

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA

Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y con el contenido de la memoria adjunta.

19 ES
21
22

NUMERO	470.645
FECHA DE PRESENTACION	8.6.78

20 A1

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES:	31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
	805.003	9.6.77	ESTADOS UNIDOS

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	A 61 L	

54 TITULO DE LA INVENCION
"UN PROCESO PARA LA PREPARACION DE APOSITO CUTANEO DE COLAGENO"

71 SOLICITANTE (S)
PIKOK INTERNATIONAL TRADING CO., Ltd.

64 Domicilio del solicitante
Room 1006-8, American International Tower, 16 Queen's Road, Central, HONG KONG

72 INVENTOR (ES)
Teruo Miyata de nacionalidad japonesa

73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE
D. BERNARDO UNGRIA GOIBURU

**POOR
QUALITY**

1 Esta invención se refiere a apósitos cutáneos que
constan de colágeno o colágeno químicamente modificado en forma
de gel, en forma de lámina porosa o en forma de película semi-
porosa. La invención también se refiere a la producción de di-
5 chos apósitos cutáneos mediante la preparación de gel de colá-
geno succinilado esteril, y mediante la preparación de lámina
porosa de colágeno realizada por los procesos sucesivos de
extrusión del gel de colágeno en baño de coagulación, curtido
con glutaraldehído, y/o parcial secado por aire seguido de lio-
10 filización. Agentes bactericidas o antibióticos pueden impreg-
narse en el apósito de gel o de tipo de lámina.

 Varios investigadores incluyendo los presentes han
sugerido el uso de material de colágeno como apósito cutáneo
para quemaduras o heridas. La característica de esta invención,
15 sin embargo, consiste en la forma del apósito de colágeno y en
el método de producir dichos tipos deseados.

 La National Fire Protection Association informó en
1962 que aproximadamente 1.800.000 personas sufrían quemaduras
al año y ocupaban más de 11.000 camas hospitalarias por día.
20 Se siente la gran necesidad de tener un sustituto temporal y
fácilmente almacenable, y fácilmente disponible de la piel
humana para el tratamiento eficaz de las quemaduras y otras
formas de pérdida de piel. Es práctica común cubrir el área
que ha perdido la piel con autoinjertos, homoinjertos y hetero-
25 injertos de grosor hendido. Dichos tratamientos protegen contra
las infecciones, la pérdida de proteínas, fluido y electrolitos
del tejido expuesto. Dichos tratamientos, sin embargo, tienen
los siguientes inconvenientes. Los injertos son difíciles de
obtener, y de almacenar durante un periodo de tiempo prolon-
30 gado y también son bastante caros. Dichas dificultades podrían

1 reducirse desarrollando apósitos cutáneos artificiales que sean
baratos y fáciles de usar.

5 El colágeno es una proteína principal para conectar
tejidos tales como piel, córnea, etc, y puede solubilizarse,
separarse y purificarse mediante el tratamiento con enzimas
proteolíticos (distintos de la colagenasa), por ejemplo, proc-
tasa, pepsina, tripsina y pronasa. El colágeno solubilizado es
pobre en telopeptidos, relativamente barato e ideal como mate-
rial para desarrollar un apósito cutáneo para las heridas.

10 El colágeno solubilizado tiene muchos grupos NH_2 y
 COOH en su estructura, y las modificaciones químicas de la
molécula pueden hacerse fácilmente, por ejemplo, todos o algu-
nos grupos amino pueden acilarse mediante la reacción con una
mezcla de anhídrido acético y ácido acético. Igualmente, el
15 anhídrido succínico reacciona con el colágeno sustituyendo los
grupos amino por grupos carboxilo. Los grupos carboxilo conte-
nidos en la molécula pueden esterificarse por la reacción
standard con alcohol acidulado, por ejemplo, la reacción con
metanol anhidro acidulado con HCl . En las reacciones anteriores
20 el punto isoeléctrico neto del colágeno puede controlarse, tanto
si es negativo como positivo, o neutralizarse por completo.

Todos los tipos conocidos de colágeno y colágeno
químicamente modificado pueden emplearse en el uso de esta in-
vención, por ejemplo, colágeno nativo, desnaturalizado (punto
25 isoeléctrico neutro); colágeno esterificado (punto isoeléctrico
alcalino) y formas modificadas del grupo amino, por ejemplo,
derivados del anhídrido (punto isoeléctrico ácido). En la pre-
paración de los apósitos del tipo gel de esta invención se
prefiere el uso de derivados del anhídrido (punto isoeléctrico
30 ácido), por ejemplo, derivados del anhídrido succínico del co-

1 lágeno.

Tipo Gel

Los apósitos cutáneos tipo gel de esta invención son especialmente adecuados para aplicarse a superficies corporales irregulares, por ejemplo, áreas de las articulaciones, codos, rodillas, etc. El apósito de gel se usa preferiblemente en forma de una pasta viscosa de la consistencia de la vaselina y contiene 1-10%, preferiblemente 2-5% de colágeno.

Al preparar el gel de colágeno, la piel o cuero se solubiliza en una solución de enzimas de pH ácido. El gel resultante es un material viscoso que se recupera por filtración, por ejemplo, a través de gasa rectilínea y/o un filtro microporoso. La solución viscosa se hace alcalina añadiendo sosa cáustica a un pH de aproximadamente 10. En dicha fase el material se deja reposar para inactivar los enzimas restantes. Después el material se neutraliza, el colágeno se recoge por centrifuga y se lava con agua. Sigue una segunda fase de purificación, a saber, la redisolución en ácido acuoso (pH 2,0-5,0), reprecipitación por neutralización a un pH de 6 a 7, y purificación para quitar el ácido por diálisis contra agua. El gel neutro se recupera y en dicha fase pueden añadirse antibióticos o bactericidas o ambos antes de almacenar el material de gel.

El material de colágeno usado en la preparación del gel no es preferiblemente un multímero y, por consiguiente, el material no se somete a curtido durante su preparación.

Se usó preferiblemente colágeno succinilado para hacer viscoso al apósito cutáneo de gel porque puede redisolverse en agua a pH fisiológico (6,8-7,4) sin requerir la diálisis contra agua para quitar el ácido durante su preparación. La concentración de colágeno del apósito cutáneo de gel era

1 entre 0,5% a 7% y a ella se incorporaron los siguientes agentes
bactericidas: solución de nitrato de plata (0,5 g/100ml) o so-
lución de lactato de plata (0,5 g/100ml) 25 mg/ml de lincomi-
cina, 5 mg/ml de amfotericina B y 25 mg/ml de gentamicina, o
5 uno o más de los mismos.

Tipo lámina porosa

Otro tipo de apósito cutáneo de colágeno (lámina po-
rosa) se preparó de la siguiente manera: gel de colágeno solu-
bilizado (pH 2,0-3,5, concentración de colágeno 1%-10%) se ex-
10 truyó desde una tobera tubular a un baño de coagulación (NaCl
saturado). El colágeno tubular coagulado se cortó longitudi-
nalmente para obtener una lámina y se curtió con 1-5% de gluta-
raldehído en NaCl saturado que contenía 0,05 de M Na_2HPO_4 duran-
te 0,5-3,0 horas. La lámina de colágeno curtido se lavó con
15 agua repetidas veces, después se liofilizó sobre placa de
metilmetacrilato. Para producir una lámina del tipo de película,
semiporosa en la que la superficie superior de la lámina tiene
mayor concentración de colágeno (lo que resulta en una super-
ficie del tipo de película superior) y en la que la superficie
20 inferior de la lámina tiene menor concentración de colágeno
(es decir, es más porosa) la lámina se somete a secado por
aire parcial antes de la liofilización. La lámina de colágeno
se esterilizó por gas de óxido de etileno y se remojó en una
solución de base típica que contenía uno o más agentes bacte-
25 ricidas, tales como nitrato de plata (0,5 g/100ml), o lactato
de plata (0,5 g/100ml), o solución lactada de Ringer que conte-
nía 25 mg/ml de gentamicina, 25 mg/ml de lincomicina, 25 mg/ml
de colistimetato, 25 mg/ml de kanamicina, y 5 mg/ml de amfote-
ricina B; o solución lactada de Ringer que contenía 25 mg/ml
30 de lincomicina, 5 mg/ml de amfotericina B, y 25 mg/ml de gen-

1 tamicina.

Un apósito cutáneo eficaz deberá tener las siguientes propiedades:

1. buena adherencia a la superficie herida,
- 5 2. prevención de pérdida de proteínas, fluido y electrolitos,
3. prevención de la infección,
4. reducción del dolor,
- 10 5. falta de estimulación de la respuesta de los tejidos locales, etc.

Los apósitos cutáneos de colágeno descritos en la presente tienen las propiedades anteriores y son fáciles de usar y menos caros. El apósito cutáneo de gel es especialmente adecuado para aplicarse a superficies irregulares, por ejemplo, superficies
15 de las articulaciones. La pasta viscosa análoga a gel y los geles de la consistencia de la vaselina muestran excelente adherencia a las superficies heridas. Los apósitos de lámina porosa, y del tipo de película semiporosa también se adhieren firmemente a la herida. Se observó la extensiva penetración de
20 las células en la lámina porosa de colágeno. Todos los apósitos cutáneos ofrecieron protección eficaz contra la infección y buena curación de las heridas.

La presente invención puede comprenderse mejor con los ejemplos siguientes:

25 Ejemplo 1: La piel de un becerro joven (aproximadamente de 5 kg) se desolló, limpió mediante raspado y se cortó en pequeños trozos. La piel se lavó repetidas veces con 10% de NaCl que contenía un bactericida de acida sódica a 0,2% y con agua esterilizada. La piel se solubilizó en 10 litros de
30 agua (HCl de pH 2,5) que contenía 30 mg/ml de gentamicina por

1 la adición de 1 g de pepsina (la relación aproximada de enzimas
a colágeno era 1/400) a 20°C durante 4 días con agitación in-
termitente. El colágeno solubilizado viscoso resultante se fil-
5 tró a través de gasa rectilínea, su pH se elevó a 10 por NaOH
y se dejó reposar durante 24 horas a 20°C para inactivar la
pepsina. El pH del colágeno se ajustó después a 7-8 (HCl) y
precipitado de colágeno se recogió por centrifugación y se lavó
con agua esterilizada. El precipitado lavado se disolvió nueva-
mente en solución ácida y se precipitó nuevamente a pH 7-8 para
10 mayor purificación.

La succinilación del colágeno solubilizado se realizó
como sigue: Diez gramos (base seca) de precipitado de colágeno
solubilizado se suspendió nuevamente en 4 litros de agua y su
pH se ajustó a 9,0 por NaOH. Solución de acetona (100 ml) que
15 contenía 2,0 g de anhídrido succínico se añadió gradualmente
a la suspensión de colágeno. Durante la adición de anhídrido
succínico el pH de la suspensión de colágeno se mantuvo a apro-
ximadamente 9,0 por solución de NaOH. El colágeno succinilado
se precipitó por acidificación a aproximadamente un pH de 4,2,
20 se lavó con agua y se liofilizó. Dicho colágeno liofilizado
(en forma de esponja) se esterilizó para eliminar los microor-
ganismos. Cinco gramos de esponja de colágeno esterilizado se
disolvieron en agua acidulada. Después de la adición de NaOH
hasta un pH de aproximadamente 7,4 el colágeno emerge en forma
25 muy viscosa. Se preservó con la adición de nitrato de plata
(solución al 0,5%). Dicho apósito cutáneo de gel tenía exce-
lente adhesión a la herida, excelente curación de heridas, y
excelente protección contra las infecciones.

Ejemplo 2: Colágeno solubilizado succinilado se pre-
30 paró según el método descrito en el Ejemplo 1. El colágeno suc-

1 cinilado esterilizado (10 gramos) se trató de la misma manera que en el Ejemplo 1 pero se preservó por lactato de plata (solución al 0,5%). Dicho apósito cutáneo de gel presentó de nuevo las excelentes propiedades indicadas anteriormente.

5 Ejemplo 3: Colágeno succinilado esterilizado se preparó según el método descrito en el Ejemplo 1 y se trató de la misma manera que en el Ejemplo 1 pero se preservó en solución lactada estéril de Ringer (0,6% de NaCl, 0,31% de lactato sódico, 0,03% de cloruro potásico, 0,02% de cloruro cálcico, ajustándose el pH a 7,4) que contenía los antibióticos siguientes: 25 mg/ml de lincomicina, 5 mg/ml de amfotericina B, y 25 mg/ml de gentamicina. Dicho apósito cutáneo de gel presentó nuevamente las excelentes propiedades citadas.

15 Ejemplo 4: Colágeno solubilizado (no succinilado) se preparó según el método descrito en el Ejemplo 1. El colágeno se disolvió en solución diluída de HCl (pH final 2,5, la concentración de colágeno era 3%) y se desaireó bajo vacío. El gel ácido de colágeno se extruyó a un baño de coagulación (NaCl saturado) mediante una tobera apropiada. El tejido tubular coagulado se recuperó y se cortó longitudinalmente para convertirlo en láminas y se curtió con 3% de glutaraldehído en NaCl saturado que contenía 0,05 de M Na_2HPO_4 durante una hora. Después de lavarse repetidas veces con agua, la lámina de colágeno se liofilizó sobre una placa de metilmetacrilato. Las láminas liofilizadas (10cm x 10cm) se esterilizaron por tratamiento con gas de óxido de etileno y se preservaron remojándolas en solución de nitrato de plata al 0,5%. El grosor final de la lámina era 3 mm. Dicho apósito cutáneo tenía excelentes propiedades de adhesión a la herida, protección contra la pérdida de fluido e infección, y curación de heridas.

25

30

1 Ejemplo 5: La lámina de colágeno se preparó por extrusión, curtido y lavado según el método descrito en el Ejemplo 4, pero se usó 5% de gel de colágeno ácido. La lámina de colágeno lavada se secó después parcialmente por aire sobre
5 una placa de metilmetacrilato hasta que el grosor de la lámina fue la mitad del original. Dicho secado parcial reduce la porosidad (mayor concentración de colágeno) de la superficie superior de la lámina. Después se liofilizó para hacer porosa a la superficie inferior (menor concentración de colágeno), y
10 se esterilizó con gas de óxido de etileno. La lámina esterilizada se mantuvo en solución estéril de lactato de plata al 0,5% (pH 7,4). El grosor final de la lámina era 2 mm. Dicho apósito cutáneo tenía una porosidad más fina y mayor resistencia que la lámina del Ejemplo 4. Tenía excelente protección
15 contra la pérdida de proteínas, fluido y electrolitos, excelente protección contra las infecciones y excelente curación de heridas.

Ejemplo 6: La lámina de colágeno liofilizada, estéril se preparó según el método descrito en el Ejemplo 4, pero
20 la concentración de colágeno era 5%. La lámina se mantuvo en remojo en solución lactada estéril de Ringer (ajustándose el pH a 7,4) que contenía los antibióticos siguientes: 25 mg/ml de gentamicina, 25mg/ml de lincomicina, 25 mg/ml de colistimetato, 25 mg/ml de kanamicina y 5 mg/ml de anfotericina B.
25 El grosor final de la lámina era 4 mm. Dicha lámina presentaba igualmente excelentes propiedades de apósito cutáneo.

En resumen, la Patente de Invención que se solicita deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

30 1. Un proceso para la preparación de apósito cutá-

1 neo de colágeno que comprende formar un gel de colágeno, ex-
 truir el gel de colágeno, formar una lámina de colágeno a
 partir del gel extruído, entrecruzar el colágeno extruído, y
 someter la lámina entrecruzada a liofilización.

5 2. Un proceso para la preparación de apósito cutá-
 neo de colágeno de acuerdo con la reivindicación 1, en el
 que la lámina entrecruzada, antes de la liofilización, es
 sometida además, adicionalmente, a secado parcial por aire.

10 3. El proceso de las reivindicaciones 1 y 2, en
 el que el entrecruzamiento se realiza por curtido con gluta-
 raldehído.

15 4. Se reivindica por último como objeto sobre el
 que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita
 por: "UN PROCESO PARA LA PREPARACION DE APOSITO CUTANEO DE
 COLAGENO".

 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la
 presente Memoria descriptiva que consta de diez páginas me-
 canografiadas.

20 Madrid, 8 de junio de 1.978

 BERNARDO UNGRIA

 P.P.



25

30