

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 613 654**

51 Int. Cl.:

C08H 1/06 (2006.01)

C08J 3/12 (2006.01)

C08L 89/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.04.2014 PCT/EP2014/057091**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.10.2014 WO2014166966**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.04.2014 E 14715643 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.12.2016 EP 2909254**

54 Título: **Polvo de colágeno y procedimiento de fabricación**

30 Prioridad:

08.04.2013 EP 13162799
08.04.2013 US 201313858382

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.05.2017

73 Titular/es:

INNOCOLL PHARMACEUTICALS LIMITED
(100.0%)
9 Block D, Monksland Business Park, Monksland,
Althone
Roscommon, IE

72 Inventor/es:

DIETRICH, ALEXANDRA;
SCHNEID, STEFAN y
MYERS, MICHAEL

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 613 654 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

Polvo de colágeno y procedimiento de fabricación

Campo de la invención

La presente invención se refiere a un polvo de colágeno, a un método de fabricación del mismo y a sus usos.

5 Antecedentes de la invención

Se conocen bien en la técnica procedimientos para la preparación de polvos a base de colágeno para uso en medicina humana y veterinaria. Una característica funcional importante de los polvos de colágeno es la capacidad para absorber fluidos, tales como sangre y/o exudado de heridas. Dado que los polvos de colágeno muestran frecuentemente baja densidad, las características de procesamiento optimizadas son también de suma importancia.

10 Normalmente, el colágeno usado para la preparación posterior de los polvos de colágeno se aísla primero por extracción de piel o tendón de mamífero, se purifica, se trata enzimáticamente para eliminar los telopeptidos no helicoidales, se disuelve parcialmente con ácido, y finalmente se precipita aumentando el pH para proporcionar una fuente de colágeno fibrilar purificado. Una vez aislado, la fuente de colágeno se puede procesar adicionalmente para la fabricación de materiales a base de colágeno inmediatamente, o de lo contrario se almacena mientras se espera
15 un procesamiento posterior. Por comodidad de almacenamiento a escala comercial, la fuente de colágeno se concentra normalmente mediante separación del agua usando centrifugación para reducir el volumen y de este modo crear una masa húmeda. La masa húmeda debe almacenarse congelada para preservar el colágeno y prevenir el crecimiento bacteriano. Cuando se necesite para la fabricación de polvos a base de colágeno, la masa húmeda de colágeno congelada se descongela normalmente y se redispersa. Si el colágeno aislado se usa
20 inmediatamente o se congela y descongela como una masa húmeda, la fuente de colágeno es generalmente viscosa y difícil de procesar a escala comercial en polvos a base de colágeno.

Se conoce la preparación de polvos de colágeno moliendo productos de esponja de colágeno preformados. De modo perjudicial este método conocido da como resultado polvos de colágeno que tienen baja densidad. Además, se debe formar un gran número de esponjas de colágeno con el fin de preparar una cantidad suficiente de polvo de colágeno, lo que hace ineficiente el procedimiento de preparación de polvo de colágeno, en particular porque la cantidad de agua que se necesita separar durante el procedimiento de preparación puede ser aproximadamente 200 veces mayor que la masa seca equivalente de fuente de colágeno. Además el polvo de colágeno resultante es difícil de procesar más, porque presenta características de procesamiento no deseadas tales como mal comportamiento de flujo y propiedades de alta carga electrostática. Estas propiedades del material conducen también a dificultades
25 en la aplicación del polvo de colágeno resultante, por ejemplo para uso en el tratamiento de heridas o implantación. Debido a la baja densidad del polvo de colágeno resultante, éste puede ser fácilmente arrastrado por pequeños movimientos de aire y se adhiere a las superficies, lo que puede complicar la colocación del polvo de colágeno en el sitio de aplicación.

30 Existe una necesidad de proporcionar un polvo de colágeno que tenga características de producto deseables, tales como una alta capacidad de absorción de fluidos, aunque también con características de procesamiento que permitan la fabricación y manipulación comercial del polvo de colágeno.

Compendio de la invención

Según un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un procedimiento para preparar un polvo de colágeno, comprendiendo el procedimiento las etapas de:

- 40 (a) proporcionar una fuente de colágeno;
- (b) ajustar la fuente de colágeno a una concentración de 1,5-4,0%;
- (c) ajustar la fuente de colágeno a un pH de 2,9-5,2 introduciendo un ácido carboxílico en la fuente de colágeno;
- (d) congelar la fuente de colágeno a una temperatura de -33°C a -42°C;
- 45 (e) deshidratar el colágeno congelado, que comprende separar la fase acuosa reduciendo la presión a 5 Pa a 100 Pa (0,05 mbar a 1 mbar); y
- (f) degradar el colágeno deshidratado a un polvo.

Opcionalmente, la etapa de ajuste de la concentración (b) se realiza antes de la etapa de ajuste del pH (c). Alternativamente, la etapa de ajuste del pH (c) se realiza antes de la etapa de ajuste de la concentración (b). Más
50 alternativamente, la etapa de ajuste de la concentración (b) y la etapa de ajuste del pH (c) se realizan simultáneamente.

- Opcionalmente, la fuente de colágeno en la etapa de suministro (a) es colágeno fibrilar. Más opcionalmente, la fuente de colágeno en la etapa de suministro (a) se selecciona de colágeno de Tipo I, colágeno de Tipo II, colágeno de Tipo III, y una mezcla de los mismos. Aún más opcionalmente, la fuente de colágeno en la etapa de suministro (a) es colágeno de Tipo I.
- 5 Opcionalmente, la fuente de colágeno en la etapa de suministro (a) tiene una concentración de colágeno superior a 4,0%. Más opcionalmente, la fuente de colágeno en la etapa de suministro (a) tiene una concentración de colágeno superior a 15,0%. Aún más opcionalmente, la fuente de colágeno en la etapa de suministro (a) tiene una concentración de colágeno superior a 30,0%.
- 10 Opcionalmente, la fuente de colágeno en la etapa de suministro (a) tiene un pH superior a 5,0. Más opcionalmente, la fuente de colágeno en la etapa de suministro (a) tiene una concentración de colágeno de 7,0. Aún más opcionalmente, la fuente de colágeno en la etapa de suministro (a) tiene una concentración de colágeno superior a 7,0.
- 15 Opcionalmente, el procedimiento comprende la etapa adicional de degradación mecánica de la fuente de colágeno antes de la etapa de congelación (d). Más opcionalmente, el procedimiento comprende la etapa adicional de homogeneizar la fuente de colágeno antes de la etapa de congelación (d). Aún más opcionalmente, el procedimiento comprende la etapa adicional de mezclar por cizalladura la fuente de colágeno antes de la etapa de congelación (d).
- Opcionalmente, la etapa adicional de degradación mecánica se lleva a cabo después de la etapa de ajuste de la concentración (b) y/o de la etapa de ajuste del pH (c); y antes de la etapa de congelación (d).
- 20 Opcionalmente, la etapa adicional de degradación mecánica se lleva a cabo durante un periodo de más de 5 segundos. Más opcionalmente, la etapa adicional de degradación mecánica se lleva a cabo durante un periodo de 5 – 900 segundos. Aún más opcionalmente, la etapa adicional de degradación mecánica se lleva a cabo durante un periodo de 5 – 900 segundos hasta que se forma una dispersión de colágeno homogénea.
- 25 Opcionalmente, la etapa de ajuste de la concentración (b) comprende introducir un fluido en la fuente de colágeno. Más opcionalmente, la etapa de ajuste de la concentración (b) comprende introducir un fluido acuoso en la fuente de colágeno. Aún más opcionalmente, la etapa de ajuste de la concentración (b) comprende introducir agua, opcionalmente agua purificada, en la fuente de colágeno.
- 30 Opcionalmente, la fuente de colágeno se ajusta a una concentración equivalente de 1,5 – 4,0% (peso/peso) de colágeno seco. Más opcionalmente, la fuente de colágeno se ajusta a una concentración equivalente de 2,0 – 3,5% (peso/peso) de colágeno seco. Aún más opcionalmente, la fuente de colágeno se ajusta a una concentración equivalente de 3,0% (peso/peso) de colágeno seco.
- Opcionalmente, el procedimiento comprende la etapa (c) de ajustar la fuente de colágeno a un pH de 3,5 – 5,0.
- Opcionalmente, el procedimiento comprende la etapa (c) de ajustar la fuente de colágeno a un pH inferior a 4,5. Más opcionalmente, el procedimiento comprende la etapa (c) de ajustar la fuente de colágeno a un pH de 3,5 – 4,3. Aún más opcionalmente, el procedimiento comprende la etapa (c) de ajustar la fuente de colágeno a un pH de 3,5.
- 35 Opcionalmente, el procedimiento comprende la etapa (c) de ajustar la fuente de colágeno a un pH de 3,8 – 4,3. Aún más opcionalmente, el procedimiento comprende la etapa (c) de ajustar la fuente de colágeno a un pH de 4,0.
- La etapa de ajuste del pH (c) comprende introducir un ácido en la fuente de colágeno. Más opcionalmente, la etapa de ajuste del pH (c) comprende introducir una disolución ácida en la fuente de colágeno. Aún más opcionalmente, la etapa de ajuste del pH (c) comprende introducir una disolución ácida acuosa en la fuente de colágeno.
- 40 La etapa de ajuste del pH (c) comprende introducir un ácido carboxílico en la fuente de colágeno. Más opcionalmente, la etapa de ajuste del pH (c) comprende introducir una disolución de ácido carboxílico en la fuente de colágeno. Aún más opcionalmente, la etapa de ajuste del pH (c) comprende introducir una disolución acuosa de ácido carboxílico en la fuente de colágeno.
- 45 Opcionalmente, la etapa de ajuste del pH (c) comprende introducir ácido acético en la fuente de colágeno. Más opcionalmente, la etapa de ajuste del pH (c) comprende introducir una disolución de ácido acético en la fuente de colágeno. Aún más opcionalmente, la etapa de ajuste del pH (c) comprende introducir una disolución acuosa de ácido acético en la fuente de colágeno.
- Opcionalmente, la etapa de ajuste del pH (c) comprende introducir ácido acético anhidro en la fuente de colágeno.
- 50 Opcionalmente, la etapa de ajuste de la concentración (b) y la etapa de ajuste del pH (c) se pueden llevar a cabo simultáneamente introduciendo una disolución ácida, opcionalmente una disolución ácida acuosa, en la fuente de colágeno.

ES 2 613 654 T3

Opcionalmente, la etapa de ajuste de la concentración (b) y la etapa de ajuste del pH (c) se pueden llevar a cabo simultáneamente introduciendo una disolución de ácido acético, opcionalmente una disolución acuosa de ácido acético, en la fuente de colágeno.

- 5 Opcionalmente, la etapa de ajuste de la concentración (b) se lleva a cabo durante un periodo no inferior a 0,5 horas. Más opcionalmente, la etapa de ajuste de la concentración (b) se lleva a cabo durante un periodo de 0,5 horas.

Opcionalmente, la etapa de ajuste del pH (c) se lleva a cabo durante un periodo de 1 – 180 minutos.

Opcionalmente, la etapa de ajuste de la concentración (b) y la etapa de ajuste del pH (c) se llevan a cabo simultáneamente durante un periodo superior a 1 minuto. Más opcionalmente, la etapa de ajuste de la concentración (b) y la etapa de ajuste del pH (c) se llevan a cabo simultáneamente durante un periodo de 1 – 180 minutos.

- 10 La etapa de congelación (d) comprende congelar a una temperatura de aproximadamente -33°C a aproximadamente -42°C. Más opcionalmente, la etapa de congelación (d) comprende congelar a una temperatura de aproximadamente -38°C. Aún más opcionalmente, la etapa de congelación (d) comprende congelar a una velocidad de aproximadamente 0,3°C a aproximadamente 1,5°C por minuto, opcionalmente a una velocidad de aproximadamente 0,5°C por minuto.

- 15 La etapa de deshidratación (e) comprende separar la fase acuosa reduciendo la presión a aproximadamente 5 Pa a 100 Pa (0,05 a aproximadamente 1 mbar). Aún más opcionalmente, la etapa de deshidratación (e) comprende separar la fase acuosa aplicando al menos un vacío parcial, opcionalmente aplicando un vacío.

- 20 Opcional o adicionalmente, la etapa de deshidratación (e) comprende aumentar la temperatura. Más opcional o adicionalmente, la etapa de deshidratación (e) comprende aumentar la temperatura bajo vacío o vacío parcial. Aún más opcional o adicionalmente, la etapa de deshidratación (e) comprende aumentar la temperatura a al menos +30°C. Aun más opcional o adicionalmente, la etapa de deshidratación (e) comprende aumentar la temperatura a al menos +30°C bajo vacío o vacío parcial. Aún más opcional o adicionalmente, la etapa de deshidratación (e) comprende aumentar la temperatura a al menos +40°C. Aún más opcional o adicionalmente, la etapa de deshidratación (e) comprende aumentar la temperatura a al menos +40°C bajo vacío o vacío parcial.

- 25 Opcional o adicionalmente, la etapa de deshidratación (e) comprende aumentar la temperatura a aproximadamente +30°C a una velocidad de aproximadamente 0,3°C a aproximadamente 1,5°C por minuto, más opcionalmente a una velocidad de aproximadamente 0,5°C por minuto. Más opcional o adicionalmente, la etapa de deshidratación (e) comprende aumentar la temperatura del colágeno a aproximadamente +30°C a una velocidad de aproximadamente 0,3°C a aproximadamente 1,5°C por minuto, más opcionalmente a una velocidad de aproximadamente 0,5°C por minuto, bajo vacío o vacío parcial.

- 30 Opcional o adicionalmente, la etapa de deshidratación (e) comprende aumentar la temperatura a aproximadamente +40°C a una velocidad de aproximadamente 0,3°C a aproximadamente 1,5°C por minuto, más opcionalmente a una velocidad de aproximadamente 0,5°C por minuto. Más opcional o adicionalmente, la etapa de deshidratación (e) comprende aumentar la temperatura del colágeno a aproximadamente +40°C a una velocidad de aproximadamente 0,3°C a aproximadamente 1,5°C por minuto, más opcionalmente a una velocidad de aproximadamente 0,5°C por minuto, bajo vacío o vacío parcial.

- 35 Opcionalmente, le tapa de deshidratación (e) comprende al menos una etapa de equilibrado. Opcionalmente, la al menos una etapa de equilibrado comprende mantener la temperatura a una temperatura constante, suficiente para permitir que el colágeno congelado alcance una temperatura deseada. Más opcionalmente, la al menos una etapa de equilibrado comprende mantener la temperatura a una temperatura constante durante un periodo de tiempo suficiente para permitir que el colágeno congelado alcance una temperatura deseada. Aún más opcionalmente, la al menos una etapa de equilibrado comprende mantener la temperatura a una temperatura constante durante al menos 10 minutos, opcionalmente al menos 20 minutos, más opcionalmente al menos 30 minutos, aún más opcionalmente al menos 45 minutos, aún más opcionalmente al menos 60 minutos; para permitir que el colágeno congelado alcance una temperatura deseada.

- 40 Opcionalmente, la al menos una etapa de equilibrado se lleva a cabo cuando la temperatura se aumenta a al menos -20°C. Opcional o adicionalmente, la al menos una etapa de equilibrado se lleva a cabo cuando la temperatura se aumenta a al menos -10°C. Opcional o adicionalmente, la al menos una etapa de equilibrado se lleva a cabo cuando la temperatura se aumenta a al menos 0°C. Opcional o adicionalmente, la al menos una etapa de equilibrado se lleva a cabo cuando la temperatura se aumenta a al menos +10°C. Opcional o adicionalmente, la al menos una etapa de equilibrado se lleva a cabo cuando la temperatura se aumenta a al menos +20°C. Opcional o adicionalmente, la al menos una etapa de equilibrado se lleva a cabo cuando la temperatura se aumenta a al menos +30°C. Opcional o adicionalmente, la al menos una etapa de equilibrado se lleva a cabo cuando la temperatura se aumenta a al menos +40°C.

Opcionalmente, le etapa de deshidratación (e) comprende seis etapas de equilibrado, realizándose cada etapa de equilibrado cuando la temperatura se aumenta en aproximadamente 10°C. Más opcionalmente, la etapa de deshidratación (e) comprende seis etapas de equilibrado, realizándose cada etapa de equilibrado cuando la temperatura se aumenta a aproximadamente -20°C, aproximadamente -10°C, aproximadamente 0°C, aproximadamente +10°C, aproximadamente +20°C, y aproximadamente +30°C.

Opcionalmente, la fuente de colágeno se puede formar en capas de colágeno antes de la etapa de congelación (d).

Opcionalmente, la dispersión de colágeno puede rellenarse en moldes para formar capas de colágeno antes de la etapa de congelación (d). Más opcionalmente, la dispersión de colágeno puede rellenarse en moldes para formar capas de colágeno que tienen un espesor medio de 1-5 mm antes de la etapa de congelación (d). Aún más opcionalmente, la dispersión de colágeno puede rellenarse en moldes para formar capas de colágeno que tienen un espesor medio de 1-3 mm antes de la etapa de congelación (d). Aún más opcionalmente, la dispersión de colágeno puede rellenarse en moldes que tienen un espesor medio de 1-5 mm y dimensiones de 50 x 40 cm para formar capas de colágeno antes de la etapa de congelación (d), de la etapa de deshidratación (e) o de ambas.

Opcionalmente, le etapa de degradación (f) comprende degradar mecánicamente el colágeno deshidratado a un polvo. Más opcionalmente, la etapa de degradación (f) se selecciona de molienda, corte, trituración, granulación, y sus combinaciones. Aún más opcionalmente, la etapa de degradación (f) comprende moler el colágeno deshidratado a un polvo. Aún más opcionalmente, la etapa de degradación (f) comprende moler el colágeno deshidratado a un polvo usando un tamaño de malla de 1 mm.

Opcionalmente, el polvo de colágeno se introduce en un recipiente.

Opcionalmente, el polvo de colágeno se esteriliza. Más opcionalmente, el polvo de colágeno se esteriliza después de ser introducido en un recipiente.

Breve descripción de los dibujos

A continuación se describirán realizaciones de la invención a modo de ejemplos no limitativos, y con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

La Figura 1 es un gráfico que ilustra la absorción de agua de polvos de colágeno preparados a diferentes pH y concentraciones de colágeno;

La Figura 2 es un gráfico que ilustra la densidad aparente de polvos de colágeno preparados a diferentes pH y concentraciones de colágeno.

La Figura 3 es un gráfico que ilustra la absorción de agua de polvos de colágeno preparados a diferentes pH; y

La Figura 4 es un gráfico que ilustra la concentración de ácido introducido en la fuente de colágeno durante la etapa de ajuste del pH (c).

Ejemplos

Ejemplo 1 – Procedimiento de fabricación

El colágeno se puede aislar de una serie de fuentes, por ejemplo pieles de animales y tendones animales. En una realización preferida, el colágeno se aísla de tendón animal, por ejemplo tendón equino o bovino; aunque cualquier fuente conocida de colágeno, que incluye tejido fibroso, opcionalmente tejido conectivo, se puede usar y seleccionar por un experto en la técnica. Preferiblemente, el colágeno se aísla de tendón equino. En el método de aislamiento, los tendones equinos se molieron para degradar la fuente de colágeno. Los tendones equinos molidos se trataron con una serie de reactivos, que incluye hidróxido sódico (NaOH) 1 N para eliminar la contaminación microbiológica tal como priones al comienzo del proceso. Se llevaron a cabo etapas de tratamiento con peróxido de hidrógeno y etapas de lavado a diferentes valores de pH, seguidas por una etapa de molienda que se usó para aumentar la superficie para la siguiente etapa de tratamiento. El peso molecular de la fuente de colágeno se redujo adicionalmente mediante tratamiento con la enzima proteolítica pepsina a un pH aproximado de 2,5. El pH se ajustó usando una disolución acuosa de HCl 1 N. La pepsina se usó para degradar componentes de suero contaminantes tales como albúmina de suero equino (ESA) y dio por resultado el desprendimiento de partes no helicoidales de la molécula de colágeno (telopéptidos). Durante este proceso, el material colágeno también se disolvió parcialmente en el medio ácido. Después de la filtración, el nivel de pH se aumentó de 2,5 a 7,5 mediante adición de hidróxido sódico (NaOH) 1 N. Este ajuste del pH dio por resultado la precipitación del colágeno fibrilar de la disolución, que se concentró después mediante centrifugación para proporcionar una dispersión de colágeno que tenía una concentración de aproximadamente 3-30% (peso/peso). El material resultante se denominó colágeno de nueva aportación. El colágeno de nueva aportación se puede procesar de varias maneras.

El colágeno de nueva aportación se puede envasar en porciones adecuadas y congelar a -20°C para almacenarse en un congelador hasta que se requiera para su uso. El material resultante se denominó colágeno congelado. El colágeno congelado se descongela antes de su uso de la misma manera que el colágeno de nueva aportación.

5 Una cantidad de 63,3 g de fuente de colágeno congelado que tenía una concentración equivalente de 28,4% de contenido seco se descongeló a temperatura ambiente y se proporcionó en un recipiente de acero inoxidable de tamaño adecuado. Una cantidad de 20 g de ácido acético 1 N se introdujo en la fuente de colágeno para ajustar el pH a 4,2. Se introdujo agua purificada en la dispersión de colágeno para dispersar la fuente de colágeno a una concentración de 1,5 – 4,0%.

10 Después de 5 minutos de remojo, se obtuvo una dispersión de colágeno semisólida no homogénea y se transfirió a un dispositivo de corte (Mezclador de Alta Eficacia 39BL 10, Waring Laboratory Services, Winsted, CT, USA). La dispersión de colágeno se homogeneizó durante un corto periodo de tiempo (5 segundos a 15 minutos) hasta que se obtuvo una dispersión uniforme de colágeno semisólida con colágeno homogéneamente hidratado e hinchado. La dispersión viscosa de colágeno se pesó en cantidades de 280 g en moldes o bandejas adecuados, por ejemplo bandejas de acero inoxidable o moldes blister (de tipo ampolla) grandes con un tamaño de 32 x 22 cm, y se distribuyó para obtener una capa de colágeno que tenía un espesor de 1 – 5 mm.

15 La dispersión de colágeno distribuida se colocó en un liofilizador (Christ Epsilon I 15), en donde primero se congeló y después se deshidrató a vacío por sublimación. Las condiciones de congelación y deshidratación incluyen presiones de cámara entre 50 y 500 μbar (5 y 50 Pa), y temperaturas de almacenamiento que comienzan a aproximadamente -40°C y se aumentan secuencialmente a $+40^{\circ}\text{C}$. Normalmente, el proceso de liofilización (las etapas de congelación y deshidratación) tiene un tiempo de duración total de 18 – 30 horas. Cuando el colágeno se deshidrata, la cámara del liofilizador se lleva a presión atmosférica. El colágeno resultante está en forma de capas de colágeno con espesor ligeramente inferior que en la capa de dispersión de colágeno (por ejemplo, el colágeno resultante está en forma de capas de colágeno con un espesor de 1 – 4 mm).

20 Las capas de colágeno se cortaron usando tijeras, en unidades con dimensiones que permiten una alimentación adecuada en un molino (Retsch ZM 100), por ejemplo capas que tienen dimensiones de 1 x 1 cm, ó 10 x 10 cm, dependiendo del equipo de molienda. Para el molino Retsch ZM 100 las capas de colágeno se cortaron usando tijeras, en capas que tenían dimensiones de 0,5 x 0,5 cm. Las capas de colágeno cortadas se recogieron en un recipiente de acero inoxidable y se molieron, usando por ejemplo un molino ultracentrífugo (Retsch ZM 100 a 18000 rpm a temperatura ambiente) con un tamaño de malla de 1 mm usando enfriamiento por aire. El polvo de colágeno degradado se recoge y se rellena en recipientes o bolsas de poli(etileno) (politeno; PE) para almacenamiento intermedio.

25 Posteriormente, el polvo de colágeno se dividió en alícuotas en una configuración de envasado final de 5 g por unidad, opcionalmente esterilizado usando gas de óxido de etileno (EO), y se probó como se describe en el Ejemplo 3.

35 Ejemplo 2 – Caracterización analítica (etapa de ajuste del pH)

Se prepararon muestras de polvo de colágeno como se describe generalmente en el Ejemplo 1. En resumen, se descongeló a temperatura ambiente una cantidad de fuente de colágeno congelada. En la fuente de colágeno se introdujo una cantidad de ácido acético 1 N para ajustar el pH a un intervalo de 2,9 – 7,3. Se introdujo agua purificada en la dispersión de colágeno para dispersar la fuente de colágeno a una concentración de 3,0%. La dispersión de colágeno se homogeneizó hasta que se obtuvo una dispersión de colágeno semisólida uniforme con colágeno homogéneamente hidratado e hinchado. Las dispersión viscosa de colágeno se pesó en moldes o bandejas adecuados y se distribuyó para obtener una capa de colágeno. La dispersión de colágeno distribuida se colocó en un liofilizador (Christ Epsilon I 15), en donde primero se congeló y después se deshidrató en vacío por sublimación. El colágeno resultante está en forma de capas de colágeno. Las capas de colágeno se cortaron usando tijeras, se recogieron en un recipiente de acero inoxidable y se molieron. El polvo de colágeno degradado se recoge y se rellena en recipientes o bolsas de poli(etileno) (politeno; PE) para almacenamiento intermedio.

Ejemplo 3 – Caracterización analítica (absorción de agua)

La capacidad de absorción de fluido (absorción de agua) del polvo de colágeno no estéril se probó remojando una masa definida de 100 – 500 mg de polvo de colágeno en agua purificada durante un periodo de tiempo definido (por ejemplo, 5 minutos); separando el exceso de agua superficial colocando un tamiz plano sobre un tejido durante 10 segundos y pesando la muestra hidratada. La absorción de agua se analizó considerando el pH y la concentración de colágeno en la mezcla antes de las etapas de congelación y deshidratación.

El pH de la dispersión de colágeno antes de las etapas de congelación y deshidratación influyó considerablemente en la capacidad de absorción de fluido. La absorción de agua se muestra en la Figura 1 en dependencia del pH de la dispersión de colágeno antes de las etapas de congelación y deshidratación. La concentración de la dispersión de colágeno está indicada por el área de los círculos. El polvo de colágeno preparado por el procedimiento de la presente invención se muestra a pH 3,5 – 5,0 y con concentraciones de colágeno de 1,5 – 5,0%. Los polvos de

colágeno que tenían una menor concentración de colágeno presentaban una absorción de agua comparable, pero características de procesamiento deficientes. Las propiedades de absorción de agua parecen estar definidas principalmente por el pH; y un pH < 4,5 parece proporcionar un valor de absorción de agua de al menos 20 veces mayor que el peso de muestra.

- 5 Se realizó una prueba comparativa directa entre un polvo de colágeno preparado por el procedimiento según la presente invención, y muestras estériles de dos productos comercialmente disponibles. En cada caso se determinó la absorción de agua usando el método descrito anteriormente en esta memoria.

10 Un hemostato de colágeno microfibrilar (MCH), indicado para todos los procedimientos quirúrgicos que incluyen neurocirugía y urología, disponible en Davol, una empresa Bard (RI, USA), y conocido como Avitene™ Flour MCH; presentó una absorción de agua 6,5 veces mayor que el peso de muestra probado.

Un polvo de colágeno hecho de colágeno de corion bovino estéril (irradiado con rayos gamma), natural, bioabsorbible, fabricado por Holphar Arzneimittel, von Fournier Pharma GmbH (Sulzbach, Germany) y conocido como PANGEN™ Puder presentó una absorción de agua 9,2 veces mayor que el peso de muestra probado.

- 15 Para ambos productos de origen comercial probados, la absorción de agua es significativamente menor que para el polvo de colágeno preparado según el procedimiento de la presente invención.

Ejemplo 4 – Caracterización analítica (densidad aparente)

20 La densidad aparente de polvos de colágeno se determinó rellenando una cantidad pesada de polvo de colágeno (por ejemplo, 1 g) en un cilindro graduado y determinando el volumen (por ejemplo, 10 – 50 mL). La densidad aparente aumentó significativamente con una concentración mayor de colágeno en la dispersión de colágeno antes de las etapas de congelación y deshidratación.

El polvo de colágeno preparado según el procedimiento de la presente invención presentó valores de densidad aparente de 20 – 30 mg/cm³ en comparación con polvos de colágeno que tenían una concentración de colágeno más baja, que presentaron valores de densidad aparente de aproximadamente 4 mg/cm³.

- 25 La relación entre el pH de la dispersión de colágeno, la concentración de la dispersión de colágeno, y la densidad aparente se muestra en la Figura 2. La densidad aparente parece estar influida por la concentración de colágeno.

Por tanto, la presente invención proporciona un polvo de colágeno que tiene una densidad aparente mejorada, características de procesamiento mejoradas, y mayor absorción de fluido.

- 30 El procedimiento de preparación según la presente invención proporciona también un procedimiento de preparación que tiene mejor eficacia separando la cantidad de agua que se necesita separar durante el procedimiento de preparación (la cantidad de agua que se necesita separar en el procedimiento de preparación según la presente invención es aproximadamente 30 veces mayor que la masa de colágeno en comparación con 200 veces mayor que la masa de colágeno de métodos conocidos). Esto permite la reducción del tiempo de proceso y mayor rendimiento.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para preparar un polvo de colágeno, comprendiendo el procedimiento las etapas de
 - (a) proporcionar una fuente de colágeno;
 - (b) ajustar la fuente de colágeno a una concentración de 1,5 – 4,0%;
 - 5 (c) ajustar la fuente de colágeno a un pH de 2,9 – 5,2 introduciendo un ácido carboxílico en la fuente de colágeno;
 - (d) congelar la fuente de colágeno a una temperatura de -33°C a -42°C;
 - (e) deshidratar el colágeno congelado, que comprende separar la fase acuosa reduciendo la presión a 5 Pa a 100 Pa (0,05 mbar a 1 mbar); y
 - (f) degradar el colágeno deshidratado a un polvo.
- 10 2. Un procedimiento según la reivindicación 1, en donde el procedimiento comprende la etapa adicional de degradar mecánicamente la fuente de colágeno antes de la etapa de congelación (d).
3. Un procedimiento según la reivindicación 1 ó 2, en donde la fuente de colágeno se ajusta a una concentración equivalente de 1,5 – 4,0% (peso/peso) de colágeno seco.
- 15 4. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el procedimiento comprende la etapa (c) de ajustar la fuente de colágeno a un pH de 3,5 – 5,0.
5. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la etapa de ajuste del pH (c) comprende introducir una disolución de ácido acético en la fuente de colágeno.
- 20 6. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la etapa de ajuste de la concentración (b) y la etapa de ajuste del pH (c) se llevan a cabo simultáneamente introduciendo una disolución de ácido en la fuente de colágeno.
7. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la etapa de ajuste de la concentración (b) se lleva a cabo durante un periodo no inferior a 0,5 horas.
8. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la etapa de ajuste del pH (c) se lleva a cabo durante un periodo de 1-180 minutos.
- 25 9. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la etapa de ajuste de la concentración (b) y la etapa de ajuste del pH (c) se llevan a cabo simultáneamente durante un periodo superior a 1 minuto.
10. Un procedimiento según cualquier reivindicación precedente, en donde la etapa de deshidratación (e) comprende aumentar la temperatura a al menos +30°C.
- 30 11. Un procedimiento según la reivindicación 10, en donde la etapa de deshidratación (e) comprende aumentar la temperatura a al menos +40°C.
12. Un procedimiento según cualquier reivindicación precedente, en donde la etapa de deshidratación (e) comprende seis etapas de equilibrado, siendo realizada cada etapa de equilibrado cuando la temperatura se aumenta en 10°C.
- 35 13. Un procedimiento según cualquier reivindicación precedente, en donde la etapa de degradación (f) comprende moler el colágeno deshidratado a un polvo usando un tamaño de malla de 1 mm.
14. Un procedimiento según cualquier reivindicación precedente, en donde el procedimiento comprende la etapa (c) de ajustar la fuente de colágeno a un pH de 3,5 – 4,3, opcionalmente a un pH de 3,5.
15. Un polvo de colágeno, que tiene una absorbencia de agua de al menos 20 veces su peso seco y una densidad aparente de 20 – 30 mg/cm³.
- 40 16. El polvo de colágeno según la reivindicación 15, en donde el polvo de colágeno tiene un tamaño de partícula inferior a 1 mm.

Figura 1

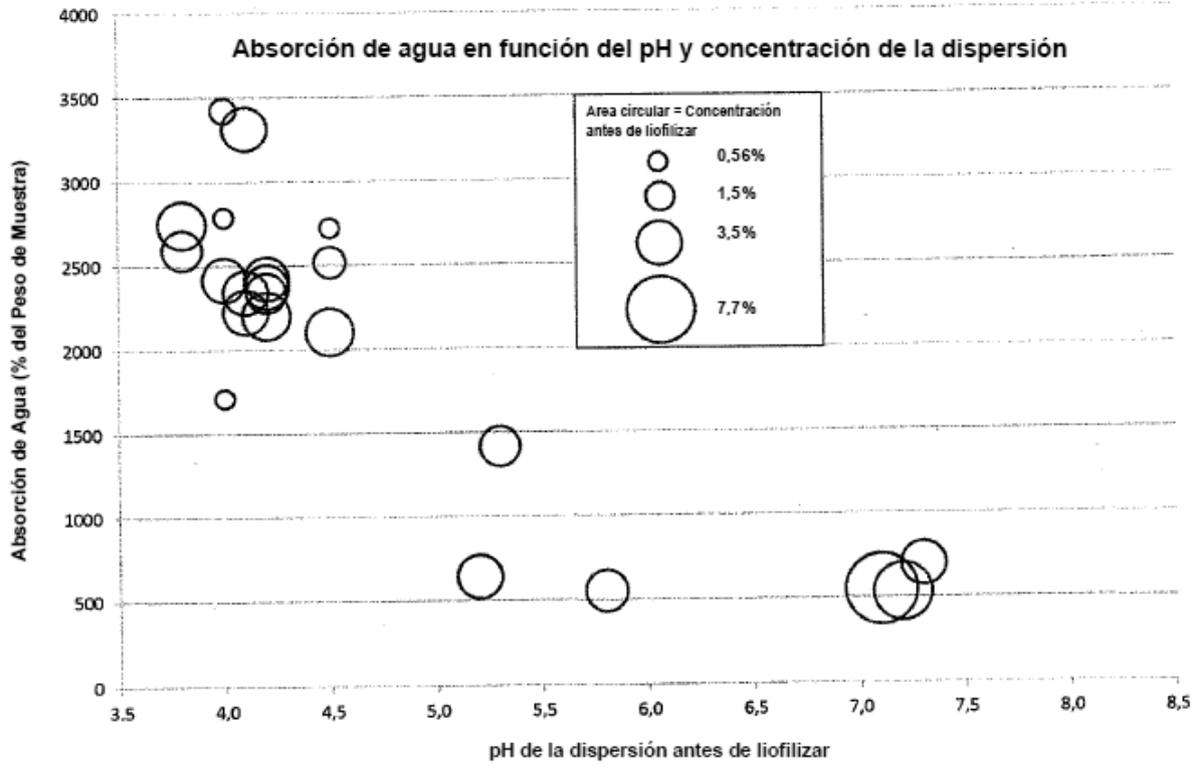


Figura 2

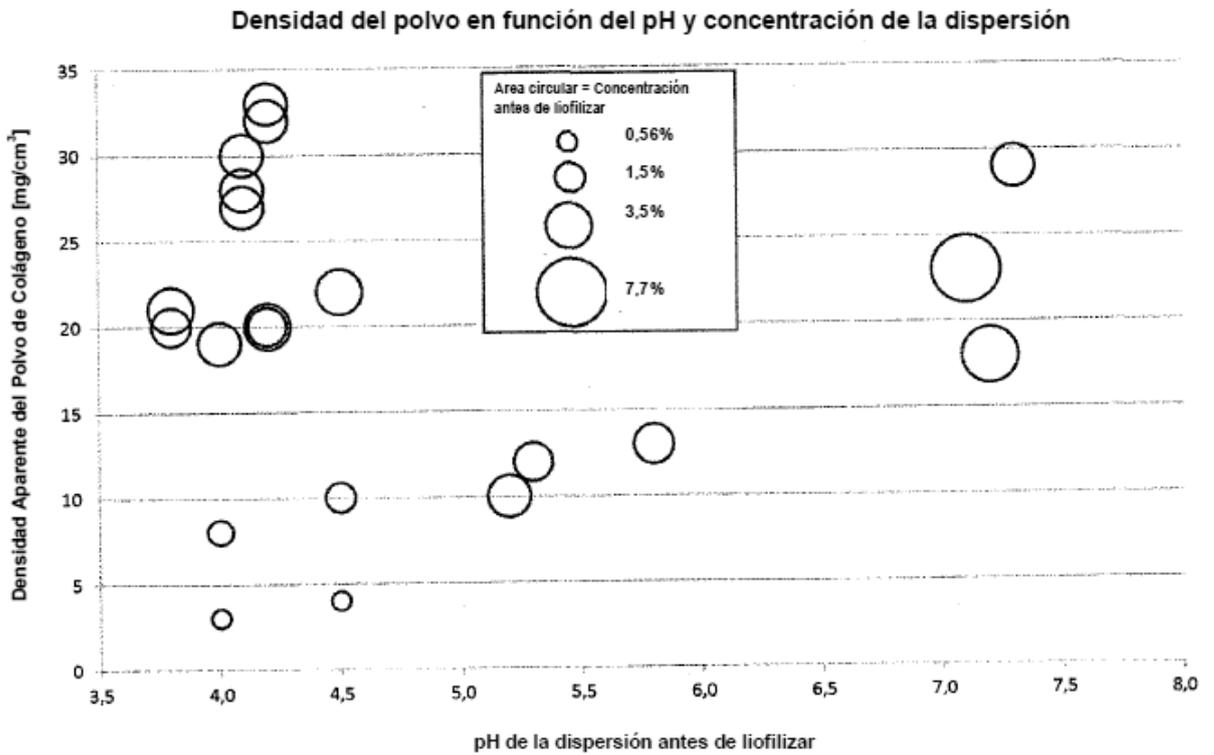


Figura 3

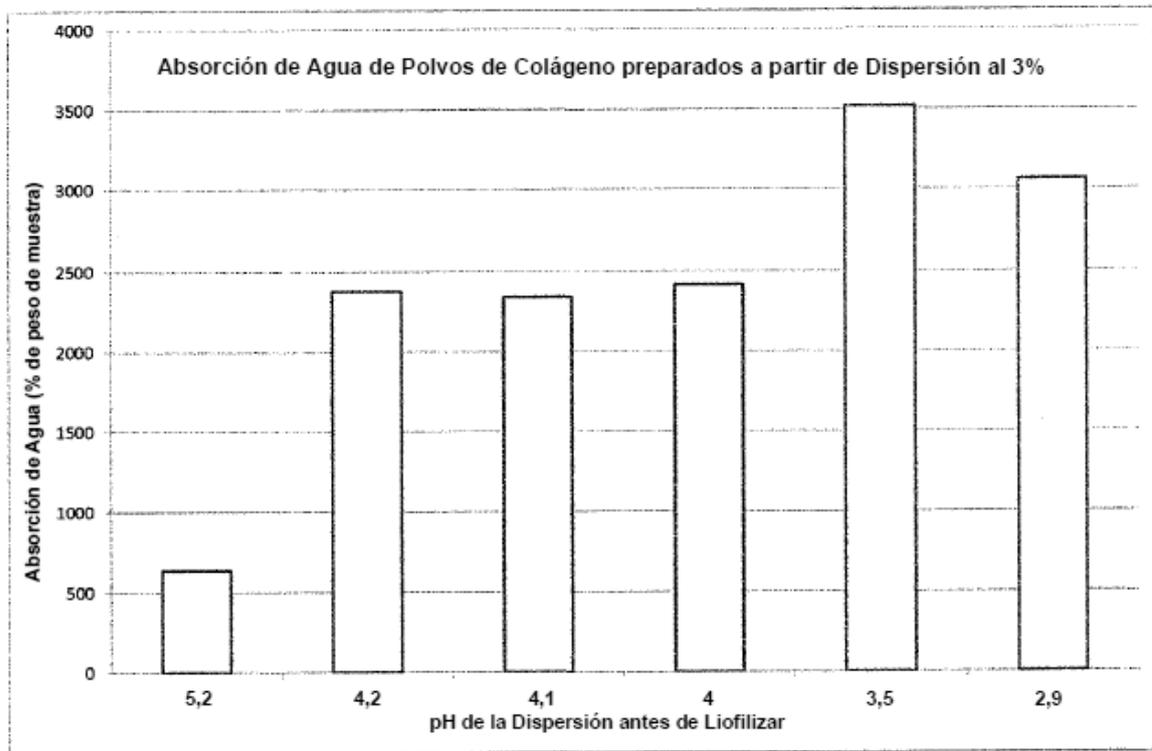


Figura 4

