se examinaron diariamente los conejos durante 25 días. No se observó ninguna irritación en la mucosa ni toxicidad.

EJEMPLO XI

Se emplearon en el siguiente ensayo de toxicidad ocular diez conejos albinos hembras adultos de Nueva Zelanda, usando la solución enzimática del Ejemplo VII. Veinticuatro horas antes del comienzo del estudio, se tñieron los ojos de experimentación y control de todos los conejos con una gota de fluoresceína al 2% para su observación bajo luz ultravioleta a fin de asegurar unas córneas normales. Este procedimiento se lleva a cabo semanalmente. La evaluación de las reacciones oculares se basó en el método descrito en "Appraisal of the Safety of Chemicals in Foods, Drugs and Cosmetics" ("Evaluación de la Seguridad de Sustancias Químicas en Alimentos, Medicamentos y Cosméticos," 1965, página 51.

Antes de la impregnación inicial, se hirvieron dos veces 12 lentes de contacto blandas sin usar en salina normal durante 30 minutos cada vez que se examinaron microscópicamente para la determinación de defectos físicos. Se seleccionaron diez de las lentes para el estudio. Cada una de las diez lentes blandas no usadas se impregnó durante toda la noche en 5,0 cm³ de la solución enzimática. Por la mañana se aplicaron

al ojo izquierdo de diez conejos adultos durante un tiempo de siete horas aproximadamente. Cada lente se asigna a conejos individuales a todo lo largo del estudio. Después de cada uso diario, se enjuagaron las lentes con salina normal y se colocaron en frascos limpios que contenían una cantidad nueva de solución impregnadora. Los animales fueron observados regularmente para un posible rechazamiento de la lente e irritación de la mucosa ocular.

Las lentes de contacto blandas se examinaron semanalmente para un posible depósito de proteína. Al cabo de 133 días, todas las lentes eran aceptables y ninguno de los conejos mostró irritación ocular, toxicidad ni incomodidad.

EJEMPLO XII

Ocho lentes de contacto blandas fabricadas por otras firmas que no eran la de Bausch & Lomb fueron recubiertas con lisozima por el método del Ejemplo I y se limpiaron durante toda la noche en la formulación del Ejemplo VII. Todas las lentes eran de Tipo IV D antes de su limpieza y aceptables después de ésta.

EJEMPLO XIII

Se recubrieron 6 lentes de contacto blandas con lisozima por el método de la reivindicación 1. Se preparó una solución acuosa de tripsina en neutralizador fosfato al 0,05% a un pH de 8,2. Tres de las lentes se impregnaron durante dos horas a temperatura ambiente y otras tres durante 2 horas a 37°C. Las seis lentes resultaron aceptables al final del período de dos horas. Sin embargo, se observó que las lentes se limpiaban más rápidamente a la temperatura elevada.

EJEMPLO XIV

Se repitió el Ejemplo XIII, con la excepción de -

emplearse una solución acuosa al 0,1% de pepsina en neutralizador citrato a un pH de 2,2. Se obtuvieron resultados comparables.

EJEMPLO XV

5. Se repitió el Ejemplo XIII, con la excepción de emplearse las siguientes proteasas en lugar de la tripsina: -- quimo-tripsina, estreptoquinasa, estreptodornasa, ficina, carboxipeptidasa, aminopeptidasa, quimopapaína y bromelina. Se obtuvieron resultados comparables.

10.

N O T A

- La Patente de Introducción, que se solicita por diez años, para España, de acuerdo con la vigente legislación, deberá recaer sobre: "MÉTODO DE ELIMINACION DE DEPOSITOS PROTEINICOS DE LENTES BLANDAS DE CONTACTO", citándose como fuente de Procedencia Solicitud de Patente en U.S.A. no 447.744 de fecha 4 de Marzo de 1.974, según las características esenciales de las siguientes:

15.

REIVINDICACIONES

20.

25.

30.

1ª.- Método de eliminación de depósitos proteínicos de lentes blandas de contacto que comprende las fases de: retirada de una de estas lentes de contacto blandas del ojo; y el enfriamiento de una de estas lentes de contacto blandas que tienen depósitos proteínicos durante aproximadamente un minuto a 48 horas en una solución acuosa que comprende aproximadamente del 0.01 al 5% de una proteasa atóxica para los ojos.

2ª.- Método de eliminación de depósitos proteínicos de lentes blandas de contacto, según la reivindicación 1 en el que dicha solución acuosa se encuentra a temperatura ambiente.

11



3^a.- Método de eliminación de depósitos proteínicos de lentes blandas de contacto, según la reivindicación 1^a, en el que la proteasa es papaína.

5. 4^a.- Método de eliminación de depósitos proteínicos de lentes blandas de contacto, según la reivindicación 1^a, en el que la solución acuosa contiene además del 0,01 al 5% aproximadamente de un compuesto que contiene grupos sulfhidrilos.

10. 5^a.- Método de eliminación de depósitos proteínicos de lentes blandas de contacto, según la reivindicación 4^a, en el que el compuesto que contiene grupos sulfhidrilos es hidrocloruro de cisteína.

6^a.- "MÉTODO DE ELIMINACION DE DEPOSITOS PROTEINICOS DE LENTES BLANDAS DE CONTACTO".

15. Según queda sustancialmente descrito en la presente memoria, que consta de veinticinco hojas, escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 11 de Julio de 1.975

ALLERGAN PHARMACEUTICALS

P.P.

20.

FRANCISCO GARCIA CABRERIZO
P.P.

Firmado: M.^a Dolores Jerquera

11 JUL 1975

Fig. 1a



Fig. 1b



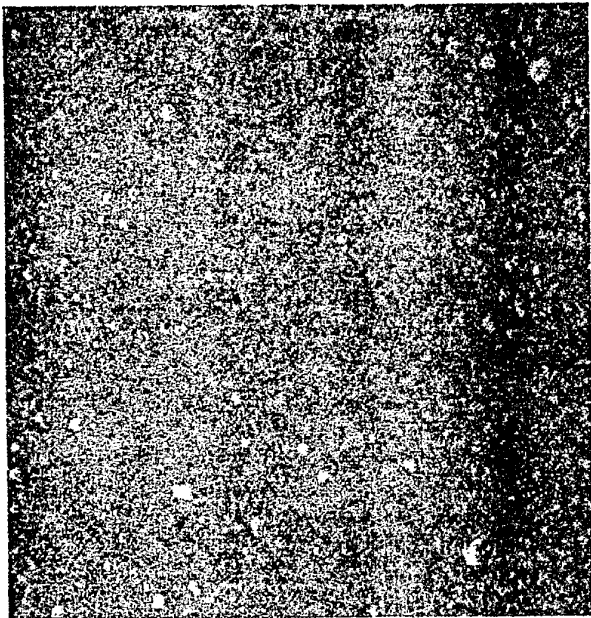
Escala variable

Madrid, 11 JUL. 1975
P.P. FRANCISCO GARCIA CABERIZO
P.P.

[Signature]
Firma de: M.^a Dolores Jerquera

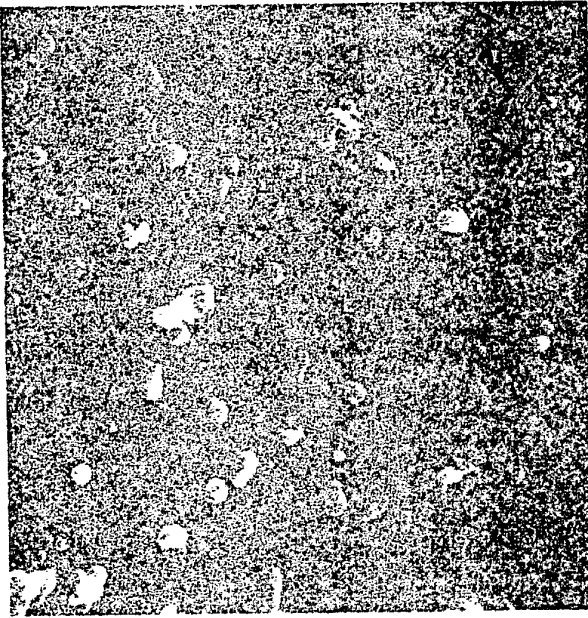
11 JUL 1975
RECEIVED

Fig. 2a



500X

Fig. 2b



2000X

Madrid, 11 JUL. 1975
P.P.

Escala variable

FRANCISCO GARCIA CABRIZO
P.P.

Firmado: M.ª S.ª Jorquera

11 JUL 1975
OFFICE

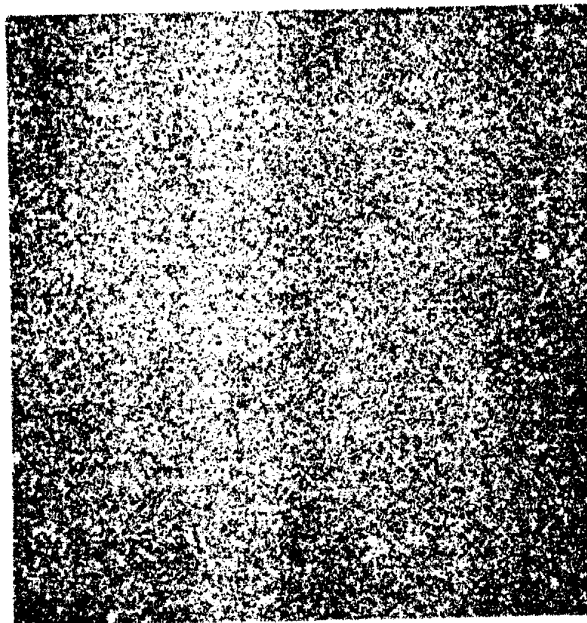


Fig. 2c

500X

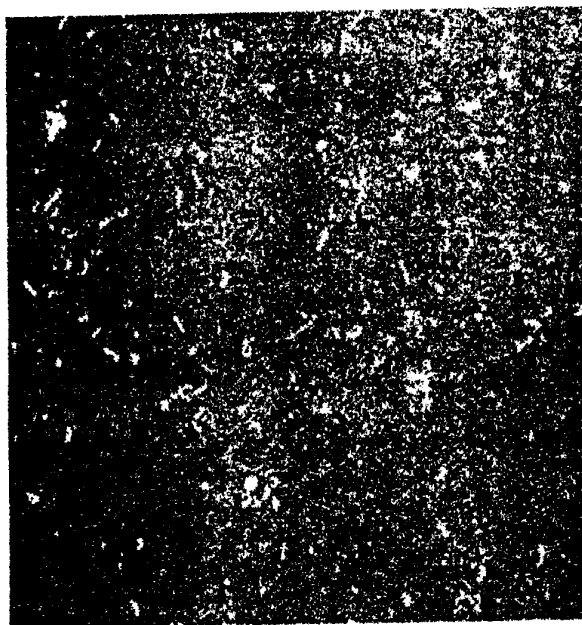


Fig. 2d

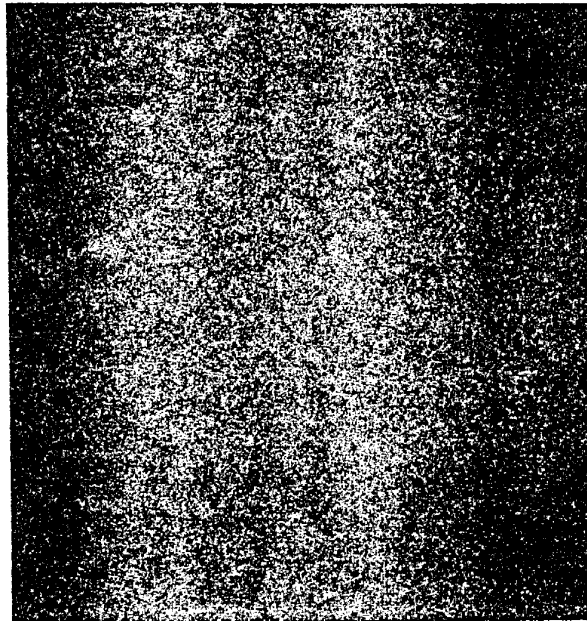
Escala variable

Madrid. 11 ^{2000X} JUL. 1975
P.R. FRANCISCO GARCIA CABRERIZO
P.R.

Firmado: *[Signature]*
Firmado: Mr. Carlos Jorquera

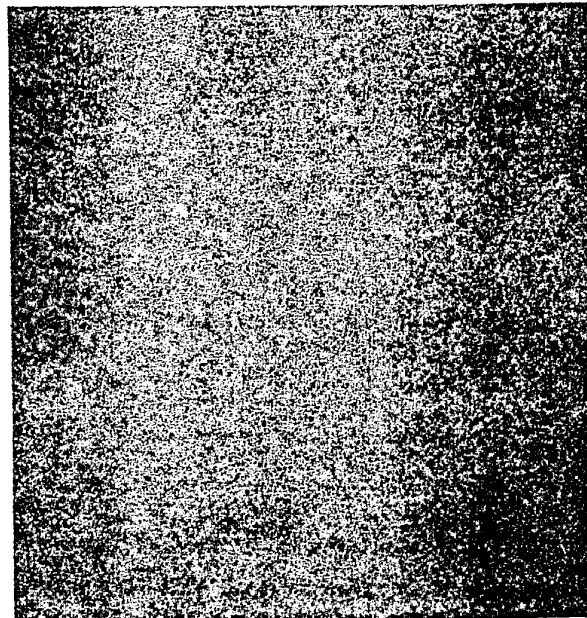
11 JUL 1975
10
1975
11

Fig. 3a



500X

Fig. 3b



2000X

Escala variable

Madrid, 11 JUL. 1975
P.P. FRANCISCO GARCIA CABREIZO
P.P.

Firma: M.^a Dolores Jorquera

11



Fig. 3d

2000X

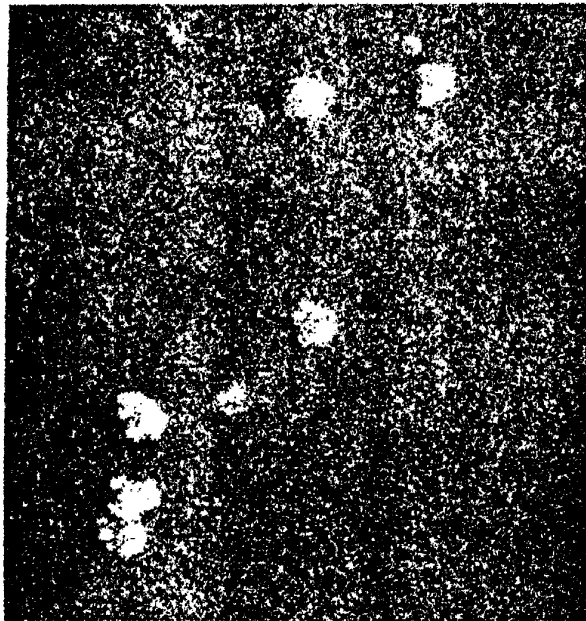


Fig. 3c

500X

Madrid, 11 JUL. 1975
P. P. FRANCISCO GARCIA CABRERIZO
P. P.

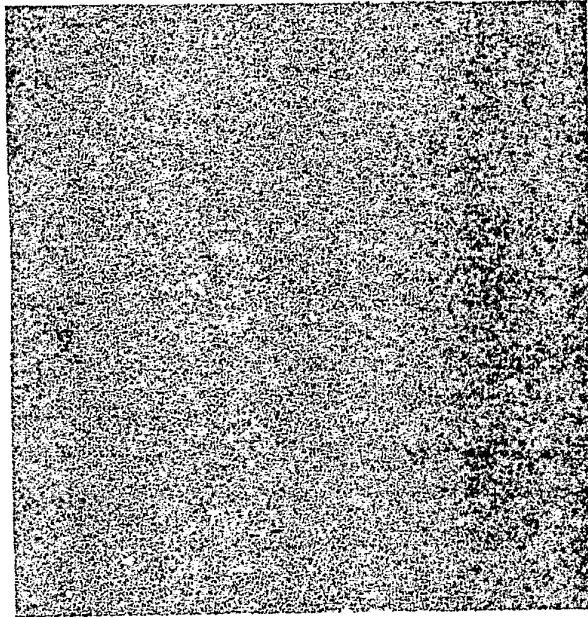
Escala variable

Filmada: M.ª Colores Jerquera

11 JUL 1975

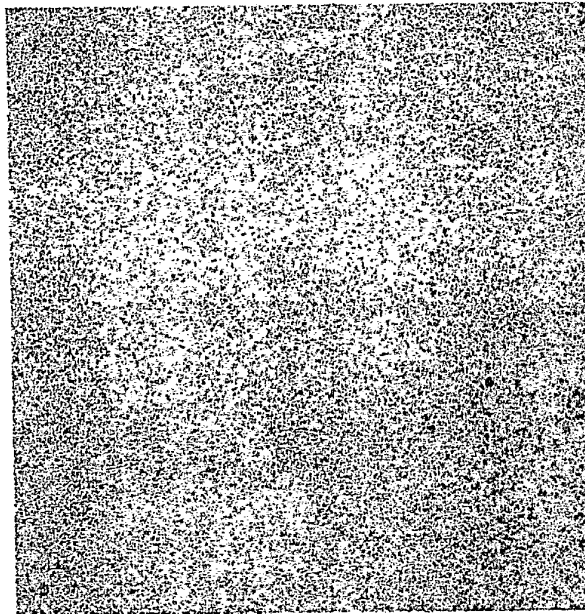


Fig. 4a



500X

Fig. 4b



Escala variable

Madrid, ^{2000X} 11 JUL, 1975
P.P. FRANCISCO GARCIA CABREZZO
P.P.

Firma Dr. Ina Estrella Jorquera



11 JUL 1975

Fig. 4c



500X

Fig. 4d



2000X

Madrid 11 JUL 1975
P.R. FRANCISCO GARCIA CABREZZO
P.R.

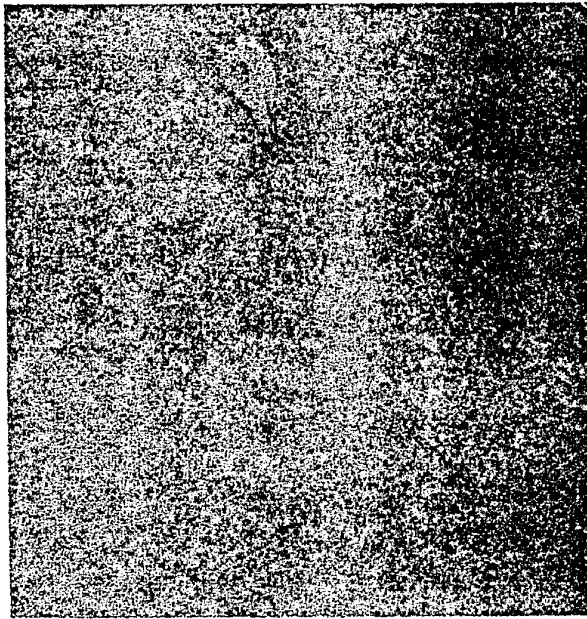
Escala variable

Firmado: M.^a Encarna Jorquera

11 JUL

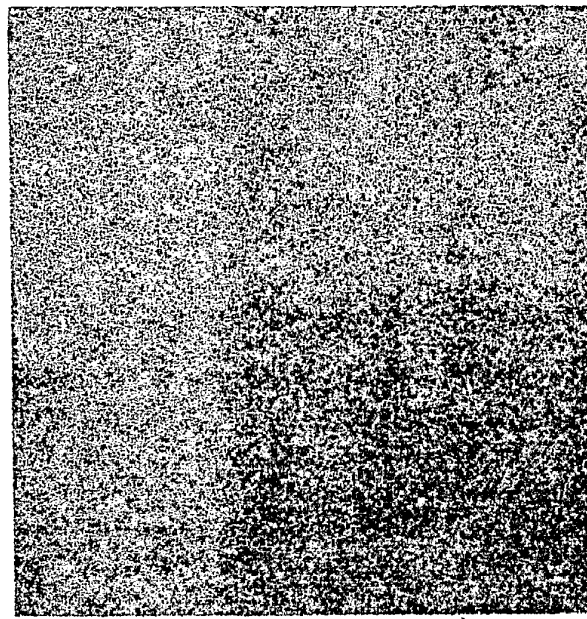


Fig. 5a



500X

Fig. 5b

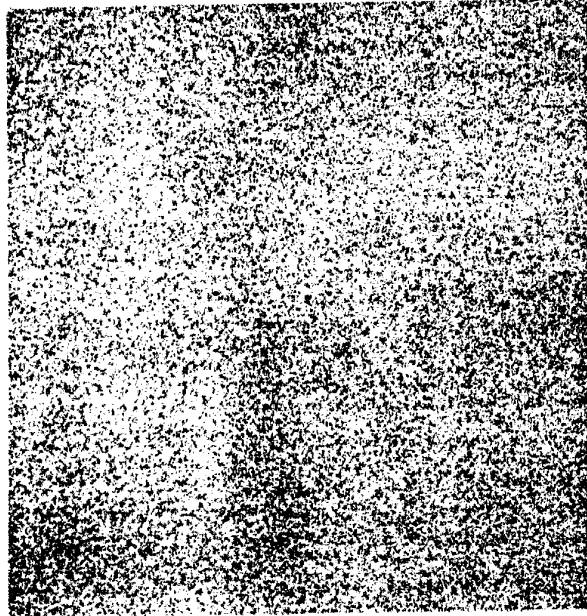


Escala variable

Madrid. 11 JUL. 1975
P.P.
FRANCISCO GARCIA CABREIZO
P.P.
[Signature]
Firmado en el color Jorquera

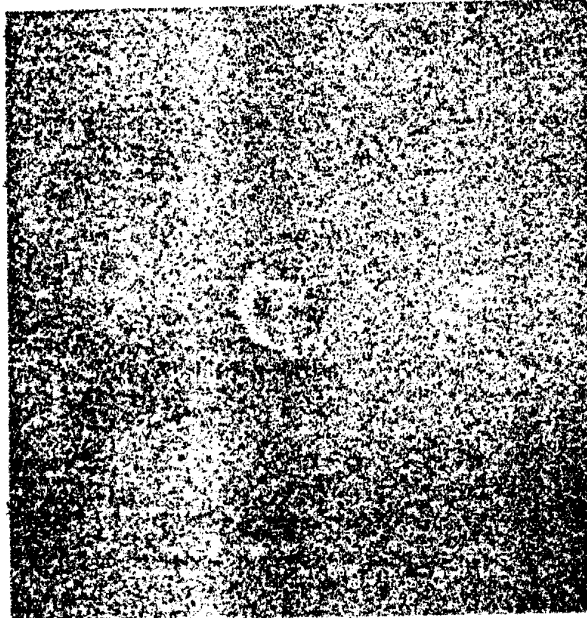


Fig. 5d



2000X

Fig. 5c



500X

Madrid 11 JUL. 1975
P. P.

FRANCISCO GARCIA CARRERIZO
P. P.

Firmado: M.ª Dolores Jorquera

Escala variable

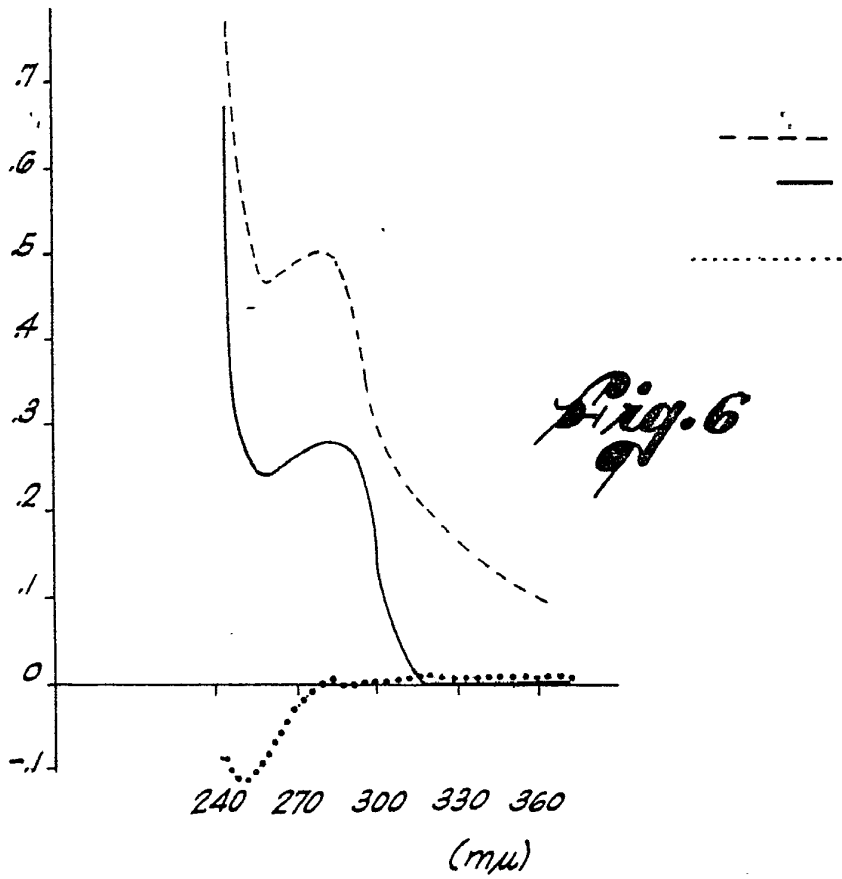


Fig. 6

Madrid 11 JUL 1975
P.P.

FRANCISCO GARCIA CABRERIZO
P.P.

Firmado en el color de quera

Escala variable