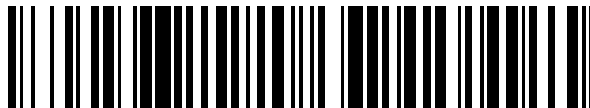


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 718 653**

51 Int. Cl.:

**C08L 89/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.06.2012 PCT/IB2012/001274**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.01.2014 WO14001831**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.06.2012 E 12745511 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.01.2019 EP 2864421**

54 Título: **Método para producir polvo de fibroína a partir de productos o filamentos de seda**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.07.2019**

73 Titular/es:  
**AL.PRE.TEC. SRL ALLERGY PREVENTION  
TECHNOLOGY ITALIA (100.0%)  
Via Giuseppe Sirtori 5  
37129 Verona, IT**

72 Inventor/es:  
**MONTAGNER, DINO**

74 Agente/Representante:  
**LLAGOSTERA SOTO, María del Carmen**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o  
Bemerkungen) en el folleto original publicado por  
la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 718 653 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**

Método para producir polvo de fibroína a partir de productos o filamentos de seda.

5 La presente invención se refiere a un método para obtener fibroína en polvo, que comienza, por ejemplo, a partir de desechos o desperdicios, como residuos del procesamiento de productos de seda, en que dicho polvo se utilizará más adelante solo o de forma combinada también con agentes, en el tratamiento de enfermedades del cuerpo humano, como por ejemplo enfermedades de la piel e irritaciones, tanto internas como externas al cuerpo humano, en la re-epitelización, como por ejemplo la curación de suturas, en farmacocsméticos para tratamientos hidratantes y antienvjecimiento, así como también como un medio reconstructivo de los tejidos, y finalmente se utiliza también como sustrato, para facilitar el crecimiento de las células madre.

10 Campo de la invención

15 La seda es un material proteico producido por diferentes especies de artrópodos, entre los cuales se encuentra tradicionalmente el *Bombix Mori*, definido convencionalmente como gusano de seda. La utilización generalizada de la fibra se dirige al campo textil, pero durante la última década también ha encontrado un espacio en el sector biomédico. Es posible afirmar razonablemente que la seda, antes de ser una fibra textil, es un biomaterial, compuesto de dos moléculas de proteína, la fibroína y la sericina. La seda natural, en forma de filamento, consiste en dos hilos continuos de fibroína, que es una proteína estructural de alto peso molecular no soluble en agua que constituye aproximadamente el 80%, enrollada y unida por un recubrimiento de sericina, una proteína no estructural, perteneciente a una familia de proteínas hidrófilas que constituye su parte restante. En el campo biomédico, es sabido que la utilización de la seda solamente puede producirse después de la eliminación de la sericina, una proteína que origina efectos de hipersensibilidad e inmunogenicidad causados por la fibra de la seda como tal. La eliminación de la sericina de la seda se produce por medio del proceso de desgomado. De esta manera, se obtienen fibras formadas por la agregación de moléculas de fibroína, unidas entre sí por una red gruesa de enlaces de hidrógeno intermolecular.

25 En la literatura se afirma que la fibroína de seda, la principal proteína obtenida del capullo secretado por *Bombix Mori*, gracias a sus cualidades de biocompatibilidad, permeabilidad al oxígeno y vapor de agua y biodegradabilidad se considera un excelente biomaterial. De hecho, es ampliamente utilizado en forma de fibra regenerada químicamente para obtener una amplia gama de estructuras, como películas, membranas, hidrogeles y esponjas, que se utilizan con éxito para la adhesión y el crecimiento de diferentes tipos de células, y en su forma de fibra nativa para obtener hilos de sutura, fibras hiladas para la ingeniería del ligamento cruzado anterior y redes no tejidas para el cultivo de osteoblastos, fibroblastos, hepatocitos y queratinocitos.

30 Por ejemplo, la firma Sanitars spa de Flero (Brescia) ha llevado a cabo un uso particular de las fibras nativas de fibroína de seda que, en IT 1 387182, describe una tela no tejida, a través de la tecnología spunlace basada en fibras nativas de fibra de seda para la utilización en la producción de gasas y vendas innovadoras para el tratamiento de patologías de la piel, para el estudio y el diseño de prótesis implantables en cirugía y para la producción de soportes en fibroína pura en el sector de la ingeniería de tejidos.

Técnica anterior

40 En la investigación existen diversas técnicas de extracción de fibroína en polvo de la seda, y en particular, China ha demostrado ser uno de los principales países expertos y prácticos en el sector. Sin embargo, debe decirse que el uso de fibroína en polvo en dicho país aparentemente tiene aplicación en el sector alimentario como un suplemento, ya que sus excelentes propiedades han sido reconocidas. La investigación breve, no en profundidad, también ha permitido encontrar algunos documentos que tienen varios grados de importancia y que a continuación se presentan de forma sintética.

45 El documento JP2010024196 describe un método de preparación, adecuado para obtener polvo de fibroína de seda con las propiedades relativas a la estructura de cristal de seda conservada en él, y para mejorar el rendimiento en su tratamiento de disminución de la tenacidad. El método de preparación del polvo de fibroína de seda incluye un proceso de alimentación del material de seda en bruto en una solución acuosa de una sal neutra y el calentamiento de este último de manera que la materia prima, la seda, se hinche. El siguiente proceso requiere el tratamiento de disminución de la tenacidad con álcalis o un ácido en la solución acuosa de una sal neutra, a continuación una fase que proporciona un proceso para neutralizar la solución acuosa de una sal neutra con la adición de un ácido o un álcali, una fase para eliminar la seda debilitada antes de deshidratar, una fase de lavado de la seda cruda extraída del material, una fase de deshidratación de la seda lavada, una fase de secado de la seda deshidratada y una fase de trituración del material de seda.

55 El documento JP2009292743 es un método para la producción de polvos de fibroína de seda solubles en agua que tienen una óptima solubilidad, de manera que se conservan durante un largo período y se ajustan en una solución con una alta concentración de fibroína de seda. Dicho método incluye un proceso de disolución del material de seda en bruto para obtener una solución de fibroína de seda, un proceso de filtración de la solución de fibroína de seda a

través de una membrana de ultrafiltración para eliminar los componentes no solubles, un proceso de desalinización de la solución de fibroína de seda y un proceso de secado y pulverización de la solución de fibroína de seda.

5 CN14561 77 es un proceso con equipamiento para la producción natural de un extracto de polvo de seda. Una vez que se ha extraído la sericina de la seda natural, el extracto residual de la seda natural se carga en un recipiente cerrado a través de su abertura. A continuación, se cierra la abertura con una tapa con una membrana. Se libera una presión dentro de dicho contenedor de aproximadamente (2.5-3 MPa), por ejemplo, introduciendo vapor durante 6 - 15 minutos hasta que la membrana se rompe, liberando el polvo.

10 El documento JP2004315682 describe un método para producir un polvo de fibroína de seda a partir de un gusano de seda, utilizable como material macromolecular, no soluble en agua, adecuado para ser tratado y preparado para un producto cosmético, alimento, fármaco y médico. El polvo se obtiene de la seda de una manera estable sin deterioro con alta eficiencia para ser utilizado de manera efectiva y ampliar la aplicación de la seda del gusano de seda salvaje y del gusano de seda de interior. La fibroína de seda del gusano de seda salvaje se disuelve con la adición de una solución que contiene cobre como etilendiamina cobre, amoníaco, óxido de cobre y una solución alcalina de glicerol cobre a 20 - 80 °C, y se agrega un ácido inorgánico como ácido sulfúrico, ácido nítrico y ácido clorhídrico, o un ácido graso como por ejemplo ácido acético, ácido cítrico y ácido tartárico a la solución de seda disuelta permitiendo que el cristal de proteínas precipite. El precipitado del extremo del cristal se lava con agua y se seca con el objetivo de proporcionar proteínas de seda en polvo.

20 JP2005281 332 es otro método para la producción de fibroína de seda en polvo blanco, que no requiere desalinización y sin residuos como sales y álcalis. El método para la producción de fibroína de seda en polvo comprende agentes impregnantes de fibroína recolectados a partir de proteínas de seda, preferiblemente con una solución alcalina acuosa, exponiendo la parte fibrosa de fibroína a vapor sobrecalentado a 100 -150 °C. El método para la producción de fibroína de seda en polvo debe poner el compuesto de fibroína fibrosa recolectado a partir de las proteínas de seda en contacto con una solución acuosa de peróxido de hidrógeno en un ambiente presurizado a 100 - 150 °C, y a continuación eliminar el peróxido de hidrógeno de la fibroína, secar y pulverizar la fibroína en polvo.

25 El objetivo de KR20020096638 es proporcionar un péptido de seda de alto peso molecular que se pueda agregar a los alimentos, no soluble en agua. El método para la producción de un polvo de fibroína de péptido de seda de alto peso molecular, no soluble en agua comprende las fases de: hidrólisis de la seda con hidróxido de calcio o hidróxido de bario, filtrado de la seda hidrolizada, lavado del sólido filtrado y secado, que hacen que los componentes de alcalí precipiten en la solución filtrada y el posterior filtrado de la solución filtrada para eliminar los componentes alcalinos, y a continuación la eliminación de la concentración y el secado de la solución filtrada, en la que los componentes alcalinos se hacen precipitar utilizando al menos un compuesto seleccionado de ácido sulfúrico, ácido oxálico, dióxido de carbono líquido, hielo seco y bicarbonato de amonio con hidrólisis de la seda que tiene lugar de 90 ° a 100 °C de 8 a 48 horas.

35 KR20010060437 describe un método para la producción de polvo de fibroína de seda para su utilización como material cosmético, como aditivo para cosméticos y otros usos industriales. La materia prima de seda proveniente de capullos, seda cruda, capullos de desecho, desperdicios de seda cruda, desperdicios de seda y tela bourette, desgomada, se trata con una solución acuosa que contiene un detergente neutro. A continuación, el material se calienta a más de 150 °C y se mezcla en glicerol, etilenglicol o una solución acuosa de este último para obtener una suspensión, y seguidamente se enfría. Se añade agua o alcohol como disolvente, metanol, etanol y alcohol isopropílico a la suspensión y se agita. La suspensión se filtra y se seca para la producción de polvo de fibroína de seda.

45 El documento JP2001054359 propone un método para obtener polvo de fibroína de seda de alta eficiencia y alta calidad en un tiempo más corto que el requerido para el proceso convencional. Después de tamizarse, la fibra de seda se disuelve en una solución de agua y alcohol que incluye sal natural, como por ejemplo el cloruro de sodio. Esta solución se diluye y a continuación se precipita la fibroína. La fibroína precipitada se separa mientras que la sal residual neutra se elimina de la fibroína por lavado. Finalmente, la fibroína lavada se seca a aproximadamente 30 - 50 °C y, cuando está suficientemente seca, se tritura finamente.

50 JP11104228 es un proceso de producción que consiste en el refinamiento de las fibras de seda, para a continuación disolver las fibras en una solución refinada de una sal ácida o neutra. Los materiales de bajo peso molecular se eliminan por diálisis. Cuando las fibras de seda se disuelven por medio del ácido, la solución se neutraliza con álcalis. A continuación, la forma cristalina de la fibroína se pulveriza.

55 El documento US5853764 trata de un proceso para la preparación de polvo cristalino de fibroína de seda a partir de una sustancia de seda. El proceso para la preparación de polvo fino de fibroína de seda es de una forma tal que la seda se pone en una solución acuosa alcalina a una temperatura de 95 °C o más para causar un deterioro de la misma, la sustancia de seda resultante se somete posteriormente al tratamiento con álcalis y la sustancia de seda seca se pulveriza en polvo fino.

El documento EP0875523 describe un método para la producción de polvos ultrafinos de fibroína de seda que consiste en: un primer paso para la pulverización de la fibroína de seda en un estado de polvo triturado por medio de

- 5 medios mecánicos, una segunda fase para la pulverización del polvo de fibroína de seda triturado en un estado de polvo fino mediante pulverización mecánica seca, una tercera fase para la pulverización del polvo de fibroína de seda fina en un polvo ultrafino con un diámetro promedio de partículas de menos de 10 pm mediante medios de pulverización mecánica y una fase siguiente para el tratamiento del polvo de fibroína de seda beta en al menos una de dichas primeras fases o después de las tres fases.
- 10 JP7278472 propone un polvo ultrafino de fibroína de seda que se produce mediante un proceso que incluye el primer paso de triturar la seda en un polvo rugoso con un medio mecánico seco, el segundo paso de pulverizar el polvo rugoso en un polvo fino con un medio mecánico seco y el tercer paso de la pulverización adicional del polvo fino en un polvo ultrafino de un tamaño promedio máximo de 10  $\mu\text{m}$  de las partículas con un medio mecánico seco, y en el que el polvo de fibroína de seda se trata para tener una estructura beta en al menos uno de los pasos o a continuación. El polvo obtenido se fusiona con una resina, como un disolvente a base de resina o una resina a base de agua y puede contener compuestos aromáticos.
- 15 JP7188563 proporciona pulverizar el polvo de fibroína de seda áspera con medios de pulverización mecánica seca, el segundo paso de pulverizar para transformar el polvo de fibroína de seda áspera en polvo fino mediante pulverización con medios mecánicos y una tercera fase para transformar el polvo de fibroína de seda fina en polvo superfino de aproximadamente  $\leq 10$  pm de diámetro promedio de las partículas. El líquido de recubrimiento que contiene el polvo de fibroína de seda muy fino resultante se aplica sobre un sustrato para proporcionar una piel sintética.
- 20 JP6339924 para producir un polvo ultrafino de fibroína de seda se proporciona un proceso de molienda de fibroína de seda por medio de un medio mecánico de pulido en seco para obtener un polvo rugoso (aproximadamente 100  $\mu\text{m}$ ), un proceso de molienda del polvo de fibroína de seda rugoso por medio de un medio de molienda mecánico, como por ejemplo un molino de bolas para obtener un polvo muy fino (aproximadamente 20  $\mu\text{m}$ ) y un proceso de molienda del fino polvo de fibroína de seda con un molino seco provisto de medios mecánicos para obtener un polvo ultrafino (aproximadamente 10  $\mu\text{m}$ ). En el proceso de molienda, el tratamiento de transformación aplica metanol.
- 25 El documento JP131530 describe cómo obtener un polvo de fibroína de seda que se puede insolubilizar en un biomaterial moldeado en gel. Proporciona la adición de un alcohol al sistema antes o después del tratamiento en la ejecución del secado por congelación de una solución de fibroína de seda. Se prepara una solución de fibroína de seda y se le añade un alcohol antes o después de la liofilización.
- 30 El documento JP58046097 trata de un método para obtener fibroína en polvo de seda con forma de filamento útil como base de cosméticos y aditivos farmacéuticos. La fibroína de seda en polvo se prepara empapando el hilo de seda (por ejemplo, capullo, desperdicio, seda cruda, desperdicio de seda cruda, hilo de seda, telas de seda, etc.) en un autoclave, a continuación se calientan los hilos en el autoclave bajo presión, que procede al secado y la pulverización de los hilos tratados. Como método alternativo, el hilo de seda tratado térmicamente con el procedimiento mencionado anteriormente se trata adicionalmente en un autoclave de alta presión con vapor saturado o vapor sobrecalentado, y se libera instantáneamente de un entorno de baja presión para obtener un hilo de seda expandido, que se seca y se pulveriza obteniendo polvo de fibroína de seda.
- 35 En US4233212 un proceso para la producción de un polvo fino de fibroína de seda de alta pureza en material no fibroso conformado como partículas requiere la disolución del compuesto de seda desgomado con la adición de al menos un disolvente seleccionado del grupo que consiste en una solución acuosa de cuprietilendiamina, una solución acuosa de hidróxido de cobre amoniacal, una solución acuosa alcalina de hidróxido de cobre y glicerol, una solución acuosa de bromuro de litio, una solución acuosa de cloruro de nitrato o tiocianato de calcio, magnesio y zinc, y una solución acuosa de tiocianato de sodio. A continuación, se agrega una cierta cantidad de sal coagulante a la solución de fibroína de seda con una concentración de fibroína de seda del 3 al 20% en peso, haciendo que la fibroína de seda se coagule y, al coagularse, se precipita, proporcionando la deshidratación y el secado del gel así formado.
- 40 Estas y otras soluciones que aún no se han descrito ofrecen una gama muy amplia de métodos de procesamiento de seda para obtener fibroína en polvo a partir de la seda y, en principio, seguramente son valiosas. Por lo tanto, es razonable considerar como conocidos:
- 45
- 50 - La recuperación de los residuos de seda, ya desgomados, con el fin de realizar un procesamiento para obtener polvo fino de fibroína de seda.
  - El procesamiento de residuos de seda para obtener polvo de fibroína de seda, que comprende al menos una o más etapas en las que se realiza una fase de molienda en seco por medios mecánicos;
  - Siempre un ciclo de procesamiento, si es necesario con la ayuda de funciones de calentamiento, en el cual a la fase de molienda se agrega una fase, que requiere una solución de líquidos, a continuación, dicho compuesto se filtra y luego se seca o deshidrata;
  - 55 - La solución de líquidos utilizada también junto con la fase de pulverización o la de molienda puede comprender compuestos basados en alcohol, cloruros, álcalis o ácidos;

- El polvo de fibroína de seda se utiliza como preparación para cosméticos, alimentos, medicamentos y un material para uso sanitario también en forma de gel.

Una búsqueda posterior ha identificado los documentos siguientes:

5 EP011161A (Kanebo) que describe un método para producir polvo de fibroína de seda que comprende las fases de tratar residuo de seda hilada desgomada con solución alcalina a 80 °C. A continuación, esta solución es lavada y des-salada. La solución se mezcla con alcohol etílico para formar un gel que se introduce en una bolsa y se centrifuga, se seca y se pulveriza.

EP1116743A (Nat Inst. of sericultural JP), esencialmente algunas de las características que se han mostrado más arriba.

## 10 Inconvenientes

15 Según el solicitante, las soluciones descritas anteriormente aún pueden considerarse insuficientes, ya que, en relación con los objetivos predefinidos, supuestamente no pueden ofrecer en primer lugar algunas cantidades considerables de polvo de fibroína de un tamaño mayor de una micra para permitir el inicio de forma razonable de un proceso industrial. En otras palabras, los sistemas utilizados hasta hoy parecen ser bastante empíricos, todavía en la etapa embrionaria, e insuficientes, siendo sustancialmente procesos químicos, desde el punto de vista de la protección y la atención a la salud del público de referencia. Esto con referencia particular a los procesos, tal como ocurre en la mayoría de los casos, que utilizan soluciones de líquidos a base de alcohol, cloruros, álcalis o ácidos para facilitar la disolución de la fibroína en micropartículas. En particular, en los procedimientos conocidos, la fibroína así obtenida es de tamaños submicrométricos, y como consecuencia es soluble en agua. En la literatura, debido a los tamaños, se puede considerar como un producto con un alto riesgo mutagénico si se utiliza en el campo farmacológico.

20 Otro inconveniente está relacionado con el hecho de que el polvo de fibroína por si solo no es en absoluto suficiente para inhibir la proliferación bacteriana cuando se utiliza con fines farmacológicos. En particular, después de los controles de laboratorio, de acuerdo con algunos estudios, se ha descubierto que no es particularmente eficaz en la reducción de la proliferación bacteriana. Por ejemplo, se ha realizado una prueba de laboratorio que incluye las siguientes condiciones:

- microorganismo *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
- Inóculo: suspensión bacteriana,  $1 \times 10^5$  UFC / mL diluido en caldo nutritivo y solución salina en una proporción de 1/12. Se ponen en contacto 0.5 ml de la suspensión con 200 mg de polvo para obtener una mezcla homogénea.
- 30 • Al final del tiempo de contacto, las suspensiones obtenidas se extrajeron con 50 ml de agente neutralizante y a continuación se filtraron para retirar la muestra.
- Tiempo de contacto: 1 y 8 horas a 37 °C.
- Agente neutralizante: 30 g / l de azolecítina, 30 g / l de Tween 80, 5 g / l de tiosulfato de sodio, 1 g / l de L-histidina, 0,68 g / l de KH<sub>2</sub>P04 (pH a  $7.2 \pm 0.2$ )
- 35 • Esterilización de la muestra: no

En este caso, se puede observar que cuando solo se utiliza fibroína en polvo, con el objetivo de reducir la proliferación bacteriana, el porcentaje de reducción es igual a 0, tanto en el caso de un Tiempo de contacto de 1 hora como en un Tiempo de contacto de 8 horas.

40 Una vez considerado todo ello, es evidente que es necesario encontrar algunas soluciones alternativas con referencia al método de producción y más efectivas en relación con las características del producto semiacabado obtenido con respecto a los disponibles hasta ahora o, de todos modos, que se desprenden de las soluciones descritas anteriormente.

45 Por lo tanto, el objetivo de la presente invención es ofrecer en el mercado un método de producción de polvo de fibroína de tal manera que proporcione un componente particularmente adecuado para el sector de los productos para su utilización como producto médico, farmacológico, cosmético, cosmocéutico y biomaterial

Resumen de la invención

50 Este y otros objetivos se logran por medio de la presente invención de acuerdo con las características de las reivindicaciones adjuntas, que resuelven los problemas mencionados anteriormente, mediante un método para producir un polvo de fibroína a partir de productos de seda o filamentos sin sericina y colorantes, y que comprende al menos las siguientes fases:

- 5 a) introducción de productos o filamentos en al menos una bolsa de tejido muy apretado con una alta capacidad de filtración para permitir que entre el líquido de tratamiento proporcionado en la fase b) pero no permita que salgan las fibrillas de seda; dicha bolsa está bordeada de tal manera que se sella a lo largo del perímetro en correspondencia con las costuras;
- b) introducción de al menos dicha bolsa muy tejida de forma muy apretada en un depósito, con agua fresca y caliente con una batidora, en la que se agrega un poco de soda a dicha agua durante un tiempo de algunas horas;
- c) ejecución de una fase de enjuague de la cual la última se hace con ácido acético de manera tal que la fibra sea aceptable para el cutis tal como estaba originalmente;
- 10 d) fase de centrifugación y secado del vaso;
- e) Fase de volteo, en primer lugar, abrir las bolsas para tirar el material secado en los tambores pulverizando la fibra y triturando con una fragmentación homogénea de tal manera que mantenga las fibrillas completas.

Con el polvo de fibroína obtenido, también se puede obtener una tela no tejida, por ejemplo, mediante electrohilado.

## 15 Ventajas

De esta manera, por la considerable contribución creativa cuyo efecto constituye un progreso técnico inmediato, se logran algunos objetivos. En primer lugar, el método de producción descrito permite obtener una cantidad considerable de polvo de fibroína, posteriormente utilizable para otros procesos y aplicaciones.

- 20 El producto de seda y el filamento, a partir de los cuales se inicia el método descrito, pueden tratarse con o sin antimicrobianos del tipo Aegis. Si no contiene antimicrobianos, este polvo en diferentes formas se puede aplicar para acelerar la vida, la proliferación bacteriana, hasta aproximadamente 50 veces / hora con respecto a un tampón normal. Por el contrario, con el antimicrobiano el resultado de la reducción bacteriana calculada en las 8 h es de aproximadamente el 99% a partir de la prueba adjunta.

Muestra	Staphylococcus aureus ATCC 6538		
	Inóculo UFC / ml T <sub>0</sub>	Inóculo UFG / ml 1 h	% de reducción 1 h
Pelusa de celulosa de referencia	1.0 x 10 <sup>5</sup>	1.0 x 10 <sup>5</sup>	
Polvo de fibroína	1.0 x 10 <sup>5</sup>	5.6 x 10 <sup>6</sup> 5.6 x 10 <sup>6</sup>	0 0
Polvo Dermasilk	1.0 x 10 <sup>5</sup>	9.0 x 10 <sup>3</sup> 8.4 x 10 <sup>3</sup>	91.0 91.6

Muestra	Staphylococcus aureus ATCC 6538		
	Inóculo UFC / ml T <sub>0</sub>	Inóculo UFG / ml 8 h	% de reducción 8 h
Pelusa de celulosa de referencia	1.0 x 10 <sup>5</sup>	7.1 x 10 <sup>6</sup>	
Polvo de fibroína	1.0 x 10 <sup>5</sup>	11.5 x 10 <sup>6</sup> 12.3 x 10 <sup>6</sup>	0 0
Polvo Dermasilk	1.0 x 10 <sup>5</sup>	1.5 x 10 <sup>3</sup> 7.5 x 10 <sup>2</sup>	98.5 99.3

- 25 En el caso de que se utilicen productos o filamentos del tipo tratado con productos antimicrobianos, el polvo de fibroína de seda obtenido de esta forma presenta ventajas particulares. Más detalladamente, además de constituir una excelente barrera contra las irritaciones de la piel y la rozadura dado que protege activamente la capa córnea dañada y controla el desarrollo de bacterias (en particular de staphylococcus aureus), reduciendo sustancialmente la posibilidad de infecciones. En su conjunto, por lo tanto, es posible afirmar que este material es particularmente adecuado para el tratamiento y la prevención de diversos trastornos y afecciones de la piel y la mucosa, entre los que se incluyen dermatizaciones, inflamaciones e infecciones, llagas, úlceras, heridas, etc., ayudando a la
- 30

regeneración de cutis y mucosas, en algunos casos se proporciona el uso también como un tratamiento tópico de la piel, pero también, por ejemplo, se agrega sobre un sustrato en yeso no tejido o solo (por ejemplo, por electrohilado) o incluso en la forma de una cápsula de liberación lenta, obviamente teniendo en cuenta la cadena de aminoácidos.

5 Con respecto a las soluciones preexistentes, es importante el hecho de que en los casos en que se utilizan procesos de extracción enzimáticos, que son la mayoría de los casos, se logra romper la cadena de proteínas, mientras que en la solución propuesta por el solicitante con el objeto de la presente invención, se puede obtener un producto que mantiene la cadena de proteínas entera en forma de fibrilla. Además, es necesario señalar la función de filtrado de la bolsa particular utilizada en el método de producción descrito, que en este caso tiene una capacidad de filtrado de los poros de aproximadamente 5,9  $\mu\text{m}$  tal como se utiliza en las fases (a) y (b) descritas del método de procesamiento del solicitante. Con mayor detalle, las técnicas conocidas no parecen ser eficaces, debido al hecho de que el polvo de fibroína, al ser soluble en agua, se dispersa sustancialmente durante la fase de filtración convencional, que precede a la recolección, mientras que en la solución sugerida por el solicitante, gracias a la bolsa de filtración particular, la pérdida del material se limita en una medida entre el 10% y el 20%, para ser extraída de la bolsa solo en una condición de fibra debilitada.

10 Estas y otras ventajas resultarán aparentes en la siguiente descripción detallada de al menos una solución preferente con la ayuda de los dibujos esquemáticos adjuntos, cuyos detalles no deben considerarse limitativos, sino solo ilustrativos.

Breve descripción de los dibujos

20 La Figura 1 es un diagrama de flujo del método para producir fibroína en polvo a partir de productos o filamentos de seda.

Descripción práctica de una forma de realización.

25 La presente invención se refiere a un método para producir fibroína en polvo utilizando productos o filamentos de seda. El polvo de fibroína, tal como ya se ha observado anteriormente, sobre todo si es del tipo obtenido a partir de productos o filamentos de seda tratados con agentes antimicrobianos, es particularmente adecuado en el tratamiento de afecciones principalmente de la piel y la mucosa del cuerpo humano, y como apoyo en la regeneración de los tejidos. Las fases que van a continuación para la ejecución del proceso mencionado requieren, al principio, la disponibilidad de productos o filamentos de seda.

30 En este caso, cuando los productos o filamentos de seda son el resultado de un procesamiento previo de productos de seda en un caso, es preferible que los mismos productos se hayan hecho con una cierta cantidad de seda que haya sido tratada con algún agente antimicrobiano basado en amonio cuaternario o equivalente. En otras palabras, se supone que la seda con la que se obtienen dichos productos se ha desgomado con anterioridad.

35 En este caso, en que se proporciona el tratamiento del tejido de seda con agente antimicrobiano, se prepara un baño líquido, con una temperatura de aproximadamente 25 °C, dentro del cual se ha agregado el agente antimicrobiano. Dicha solución consiste en un agente antimicrobiano, por ejemplo, basado en amonio cuaternario, y con más detalle del tipo identificado en el producto AEGIS Dow Corning 5700 (3-trimetoxisililpropildimetiloctadecil amonio cloruro) comercializado por AEGIS Environmental Management, Inc. en un porcentaje de agua con la adición de SILANE (de la familia de los suavizantes de silicona) como aglutinante. El porcentaje de participación en la solución del agente antimicrobiano / EGIS está en proporciones incluidas entre aproximadamente 5% y 15% para 1 kilogramo de tejido o artículo seco a tratar. Por lo tanto, generalmente se necesitan 30/35 kg de solución por cada 1 kg de tejido a tratar. Aproximadamente, la tela de seda, una vez empapada, se mantiene en movimiento, y el ambiente líquido en el que se empapa con pH 5, se lleva a una temperatura de 30 °C hasta alcanzar 50 °C con pH 8, durante un período total de alrededor de 45' / 60'.

40 Una vez que dicho tejido de seda se ha tratado con dicho agente que tiene una función antimicrobiana, se procede a un ciclo de centrifugación del tejido o artículo tratado de este modo. A partir del siguiente procesamiento del tejido o artículo así tratado, quedan algunos productos o filamentos de tejido (T), que se tratan con el agente antimicrobiano descrito anteriormente.

45 El método de la presente invención requiere la disponibilidad de productos o filamentos de tejido de seda (T) sin sericina ni colorantes, de manera tal que se pueda organizar un ciclo de procesamiento que requiere al menos las siguientes fases:

50 a) introducción de los productos o filamentos de tela de seda, por ejemplo, en piezas cuadradas de aproximadamente 20 cm de lado, en al menos una bolsa (S) de tejido muy apretado del tamaño de aproximadamente 50 cm x 80 cm, por ejemplo del tipo en poliéster (u otro material sintético, como la poliamida) producido por la empresa PFG Inc. EE. UU., llamada Pristine, cuya tela tiene una capacidad de porosidad del aire en el aire comprendida en un intervalo entre 20 - 33 L / dm<sup>2</sup> / min., cuyos poros tienen un tamaño de aproximadamente 5 - 6 pm, como por ejemplo en la prueba siguiente:

## ES 2 718 653 T3

	Porosidad del aire		ASTM-D-735
	@ 125 Pa	6.6 cfm / ft <sup>2</sup>	20.13 L / dm <sup>2</sup> / min
	@ 200 Pa	10.5 cfm / ft <sup>2</sup>	32.02 L / dm <sup>2</sup> / min
	Tamaño medio del poro	5.9 micras	5.9 micras
			ASTM-E-1294

5

en que dicha bolsa que contiene los residuos y restos de seda es del tipo con reborde, con respecto a las puntadas selladas (S1), por ejemplo, con el mismo material que la bolsa, de manera tal que se obtenga un envoltorio blando, y una vez llena y cerrada con un reborde (S1) en correspondencia con el cierre, se introduce en un depósito, por ejemplo, del tipo de batidor, con un mezclador;

10

b) el líquido de tratamiento ha sido introducido previamente en dicho depósito, preferiblemente agua fresca con tinte, se lleva a la temperatura en el depósito de aproximadamente 96 - 97 °C y a la cual se agrega soda en polvo en la medida preferente de 4 g / L. El tiempo de permanencia en el tanque de dichas bolsas (S) está comprendido en un intervalo entre 6 h – 10 h; De esta manera, al combinar la temperatura, el pH y el tiempo de permanencia, la seda de los productos o filamentos se debilita de tal manera que las fibrillas se desprenden quedan enteras y no solubles;

15

c) se lleva a cabo un ciclo para enjuagar las bolsas (S), que comprende preferiblemente 6 / 7 fases, en agua fría o tibia, cuyas primeras 5 fases son, por ejemplo, con agua pura y la última, por ejemplo, dos fases con ácido acético con el fin de llevar el pH de la seda de un valor de aproximadamente 10.5 a un pH de 5.5 ÷ 6;

20

d) las bolsas (S), que contienen los tejidos debilitados de los productos o filamentos de seda así tratados, se someten primero a una fase de centrifugación y a continuación a una máquina de secado relajado del tipo Tumbler, también a 80 °C durante aproximadamente 2 / 3 h;

25

e) una vez realizado el secado, se procede a la apertura de cada bolsa (S), arrojando el material a las máquinas adecuadas para realizar el volteo, por ejemplo, un triturador de bolas, para pulverizarlo o molerlo, hasta obtener un polvo de fibroína de seda durante aproximadamente 2 / 3 horas de manera que tenga una fragmentación homogénea fina, hasta aproximadamente 10 / 30 µm manteniendo las fibrillas completas. Con el polvo de fibroína obtenido de esta manera, también es posible obtener una tela no tejida, por ejemplo, mediante un proceso de electrohilado, o ser utilizada, además de soportes, de naturaleza variada, adecuados para la industria farmacéutica, cosmética o cosmocéutica. Además, se observa que, en el caso del polvo de fibroína obtenido de este modo tratado con un agente antimicrobiano, las pruebas de laboratorio han identificado la función inhibitoria particular de los patógenos en el desarrollo y en el tratamiento de la infección por Candida. El resultado se obtuvo preparando una solución con una proporción de aproximadamente 1 mcg (polvo de fibroína tratado con agente antimicrobiano) / 1 L de producto. En la misma cantidad, es particularmente adecuado para desinfectar suelos y superficies en general, así como también como un componente adicional a los detergentes convencionales para lavadoras para desinfectar ropa durante el lavado. En una forma de realización preferente adicional, el proceso desarrollado previamente descrito como en fases (a - e), puede considerar el tratamiento de productos de seda o filamentos también no tratados con soluciones antimicrobianas, como ya se ha descrito, y en consecuencia, proporcionar en primer lugar la obtención del polvo de fibroína sin agentes antimicrobianos, y a continuación realizar una fase de aplicación de dicho agente antimicrobiano a base de amonio cuaternario, mediante baño, aspersion, nebulización u otras técnicas. De acuerdo con otra forma de realización preferente, los procesos desarrollados en las fases (a - e) descritas anteriormente pueden considerar el tratamiento de productos o hilos de lana, en lugar de seda, ambos del tipo tratado preliminarmente con agentes antimicrobianos y sin ellos, en este último caso dicho agente antimicrobiano es aplicado una vez obtenido dicho polvo.

30

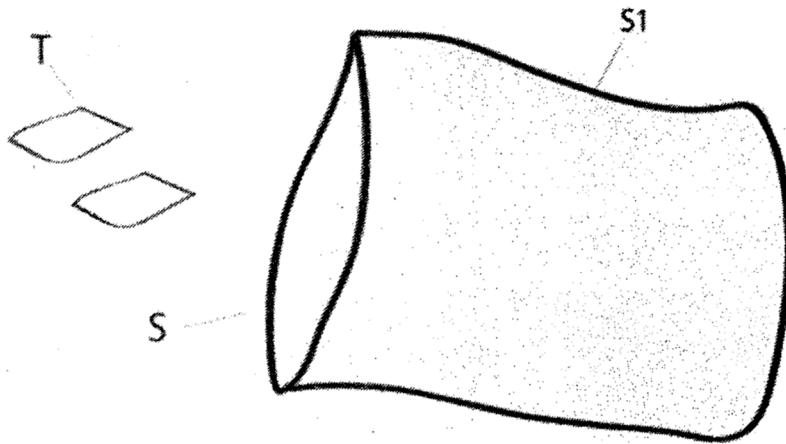
35

40



**REIVINDICACIONES**

1. Un método para producir polvo de fibroína de seda a partir de productos o filamentos de seda sin sericina y colorantes, **caracterizado porque** un ciclo de procesamiento comprende al menos las siguientes fases:
- 5 a) Introducción de dichos productos o filamentos de seda (T) en al menos un tejido muy apretado bolsa (S), del tipo con reborde sellado a lo largo de las puntadas (S1) cuyos poros tienen un tamaño de aproximadamente 5 - 10  $\mu\text{m}$ , que a continuación es cerrado con reborde en el cierre para seguidamente ser introducido en un depósito, con un mezclador;
- 10 b) el líquido de tratamiento se ha introducido previamente en el depósito, preferiblemente agua fresca con tinte, que se ha llevado a la temperatura de aproximadamente 96 - 97 °C en el depósito y a la cual se agrega polvo sódico en una medida preferente de 4 g / L; El tiempo de permanencia en el depósito de dichas bolsas es de aproximadamente 6 h – 10 h; de este modo, al combinar la temperatura, el pH y el tiempo de permanencia, la seda de los productos o filamentos se debilita de tal manera que las fibrillas se desprenden enteras y no solubles;
- 15 c) se lleva a cabo un ciclo de enjuague, que comprende algunas fases en agua fría o tibia, y al menos una última fase con una cierta cantidad de ácido acético para llevar el pH de la seda de un valor de aproximadamente 10.5 a un pH de 5.5 ÷ 6;
- d) las bolsas (S) que contienen los productos o los filamentos de seda debilitados se someten primero a una fase de centrifugación y a continuación en una máquina de secado relajado;
- 20 e) dichas bolsas (S) se abren y el material es arrojado a los tambores, adecuados para llevar a cabo la pulverización, de manera que se obtenga una fragmentación homogénea y se mantengan las fibrillas completas, en que dicho polvo de fibroína está comprendido en un intervalo de 10 / 30  $\mu\text{m}$ .
2. Procedimiento para obtener un producto de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado porque** la bolsa (S) es de poliéster, cuya tela tiene una capacidad de porosidad del aire comprendida en un intervalo entre 20 - 33 L / dm<sup>2</sup> / min.
- 25 3. Procedimiento para obtener un producto de acuerdo con las reivindicaciones 1 y 2, **caracterizado porque** los productos o filamentos de seda (T) se tratan con un agente antimicrobiano a base de amonio cuaternario.
- 30



a) introducción de los productos o filamentos de tela de seda en al menos una bolsa de tejido muy apretado con una alta capacidad de filtrado de manera que permita que entre el líquido de tratamiento proporcionado en la fase b) pero que no permita que la fibra de seda salga; en que dicha bolsa tiene un reborde de tal manera que queda sellado a lo largo del perímetro en correspondencia con las costuras;

b) introducción de al menos dicha bolsa de tejido muy apretado en un depósito de agua fresca y agua caliente con un mezclador, en que se añade una cierta cantidad de soda a dicha agua durante un período de algunas horas;

c) ejecución de una fase de aclarado de la cual el último se realiza con ácido acético de tal manera que haga que la fibra resulte aceptable para el cutis, tal como en el origen;

d) fase de centrifugado y de secadora;

e) fase de volteo, primero abrir las bolsas para que caiga el material secado en la secadora pulverizando la fibra y moliéndolo con una fragmentación homogénea de tal manera que conserve el conjunto de las fibrillas

Fig. 1