

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 472 734**

51 Int. Cl.:

A61K 35/36 (2006.01)

A61K 38/17 (2006.01)

A61L 15/32 (2006.01)

A61L 31/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.05.2006 E 06758909 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.03.2014 EP 1888099**

54 Título: **Composiciones de queratina hidratables**

30 Prioridad:

06.05.2005 US 678859 P

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

02.07.2014

73 Titular/es:

**KERAPLAST TECHNOLOGIES LTD. (100.0%)
19206 HUEBNER ROAD, SUITE 102
SAN ANTONIO, TX 78258, US**

72 Inventor/es:

**WU, CHUNYONG;
LI, JUN;
WICKS, DOUGLAS;
MORGAN, SARAH y
SMITH, ROBERT**

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 472 734 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones de queratina hidratables

5 Campo de la invención

Las queratinas, como las principales proteínas estructurales de todas las células epiteliales, desempeñan papeles importantes para la cicatrización de heridas y la recuperación de tejidos. Los procesos de cicatrización de heridas apropiados implican la cobertura de la herida por queratinocitos, células que fabrican queratinas y migran desde el borde de la herida. Se ha encontrado que las queratinas son necesarias para la reepitelización durante la cicatrización de heridas (Coulombe, P.A., *Prog In Dermatology*, 2003, 37(1), 219-230; Bruen, *et al.*, *J. Surg. Res* 2004, 120(1), 12-20, McGowan y Coulombe, *J Cell Biol.* 1998, 143 (2), 469-486; Paladini, *et al.*, *J Cell Biol.* 1996, 132(3), 381-97). Además, los biomateriales basados en queratina pueden proteger tejido lesionado y mantener un entorno húmedo para el fomento de la cicatrización de heridas. Determinados biomateriales de queratina también son eficaces para la administración de factores de crecimiento y agentes farmacéuticos para fomentar la cicatrización de heridas para heridas agudas y crónicas (patentes estadounidenses n.ºs 5.932.552, 5.948.432 y 6.124.265). El documento US 6.270.793 describe una fibra o polvo sólido de queratina, altamente absorbente e hidratable, preparado preferiblemente a partir de pelo que, tras tratamiento químico, conserva una proporción de cadenas peptídicas solubles en agua, secándose la fibra o el polvo sólido mediante evaporación a vacío. El documento US2003/0035820 da a conocer queratina soluble que puede colarse para dar diversas formas.

Sumario

La presente divulgación incluye películas y absorbentes hidratables fabricados con procedimientos sencillos, repetibles a partir de pelo. La liofilización produce un material con absorción de agua instantánea de hasta más de 20 veces su peso en agua. Las películas producidas son flexibles y uniformes con una absorción de agua de 7 - 8 veces el peso original.

La presente divulgación puede describirse, por tanto, como una composición que comprende un material de queratina absorbente obtenido a partir de un filamento de pelo, en la que el material absorbente está sustancialmente libre de proteínas y péptidos de queratina solubles en agua y en la que el filamento se produce saturando el filamento con disolvente acuoso para obtener un filamento expandido y eliminando posteriormente el agua mediante sublimación para obtener un material absorbente. Se ha mostrado que la composición descrita absorbe al menos 20 veces su peso de agua. Puede lograrse la sublimación mediante cualquier medio conocido en la técnica y se logra preferiblemente mediante una técnica de liofilización. Pueden prepararse composiciones tal como se describen en el presente documento a partir de diversas fuentes de queratina, y preferiblemente se preparan o se obtienen a partir de pelo de un ser humano o animal, incluyendo lana.

Las composiciones dadas a conocer pueden describirse en determinadas realizaciones como composiciones preparadas mediante el procedimiento que comprende:

oxidar pelo o lana de manera eficaz para alterar una parte principal de los enlaces disulfuro de cistina en el pelo o la lana;

retirar sustancialmente todas las proteínas y péptidos que son solubles en agua a pH neutro de la composición;

hinchar la composición mediante saturación con disolución acuosa; y

liofilizar la composición.

50 Breve descripción de los dibujos

Los siguientes dibujos forman parte de la presente memoria descriptiva y se incluyen para demostrar adicionalmente determinados aspectos de la presente invención. La invención puede entenderse mejor mediante referencia a uno o más de estos dibujos en combinación con la descripción detallada de realizaciones específicas presentada en el presente documento.

La figura 1A es una micrografía óptica de un pelo humano tras secado a vacío (comparativa).

60 La figura 1B es una micrografía óptica de un pelo humano tras liofilización (de la invención).

La figura 2 es una fotografía de un material en lámina formado a partir de la porción soluble de pelo.

Descripción detallada

65 Oxidación de pelo humano. Se lavaron sesenta gramos de pelo humano con detergente Vera® al 10% de Fisher

Scientific y después se aclararon con cantidades abundantes de agua desionizada. Se eliminó el agua mediante secado durante la noche en condiciones ambientales. Se añadió el pelo limpio resultante a 1000 ml de ácido peracético al 2%, se sometió a ebullición durante 2 horas y se filtró. Se aclaró adicionalmente el pelo recogido en 100 ml de etanol, se filtró y se secó a vacío a temperatura ambiente durante la noche.

Valoración de pelo humano oxidado. Se mezcló pelo seco, oxidado, preparado tal como se describió en el párrafo anterior, con agua desionizada y después se valoró con hidróxido de sodio 0,1 M a pH 7. Se filtró la suspensión de pelo neutralizada y se lavó con cantidades abundantes de agua desionizada hasta que se formó un hidrogel de color amarillento claro en el embudo de filtración. Se recogieron tanto el extracto como el hidrogel para preparar los productos correspondientes.

Preparación de absorbente de queratina. Se liofilizó el hidrogel o, alternativamente, se secó a vacío para eliminar el agua atrapada. El hidrogel preparado mediante liofilización mantuvo la textura del hidrogel hinchado y formó un absorbente blanco similar a una esponja. El absorbente preparado mediante secado a vacío era duro y frágil.

Preparación de película de queratina. Se valoró el extracto con HCl para obtener un precipitado. Se filtró el precipitado, se aclaró con cantidades abundantes de etanol puro y se secó a vacío. La queratina resultante era un polvo de color gris claro. Se disolvió adicionalmente el polvo de queratina para preparar una disolución acuosa al 10% mediante adición de amoníaco a un pH de no más de 8 y después se añadió glicerina en una cantidad para lograr el 30% de glicerina con respecto a proteína. Se añadieron los 10 ml de disolución a una placa Petri (3,5" de diámetro) y se secaron durante la noche a temperatura ambiente para formar una película flexible.

Prueba de absorción de agua. La absorción de agua para el absorbente y la película de queratina se somete a prueba mediante adición gota a gota de agua hasta que se observa agua en exceso que no se absorbe por el hidrogel de queratina o la película hinchada, respectivamente.

La queratina del pelo está en forma de microfibrillas y una matriz de "adhesivo" amorfa bajo la cutícula externa tubular de pelo humano, y es rica en contenido en azufre. Su integridad se debe principalmente a la presencia de enlaces disulfuro a través de unidades de cistina. Para preparar un hidrogel de queratina, se rompe el enlace disulfuro, preferiblemente mediante oxidación parcial, para formar grupos colgantes hidrófilos principalmente en las cadenas laterales de aminoácido de cisteína. Estos grupos son principalmente grupos ácido sulfónico, que pueden complejarse con agua. En realizaciones preferidas, se usa ácido peracético al 2% o equivalente como agente de oxidación para convertir parcialmente enlaces disulfuro en grupos ácido sulfónico colgantes. Un grupo ácido sulfónico tal como se usa en el presente documento puede definirse como un átomo de azufre unido a uno, dos o tres átomos de oxígeno. Los materiales dados a conocer no se limitan a queratina oxidada, ya que los enlaces disulfuro también pueden romperse mediante técnicas reductoras que no dan como resultado la formación de grupos ácido sulfónico.

Tras la oxidación, una fracción de la queratina oxidada es insoluble en disolución acuosa a pH neutro. Esta fracción de la queratina absorbe agua y forma un hidrogel tras el contacto con agua. Un aspecto de la presente divulgación es que el método de secado de la fracción insoluble de la queratina afecta a la estructura y la función del material insoluble. Por ejemplo, eliminar el agua residual de la estructura mediante sublimación, tal como en la liofilización, por ejemplo, da como resultado un material expandido, altamente absorbente. Esta estructura se muestra en la figura 1B y se muestra que absorbe más de 20 veces su peso de agua para formar un hidrogel. Dado que el filamento mantiene una integridad estructural al menos parcial y es altamente absorbente, este material es un biomaterial excelente para su uso en aplicaciones de andamiaje celular y para la administración de agentes activos en aplicaciones de cicatrización de heridas, por ejemplo.

La porción soluble de pelo oxidado que se separa del absorbente insoluble incluye alfa-queratina de la corteza del pelo. El pelo oxidado se disuelve fácilmente para formar disoluciones de queratina con concentraciones controladas. Además, mediante la adición de un plastificante biocompatible, por ejemplo glicerina, la disolución puede colarse para dar una película flexible delgada. Tal como se muestra en la tabla 1, la película resultante era transparente y uniforme y podía absorber 7~8 veces su peso en agua sin perder su integridad. Considerando la incorporación de glicerina en la película, esto es una capacidad de absorción excelente. La integridad de las películas puede mejorarse adicionalmente con un aumento de la reticulación.

Tabla 1. Grosor, índice de amarilleamiento y razón de hinchamiento de películas de queratina

Muestra	1	2	3	4	5
Grosor (µm)	87,3 ± 15,0	83,7 ± 14,6	87,7 ± 15,5	80,5 ± 12,5	86,7 ± 21,3
Índice de amarilleamiento	51,7 ± 4,4	52,0 ± 2,3	53,0 ± 3,9	53,0 ± 2,5	53,2 ± 3,8
Razón de hinchamiento	7,9	8,81	7,62	---	7,86

Usos preferidos del absorbente y las películas descritos son como componentes en un apósito para heridas o, especialmente en el caso del absorbente, como andamiaje celular de ingeniería de tejidos para aplicaciones de

implantes o para la administración de agentes farmacéuticamente activos por vía tópica, o a una herida o desde la superficie de un implante, por ejemplo. Otros usos incluirán un material de administración de fármaco de liberación controlada o sostenida. Los ejemplos de materiales que pueden incluirse en el absorbente incluyen, pero no se limitan a, agentes antibacterianos o antibióticos, pomadas o productos biológicos tales como factores de crecimiento o citocinas, colágenos o glucosaminoglucanos. Aún otro uso preferido es en productos para el cuidado de la piel. El material absorbente se obtiene preferiblemente a partir de filamento de pelo, pero puede usarse cualquier fuente de queratina insoluble o beta-queratina, tal como pelo, lana o pelaje de cualquier mamífero así como garras, pezuñas o uñas, o incluso productos aviares tales como plumas o materiales de queratina dura. En las realizaciones más preferidas, la queratina se obtiene a partir de pelo o lana incluyendo pelo humano o lana, pelo o pelaje de animales domésticos o agrícolas. En determinadas realizaciones, puede ser ventajoso obtener tales productos a partir del pelo de un sujeto que se tratará posteriormente con el producto derivado de queratina.

Los materiales descritos en el presente documento pueden producirse en diversas formulaciones portadoras y en diversas formas y dimensiones incluyendo polvos, láminas, geles, pomadas, lociones, pulverizaciones, comprimido, pastilla para chupar, o el material puede moldearse para dar objetos tridimensionales tales como esponjas, tornillos o cualquier forma adecuada para un implante, incluyendo implantes cosméticos, o como material de expansión de tejido. Los materiales dados a conocer pueden formarse para dar objetos útiles tales como láminas, vendajes, implantes, tornillos para huesos, jaulas espinales, etc. o bien como materiales de queratina pura o bien combinados con aglutinantes poliméricos, espesantes, agentes de reticulación, moléculas estructurales, minerales, cerámicas, metales, aleaciones de metales, silicona y otros materiales biocompatibles.

Los materiales porosos descritos en el presente documento también son útiles como andamiajes de ingeniería de tejidos o crecimiento celular y soportan el crecimiento de muchos tipos de células o tejidos. Por ejemplo, los materiales pueden soportar el crecimiento de queratinocitos, fibroblastos, células endoteliales, osteoblastos, condrocitos o hepatocitos, o bien *in vitro* o bien *in vivo* en un implante, o unidos a la superficie de un implante. Cualquier tipo de implante puede recubrirse con los productos obtenidos de queratina descritos en el presente documento con el fin de reducir la respuesta inflamatoria al implante, o para administrar un agente farmacéutico o biológico desde el implante. Tales implantes incluirán, pero no se limitan a, marcapasos, endoprótesis, implantes ortopédicos, implantes urológicos, implantes dentales, implantes de mama e implantes maxilofaciales.

Los materiales descritos también son útiles en aplicaciones en las que se necesita absorción de líquidos, tales como en pañales, productos de higiene femenina, vendajes, por ejemplo, o en aplicaciones incluyendo limpieza del medio ambiente, mejora del suelo, recuperación de terreno desertificado u otras áreas en las que se necesita absorber o mantener grandes cantidades de agua o líquido.

Todas las composiciones y los métodos dados a conocer y reivindicados en el presente documento pueden realizarse y llevarse a cabo sin experimentación excesiva en vista de la presente divulgación.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición que comprende un material de queratina absorbente obtenido a partir de un filamento de pelo, en la que el material absorbente está sustancialmente libre de proteínas y péptidos de queratina solubles en agua y en la que el filamento se produce saturando el filamento con disolvente acuoso para obtener un filamento expandido y eliminando posteriormente el agua mediante sublimación para obtener un material absorbente.
- 10 2. Composición según la reivindicación 1, en la que el material absorbente absorbe al menos 20 veces su peso de agua.
3. Composición según la reivindicación 1, en la que la sublimación se logra liofilizando el material de queratina absorbente.
- 15 4. Composición según la reivindicación 1, en la que el filamento de pelo es un filamento de pelo humano.
5. Composición según la reivindicación 1, en la que el filamento de pelo es un filamento de lana o pelo de animal.
- 20 6. Composición preparada mediante un procedimiento que comprende: oxidar pelo o lana de manera eficaz para alterar una parte principal de los enlaces disulfuro de cistina en el pelo o la lana; retirar sustancialmente todas las proteínas y péptidos que son solubles en agua a pH neutro de la composición; hinchar la composición mediante saturación con disolución acuosa; y liofilizar la composición.
- 25 7. Uso de una composición según cualquier reivindicación anterior en la preparación de una película absorbente de agua.
- 30 8. Uso de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en la preparación de un apósito para heridas, un andamiaje de crecimiento celular, un material de administración de fármaco de liberación controlada o sostenida, un producto para el cuidado de la piel, un vendaje absorbente de agua, un pañal, un producto de higiene femenina absorbente o un absorbente de líquido medioambiental.

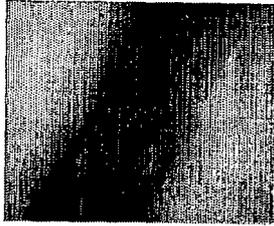


FIG. 1A

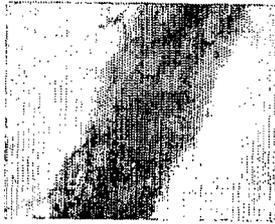


FIG. 1B

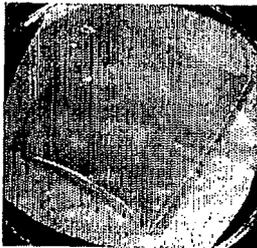


FIG. 2