

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 755 902**

51 Int. Cl.:

A61K 38/39	(2006.01)
A61L 27/22	(2006.01)
C07K 14/78	(2006.01)
A61K 47/36	(2006.01)
C07K 14/435	(2006.01)
A61K 9/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.03.2010 PCT/AU2010/000275**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **16.09.2010 WO10102337**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.03.2010 E 10750240 (3)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2019 EP 2405936**

54 Título: **Biomateriales inyectables**

30 Prioridad:

10.03.2009 AU 2009901028

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

24.04.2020

73 Titular/es:

**ALLERGAN PHARMACEUTICALS
INTERNATIONAL LIMITED (100.0%)
Clonshaugh Business & Technology Park
Dublin 17, D17 E400, IE**

72 Inventor/es:

**WEISS, ANTHONY STEVEN y
MITHIEUX, SUZANNE, MARIE**

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 755 902 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

Biomateriales inyectables

5 **Campo de la invención**

[0001] La presente invención se refiere a la tropoelastina y a la reparación y la restauración de tejidos usando biomateriales.

10 **Antecedentes de la invención**

15 [0002] La elastina es una proteína de matriz extracelular que se encuentra principalmente en la piel, los vasos sanguíneos, el pulmón y otros tejidos y órganos que requieren un grado de elasticidad para funcionar. Tradicionalmente, se forma cuando los residuos de lisina en las moléculas de tropoelastina se vuelven reticulados con residuos de lisina en otras moléculas de tropoelastina para formar una masa que es más o menos insoluble en una solución acuosa.

20 [0003] Se espera que la elastina, la tropoelastina y las proteínas relacionadas sean útiles en aplicaciones médicas que incluyen la reparación y la restauración de tejidos y existe una necesidad particular de composiciones con un alto contenido de sólidos de tales proteínas que se puedan administrar al tejido mediante inyección. Mientras que se mencionan micropartículas formadas a partir de biomateriales en las patentes WO99/11196 y WO2008/058323, no se conocen composiciones con una estructura menos particulada con un alto contenido de sólidos de tales proteínas y propiedades de flujo suficientes para permitir la administración al tejido mediante inyección. Un problema ha sido que, con un alto contenido de sólidos, la tropoelastina forma una masa que no se puede administrar a través de agujas de gauges variables que se usan en aplicaciones clínicas y cosméticas.

25 [0004] Sigue existiendo una necesidad de composiciones con un alto contenido de sólidos de tropoelastina u otro material elástico y propiedades de flujo que permitan que la composición se administre a un tejido mediante inyección.

30 [0005] La referencia a cualquier técnica anterior en la especificación no es, y no debería tomarse como, un reconocimiento o cualquier forma de sugerencia de que dicha técnica anterior forme parte del conocimiento general común en Australia o cualquier otra jurisdicción o que podría preverse razonablemente que dicha técnica anterior sea constatada, entendida y considerada como pertinente por un experto en la técnica.

35 [0006] La patente WO2004/091592 divulga métodos, dispositivos, kits y composiciones para tratar un infarto de miocardio. El método puede incluir la introducción de un agente de refuerzo estructuralmente, este agente puede ser tropoelastina no reticulada.

40 [0007] La patente US8038991 divulga sistemas de bioandamiaje de componente único formados por un hidrogel tal como como ácido hialurónico o sal derivada. El ácido hialurónico o sal derivada puede disolverse en un tampón, plasma o combinación de los mismos para minimizar respuestas inmunógenas adversas cuando se aplique a un lugar de tratamiento. Adicionalmente, el componente de hidrogel incluye células madre para facilitar la angiogénesis o facilitar la reparación de tejido y/o la regeneración de tejido isquémico, particularmente en el tejido cardíaco comprometido. La combinación de promover la retención y la migración de fibroblastos en la región de infarto se puede conseguir con la adición de tropoelastina no reticulada.

45 [0008] La patente US2005/244393 divulga un sellante o un producto generador de tejido que comprende una matriz de plasma (coagulada), uno o más factores de crecimiento, al menos un fosfolípido y un andamio de proteína para la generación de dicho tejido.

Resumen

50 [0009] En algunas formas de realización determinadas se proporciona una composición inyectable formada a partir de tropoelastina, donde la composición incluye una sustancia que contiene tropoelastina, donde la sustancia incluye además un agente en una cantidad eficaz para proporcionar a la sustancia propiedades de flujo que permitan la inyección de la composición. La sustancia que contiene tropoelastina puede ser particulada o no particulada. En algunas formas de realización se proporciona una composición inyectable para corregir un defecto de tejido, donde la composición incluye una fase líquida con una pluralidad de micropartículas formadas a partir de la tropoelastina, donde en la fase líquida hay un agente de control de la coalescencia disuelto en una cantidad eficaz para reducir la coalescencia de las micropartículas.

55 [0010] En algunas formas de realización se proporciona un procedimiento para producir micropartículas formadas a partir de tropoelastina con la etapa de coacervar o polimerizar la tropoelastina en una fase líquida en la que hay disuelto un agente de control de la coalescencia.

[0011] Tal y como se utiliza en este caso, excepto donde el contexto lo requiera de otra forma, el término "comprender" y variaciones del término tales como "que comprende", "comprende" y "comprendido", no se destinan a excluir aditivos, componentes, números enteros o etapas adicionales.

5 Breve descripción de los dibujos

[0012]

10 Figura 1A: imagen de SEM de micropartículas formadas a partir de tropoelastina con un diámetro estimado de 1 μm , preparadas tratando una solución de 2 mg/mL de tropoelastina con álcali [ejemplo 1] seguido de incubación a 37 °C durante 4 h.

15 Figura 1B: una imagen de la masa de material elástico producida cuando una solución de 10 mg/ml de tropoelastina se trata con álcali seguido de incubación a 37 °C en ausencia de un agente de control de la coalescencia tal y como se describe en el ejemplo 2. El material producido es una masa elástica densa que no es apta para inyectar.

20 Figura 2: imagen de SEM de glóbulos formados a partir de tropoelastina preparados tratando una solución de 50 mg/mL de tropoelastina con un 0,05 % (v/v) de glutaraldehído en presencia de un 1 % (p/v) de CMC seguido de incubación a 37 °C durante 24 h.

25 Figura 3: imagen de SEM de glóbulos coalescidos formados a partir de tropoelastina preparados tratando una solución de 50 mg/ml de tropoelastina con un 0,05 % (v/v) de glutaraldehído en presencia de un 1 % (p/v) de HA de viscosidad media seguido de incubación a 37 °C durante 16 horas.

30 Figura 4A: imagen de SEM de material hecho de glóbulos coalescidos formados a partir de tropoelastina con un rango de diámetros aparentes de aproximadamente 1 a 4 μm , preparados tratando una solución de 10 mg/mL de tropoelastina con base en presencia de un 1 % (p/v) de HA, seguido de incubación a 37 °C durante toda la noche.

35 Figura 4B: imagen de SEM de material hecho de glóbulos coalescidos formados a partir de tropoelastina con un rango de diámetros aparentes de aproximadamente 1 a 4 μm , preparados tratando una solución de 25 mg/mL de tropoelastina con base en presencia de un 1 % (p/v) de HA, seguido de incubación a 37 °C durante toda la noche.

40 Figura 4C: imagen de SEM de material hecho de glóbulos coalescidos formados a partir de tropoelastina con un rango de diámetros aparentes de aproximadamente 1-10 μm , preparados tratando un 50 mg/mL de solución de tropoelastina con base en presencia de un 1% (p/v) de HA, seguido de incubación a 37 °C durante toda la noche.

45 Figura 4D: imagen de SEM de material hecho de glóbulos coalescidos formados a partir de tropoelastina con un rango de diámetros aparentes de aproximadamente 0,5-20 μm , preparados tratando una solución de 75 mg/mL de tropoelastina con base en presencia de un 1 % (p/v) de HA, seguido de incubación a 37 °C durante toda la noche.

50 Figura 5: distribución de tamaño de los glóbulos (diámetro globular (μm) vs. porcentaje de glóbulos contados) preparados tratando (\circ) 10 mg/mL de tropoelastina; (\bullet) 25 mg/mL de tropoelastina; (\square) 50 mg/mL de tropoelastina; y (\blacksquare) 75 mg/mL de tropoelastina con álcali en presencia de un 1 % (p/v) de HA, seguido de incubación a 37 °C durante toda la noche. Los datos se obtienen de imágenes de SEM en las figuras 4A-4D.

55 Figura 6A y 6B: imagen de SEM de material hecho de glóbulos coalescidos formados a partir de tropoelastina de tamaños variables preparados tratando una solución de 100 mg/mL de tropoelastina con un 0,05 % (v/v) de GA en presencia de un 1 % (p/v) de CMC, seguido de agitación a 37 °C durante 4 h.

60 Figura 7A y 7B: imágenes de SEM de material hecho de glóbulos coalescidos formados a partir de tropoelastina preparada tratando una solución de 100 mg/mL de tropoelastina con álcali en presencia de un 1 % (p/v) de CMC seguido de incubación con agitación a 37 °C durante 4 h.

65 Figura 7C y 7D: imágenes de SEM de material hecho de glóbulos coalescidos formados a partir de tropoelastina, preparados tratando una solución de 100 mg/mL de tropoelastina con álcali en presencia de un 1 % (p/v) de CMC seguido de incubación con agitación a 37 °C durante 4 h, refrigeración a 4 °C durante 16 h y, a continuación, neutralización de la solución con HCl de 1 M.

Figura 8A y 8B: imagen de SEM de material hecho tratando una solución de tropoelastina de 100 mg/mL con un 0,05 % (v/v) de GA en presencia de un 1,5 % (p/v) de goma xantana, seguido de agitación a 37 °C durante 4 h.

Figura 9A y 9B: fotografía e imagen de SEM de material hecho tratando una solución de tropoelastina de 100 mg/mL con un 0,05 % (v/v) de GA en presencia del 2 % (p/v) de HPC seguido de agitación a 37 °C durante 4 h.

5

Descripción detallada de las formas de realización

[0013] Los inventores han descubierto que, cuando la tropoelastina se coacerva y reticula para formar elastina, y/o se somete a polimerización de álcali para formar un material elástico (como en la patente WO 2008/058323) con un alto contenido de sólidos de tropoelastina, se forma una masa que no se puede pasar a través de una aguja quirúrgica. Los inventores han descubierto que la masa no inyectable se forma porque, en un alto contenido de sólidos, los monómeros de tropoelastina se agregan o son objeto de coalescencia en micropartículas o glóbulos que, adicionalmente, se agregan o son objeto de coalescencia para formar una masa no inyectable. Los inventores han descubierto adicionalmente que la formación de la masa no inyectable en alto contenido de sólidos de tropoelastina pueden reducirse, si no evitarse, coacervando o polimerizando tropoelastina en presencia de un agente de control de la coalescencia, dando como resultado la formación de una composición con alto contenido de sólidos y propiedades de flujo requeridas en una composición inyectable. Además, se ha descubierto que ajustando las cantidades relativas de tropoelastina y agente de control de la coalescencia es posible controlar el grado de agregación de glóbulos, produciendo, por lo tanto, una sustancia que contiene tropoelastina en forma de glóbulos agregados de tamaño o estructura predeterminados con las propiedades de flujo deseadas para aplicaciones inyectables. También es posible producir una sustancia que contiene tropoelastina en forma de una masa que también es inyectable pero está sustancialmente desprovista de estructura microparticulada o globular. En este caso, el material inyectable se puede describir mejor como una masa deformable que como partículas o glóbulos discretos. Esto es notable porque, normalmente, las masas formadas a partir de tropoelastina reticulada o polimerizada con álcali no se pueden inyectar fácilmente. Estas formas de realización son particularmente ventajosas en circunstancias en las que una aplicación clínica o cosmética requiere un implante que se puede inyectar en el sitio de aplicación.

30

I DEFINICIONES

[0014] Se entenderá que "tropoelastina" se refiere a una proteína que contiene al menos parte de un dominio hidrófobo derivada de una molécula de proteína que puede ser reticulada, habitualmente en residuos de lisina por oxidada de lisilo, para formar elastina. Se conoce un número de isoformas de tropoelastina (véase, por ejemplo la patente WO 99/03886). Normalmente, no se puede encontrar tropoelastina en ninguna cantidad significativa en tejidos ya que tiende a reticularse para formar elastina más o menos inmediatamente después de la síntesis. La tropoelastina puede tener una secuencia que es la misma que la entrada mostrada en la entrada de GenBank AAC98394. En la técnica, se conocen otras secuencias de tropoelastina, que incluyen, pero no se limitan a, CAA33627 (*Homo sapiens*), P15502 (*Homo sapiens*), AAA42271 (*Rattus norvegicus*), AAA42272 (*Rattus norvegicus*), AAA42268 (*Rattus norvegicus*), AAA42269 (*Rattus norvegicus*), AAA80155 (*Mus musculus*), AAA49082 (*Gallus gallus*), P04985 (*Bos taurus*), ABF82224 (*Danio rerio*), ABF82222 (*Xenopus tropicalis*), P11547 (*Ovis aries*). La tropoelastina también puede ser un fragmento de estas secuencias. Un ejemplo son los aminoácidos 27 a 724 de AAC98394. Otro ejemplo de tropoelastina ha sido descrito por UniProtKB/Swiss Prot entrada P15502. El término tropoelastina también se destina a referirse a un péptido tipo elastina o "ELP". La tropoelastina puede ser natural o recombinante. Por ejemplo, la tropoelastina puede haberse obtenido a partir de un sistema de expresión recombinante, ejemplos del cual se han tratado en las patentes WO 00/04043 y WO 94/14958, cuyo contenido se describe en la presente en su integridad por referencia, y la patente WO 99/03886, o a partir de síntesis de péptidos tal como síntesis de péptidos en fase sólida.

50

[0015] Un "homólogo de tropoelastina" se refiere a una proteína con una secuencia que no es la misma que, pero que es similar a, una secuencia de referencia de tropoelastina. También tiene la misma función que la secuencia de referencia.

55

60

65

[0016] "Elastina" se refiere a una proteína de matriz extracelular que normalmente se encuentra en la piel, los vasos sanguíneos, el pulmón y otros tejidos y órganos que requieren elasticidad para formarse. Se forma cuando se reticulan de manera covalente residuos de lisina en moléculas de tropoelastina para formar una masa que es más o menos insoluble en una solución acuosa. La reticulación de moléculas de tropoelastina *in vivo* se produce tradicionalmente a través de una o más oxidasas de lisilo. La reticulación de moléculas de tropoelastina se puede mediar *in vitro* mediante agentes reticulantes químicos tales como glutaraldehído o diisocianato de hexametileno u otros agentes reticulantes capaces de reaccionar con proteínas. Algunos ejemplos de reticulantes aminorreactivos incluyen disuccinimidil glutarato (DSG); bis(sulfosuccinimidil) suberato (BS3), etilenglicol diglicidil éter (EGDE) bajo condiciones neutras (pH 7), tris-succinimidil aminotriacetato (TSAT), disuccinimidil suberato (DSS) y ácido β-[tris(hidroximetil)fosfino]propiónico (THPP). Algunos ejemplos de reticulantes reactivos al carboxilo incluyen clorhidrato de 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil]carbodiimida (EDC), y etilenglicol diglicidil éter (EGDE) bajo condiciones ácidas (pH < 4). Dado que la tropoelastina se puede proporcionar en una variedad de formas, la propia elastina puede estar compuesta de una variedad de estructuras, influyendo en las propiedades elásticas de la elastina. El grado de reticulación no necesita ser completo, donde todos los lugares reactivos potenciales en las

moléculas de tropoelastina han sido reticulados. En cambio, la tropoelastina puede ser solo parcialmente reticulada.

5 [0017] "Coacervación" y "coacervar" se refieren a un proceso mediante el cual la tropoelastina - que es generalmente soluble en una solución acuosa a temperaturas bajas - tiende a agregarse para formar una fase viscoelástica densa conforme la temperatura se eleva al rango fisiológico. El proceso se debe principalmente a interacciones entre los dominios hidrófobos de la tropoelastina. La coacervación se entiende generalmente como un precursor esencial de la reticulación covalente en la formación de elastina a partir de tropoelastina.

10 [0018] Un "material elástico" se refiere a un material formado a partir de la tropoelastina por un proceso de polimerización de álcali que implica los dominios hidrófilos de tropoelastina tal y como se describen en la patente WO 2008/058323, un proceso irreversible que forma un sólido que tiene propiedades elásticas en el sentido de que es extensible, maleable, elástico y capaz de retroceder. El material elástico puede estar solo parcialmente polimerizado; en algunas formas de realización, la reacción de polimerización no es completa. El material elástico posee propiedades elásticas ya esté reticulado o no; el proceso de polimerización de álcali para formar material elástico puede, por lo tanto, incluir opcionalmente también una etapa de reticulación química.

20 [0019] "Glóbulos formados a partir de tropoelastina" o "micropartículas formadas a partir de tropoelastina" se refieren a partículas que contienen o consisten en "elastina" o "material elástico" o ambos. Estas partículas tienden a coalescerse o agregarse adicionalmente en una masa no inyectable en ausencia de un agente de control de la coalescencia.

25 [0020] Una "composición inyectable sustancialmente desprovista de estructura particulada" es una composición formada a partir de tropoelastina, en la que los glóbulos formados a partir de tropoelastina han sido objeto de coalescencia o se han agregado hasta el punto de que la estructura globular o particulada de la composición ya no es evidente. A pesar de ello, la composición sigue siendo inyectable.

30 [0021] "Agente de control de la coalescencia" se refiere a un compuesto o extracto que reduce, inhibe o, de otro modo, controla la agregación, aglutinación o coalescencia de partículas o glóbulos formados a partir de la tropoelastina, para permitir que la composición de la invención se transmita, generalmente por presión positiva a través de una aguja o cánula que tiene un diámetro o gauge usado generalmente en aplicaciones clínicas o cosméticas. El agente de control de la coalescencia aumenta generalmente la viscosidad de la fase líquida en la que se produce la coacervación o polimerización de la tropoelastina para formar elastina o un material elástico. En algunas formas de realización, el agente de control de la coalescencia limita que los glóbulos formados a partir de tropoelastina sean objeto de coalescencia adicionalmente entre sí. En algunas formas de realización, el agente de control de la coalescencia evita o inhibe que un material que contiene tropoelastina que está sustancialmente desprovisto de estructura particulada forme un sólido no inyectable.

40 [0022] La frase "una cantidad efectiva para reducir la coalescencia" se refiere a una cantidad de agente de control de la coalescencia que sea suficiente para inhibir, ralentizar, retardar o evitar sustancialmente la coalescencia de glóbulos formados a partir de tropoelastina. No es necesario que se evite que todos los glóbulos se agreguen o sean objeto de coalescencia con otros glóbulos. En algunas formas de realización, es preferible que se pueda producir una coalescencia adicional de los glóbulos, siempre que esto no evite sustancialmente que la composición se inyecte. En particular, en algunas formas de realización, la cantidad eficaz para evitar la coalescencia proporciona una composición inyectable sustancialmente desprovista de estructura particulada o globular.

50 [0023] Una "composición inyectable" se refiere a una composición que tiene propiedades que le permiten fluir a través de una aguja o cánula. Típicamente, la aguja o cánula tendrá un diámetro o gauge usado generalmente en aplicaciones clínicas o cosméticas. En algunas formas de realización, la composición pasará sin una obstrucción significativa a través de una aguja o cánula con un diámetro interno de aproximadamente 1,194 mm, que corresponde a una aguja de gauge 16 (G). Más preferiblemente, la composición pasará fácilmente a través de una aguja de 21 G. Más preferiblemente todavía, la composición pasará fácilmente a través de una aguja de 27 G.

55 [0024] El término "defecto de tejido" se refiere a una anomalía, malformación o imperfección que culmina en una estructura y/o funcionamiento de tejido anormal. Un defecto de tejido puede proceder de, o ser generalmente asociado con, un problema congénito, un procedimiento quirúrgico, un traumatismo, una enfermedad u otra herida. De forma alternativa, un defecto de tejido puede estar asociado con el envejecimiento. Algunos ejemplos incluyen la pérdida de elasticidad del tejido, pérdida de volumen del tejido, arrugamiento y descolgamiento del tejido. "Defecto de tejido" también puede referirse a un tejido que se engloba dentro del rango anatómico y fisiológicamente normal de estructura y funcionamiento que un paciente considera inadecuado y desea aumentar.

60 [0025] "Corregir un defecto de tejido" se refiere a restaurar y/o aumentar al menos parcialmente la estructura de tejido y/o función, incluyendo soportar, mejorar, dar volumen o elasticidad o facilitar el crecimiento de tejido a un defecto de tejido.

65

[0026] El término "cantidad terapéuticamente eficaz" designa la cantidad de composición inyectable requerida para alterar o corregir el defecto de tejido. La cantidad eficaz puede variar dependiendo de la capacidad del paciente para absorber o descomponer los componentes de la composición inyectable, la naturaleza del problema que se está tratando, el lugar del tratamiento, la composición de la composición inyectable, la concentración y propiedades de los glóbulos formados a partir de tropoelastina o, de forma alternativa, la cantidad y naturaleza de la masa que contiene tropoelastina que carece sustancialmente de estructura particulada.

II COMPOSICIONES Y FORMULACIONES

[0027] En algunas formas de realización, se proporciona una composición inyectable para corregir un defecto de tejido, donde la composición incluye una fase líquida con una pluralidad de partículas o glóbulos formadas a partir de tropoelastina, donde en la fase líquida hay un agente de control de la coalescencia disuelto en una cantidad eficaz para reducir la coalescencia de los glóbulos.

[0028] Generalmente, el tamaño medio de los glóbulos formados a partir de tropoelastina variará de 0,1 micrómetros a 100 micrómetros. Los glóbulos pueden proporcionarse en forma de una esfera o microesfera. El rango de diámetro de la microesfera preferido es generalmente de aproximadamente 0,05 μm a 50 μm , preferiblemente de 0,1 μm a 25 μm . En algunas formas de realización, los glóbulos son sustancialmente objeto de coalescencia, lo que proporciona a la composición un aspecto no particulado.

[0029] La tropoelastina se incluye en la composición en una cantidad de aproximadamente 1,5 mg/mL a aproximadamente 400 mg/mL. Preferiblemente, la tropoelastina se incluye en una cantidad de aproximadamente 5 mg/mL a aproximadamente 300 mg/mL. Más preferiblemente, la tropoelastina se incluye en una cantidad de aproximadamente 10 mg/mL a aproximadamente 200 mg/mL.

[0030] Tal y como se menciona aquí, cada glóbulo se forma a partir de tropoelastina, lo que significa que el propio glóbulo puede incluir elastina, un material elástico o ambos. Por consiguiente los glóbulos pueden estar formados de tropoelastina reticulada de manera covalente o no reticulada o ambas opciones.

[0031] La composición inyectable poseerá generalmente un aspecto más particulado, donde la composición posee glóbulos discretos o, más típicamente, parcialmente agregados o coalescidos cuando la concentración de tropoelastina sea de aproximadamente 50 mg/mL y menos. Sin ánimo de limitarse por la teoría, se cree que un aspecto particulado procede de un nivel reducido de coalescencia o agregación de glóbulos en concentraciones inferiores de tropoelastina.

[0032] En otras formas de realización, se proporciona una composición inyectable para corregir un defecto de tejido, donde la composición incluye glóbulos agregados formados a partir de tropoelastina y un agente de control de la coalescencia en una cantidad eficaz para reducir la coalescencia de los glóbulos.

[0033] La composición inyectable poseerá típicamente un aspecto menos particulado cuando la concentración de tropoelastina sea de aproximadamente 50 mg/mL y más. Nuevamente, sin ánimo de limitarse por la teoría, se cree que aumentar la concentración de tropoelastina provoca una mayor coalescencia o agregación de los glóbulos, dando como resultado una composición inyectable con una estructura particulada o globular reducida.

[0034] Generalmente, la composición según la invención incluye un agente de control de la coalescencia, especialmente un agente para proporcionar la sustancia que contiene tropoelastina propiedades de flujo.

[0035] Los agentes de control de la coalescencia son generalmente biocompatibles, por ejemplo, pueden mostrar una baja toxicidad y no ser inmunógenos. Los agentes de control de la coalescencia pueden ser moléculas sintéticas, semisintéticas o de procedencia natural.

[0036] En una forma de realización, el agente de control de la coalescencia posee una carga negativa neta cuando está disuelto en la fase líquida. En otra forma de realización, el agente de control de la coalescencia incluye grupos funcionales que poseen una carga negativa neta cuando están disueltos en la fase líquida.

[0037] En una forma de realización, el agente de control de la coalescencia incluye grupos funcionales fuertemente ácidos, por ejemplo carboxilatos, sulfatos, fosfatos, etc. En otra forma de realización, el agente de control de la coalescencia incluye grupos hidroxilo funcionales. El agente de control de la coalescencia puede ser un poliol que posee múltiples grupos hidroxilo funcionales.

[0038] En algunas formas de realización, el agente de control de la coalescencia es un polisacárido. Los polisacáridos son estructuras de carbohidrato poliméricas, formadas por unidades de repetición (generalmente mono o disacáridos) unidas entre sí por enlaces glicosídicos. Estas estructuras son a menudo lineales, pero pueden contener varios grados de ramificación. Con frecuencia, los polisacáridos son bastante heterogéneos, con ligeras modificaciones de la unidad de repetición. Dependiendo de la estructura, estas macromoléculas pueden tener propiedades diferentes de sus bloques de construcción de oligosacáridos.

[0039] Preferiblemente, el polisacárido contiene grupos funcionales cargados negativamente. En otra forma de realización preferida, el agente de control de la coalescencia es un polisacárido que contiene residuos de ácido idurónico, ácido glucurónico o n-acetilglucosamina. Los polisacáridos adecuados incluyen, por ejemplo, carboximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa de hidroxipropilo, ácido hialurónico, goma xantana, goma guar, β -glucano, alginatos, dextrano de carboximetilo y sus sales farmacéuticamente aceptables.

[0040] De forma alternativa, el polisacárido puede ser una pectina o un derivado de la misma, que incluye polisacáridos lineales y ramificados.

[0041] En otra forma de realización, el agente de control de la coalescencia es un mono u oligosacárido, por ejemplo 3'-N-acetilneuraminil-N-acetilactosamina, 3'-sialil-N-acetilactosamina, 3'-N-acetilneuraminil-3-fucosilactosa, 6'-sialil-N-acetilactosamina, n-acetilglucosamina, glucosa, lactosa, maltotritol, sacarosa, LS-tetrasacárido b y sus sales farmacéuticamente aceptables. Otros agentes de control de la coalescencia incluyen dextrinas, tales como succinil-p-ciclodextrina, carboximetil- β -ciclodextrina, β -ciclodextrina, γ -ciclodextrina y sus sales farmacéuticamente aceptables.

[0042] Un derivado del polisacárido puede incluir, pero no se limita a, un polisacárido reticulado o no reticulado que generalmente tiene una sustitución o una cadena lateral adicional que comprende uno o más grupos consistentes en hidrógeno, alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, alquilarilo sustituido que contiene uno o más átomos de oxígeno, de nitrógeno, de azufre o de fósforo; arilalquilo sustituido que contiene uno o más átomos de oxígeno, de nitrógeno, de azufre de fósforo, de halógeno o de iónico metálico; heterociclo sustituido que contiene uno o más átomos de oxígeno, de nitrógeno, de azufre, de fósforo, de halógeno o de ion metálico; y donde dichos grupos sustituidos se pueden ligar directamente entre sí o separarse por un miembro seleccionado del grupo que consiste en éter, cetona, amino, oxicarbonilo, sulfato, sulfóxido, carboxamida, alquino y alqueno; que incluyen, donde dichas sustituciones o cadenas laterales adicionales terminan con grupos que incluyen, pero no se limitan a hidrógeno, péptido, aldehído, amina, arilazida, hidrazida, maleimida, sulfhidrilo, éster activo, éster, carboxilato, imidoéster, halógeno o hidroxilo. En algunas formas realización, un derivado de polisacárido incluye un polisacárido que ha sido reticulado usando un reticulador químico que incluye, pero no se limita a, divinilsulfona (SVD), 1,4-butanodiol diglicidil éter (BDDE), 1,2,7,8-diepoxi octano (DEO) u otros agentes reticulantes generalmente conocidos por los expertos en la técnica.

[0043] El agente de control de la coalescencia puede ser una glicoproteína tal como la mucina.

[0044] En otra forma de realización, el agente de control de la coalescencia es un aminoácido. Preferiblemente, el aminoácido soporta una cadena lateral ácida. Entre los aminoácidos adecuados se incluyen el ácido aspártico, el ácido glutámico y sus sales farmacéuticamente aceptables.

[0045] En otra forma de realización, el agente de control de la coalescencia es un éster de ácido lipídico o graso. Entre los ésteres de ácidos grasos adecuados se incluyen, por ejemplo, fosfolípidos, dipalmitoilfosfatidilcolina y monooleato de glicerilo. Los ésteres de ácidos grasos se pueden usar conjuntamente con uno o más otros agentes. Por ejemplo, se puede usar propilenglicol y fosfolípidos conjuntamente el uno con el otro.

[0046] En otra forma de realización, el agente de control de la coalescencia es un polímero sintético. Tales polímeros incluyen, por ejemplo, polimetacrilatos, polietilenglicoles y copolímeros (en bloque) con subunidades de polietilenglicol. Por ejemplo, los copolímeros poloxámero 188 y poloxámero 407 pueden ser adecuados para usar como agentes de control de la coalescencia.

[0047] En otra forma de realización, el agente de control de la coalescencia es un tensioactivo. Ejemplos de tensioactivos adecuados incluyen lauril sulfato de sodio y polisorbatos.

[0048] Agentes de control de la coalescencia preferidos incluyen pantenol, polietilenglicoles, goma xantana, goma guar, polisorbato 80, n-acetilglucosamina y sus sales farmacéuticamente aceptables. Agentes de control de la coalescencia particularmente preferidos son carboximetilcelulosa, ácido hialurónico, goma xantana, hidroxipropilmetilcelulosa e hidroxipropilcelulosa y sus sales farmacéuticamente aceptables.

[0049] Generalmente, cuando el agente de control de la coalescencia es un polisacárido, el agente se proporciona en la composición en una cantidad de aproximadamente un 0,01 a aproximadamente un 10 por ciento (p/v). Preferiblemente, cuando el agente de control de la coalescencia es un polisacárido, el agente se proporciona en una cantidad de aproximadamente un 0,5 a aproximadamente un 3,5 por ciento (p/v).

[0050] Cuando el agente de control de la coalescencia es carboximetilcelulosa o goma xantana, el agente puede proporcionarse en una cantidad de aproximadamente un 0,01 a un 10 por ciento (p/v). En una forma de realización preferida, cuando el agente de control de la coalescencia es carboximetilcelulosa o goma xantana, el agente se proporciona en una cantidad de un 0,5 a un 3,5 por ciento (p/v).

[0051] Cuando el agente de control de la coalescencia es ácido hialurónico, el agente puede proporcionarse en una cantidad de aproximadamente un 0,01 a un 10 por ciento (p/v). En una forma de realización preferida, cuando el agente de control de la coalescencia es ácido hialurónico, el agente se proporciona en una cantidad de un 0,5 a un 3,5 por ciento (p/v).

5

[0052] Cuando el agente de control de la coalescencia es un PEG, el agente se puede proporcionar en una cantidad de aproximadamente un 10 a aproximadamente un 90 por ciento (p/v).

[0053] Se entiende que la cantidad eficaz de agente de control de la coalescencia proporcionado depende de varios factores, por ejemplo, las propiedades del agente de control de la coalescencia, la naturaleza de los otros componentes de la composición, y el método usado para formar la composición. En particular, la cantidad eficaz de agente de control de la coalescencia dependerá de la concentración de tropoelastina en la composición. Sin ánimo de limitarse por la teoría, se cree que la cantidad de agente de control de la coalescencia requerida para evitar la coalescencia aumenta conforme la concentración de tropoelastina en la composición aumenta también. Además, la naturaleza del agente de control de la coalescencia afectará a su capacidad para controlar la coalescencia.

10

15

[0054] Por consiguiente, la invención proporciona una composición que incluye tropoelastina y un agente de control de la coalescencia de polisacárido, donde la relación de masa de tropoelastina a polisacárido es de aproximadamente 0,05:1 a 3000:1. Preferiblemente, la relación de tropoelastina a polisacárido es de aproximadamente 0,1:1 a aproximadamente 500:1. Más preferiblemente, la relación de tropoelastina a polisacárido es de aproximadamente 0,2:1 a aproximadamente 100:1.

20

[0055] En algunas formas de realización, la invención proporciona una composición con tropoelastina y carboximetilcelulosa, donde la relación de masa de tropoelastina a carboximetilcelulosa es de 0,1:1 a aproximadamente 500:1. En algunas formas de realización, la relación de masa de tropoelastina a carboximetilcelulosa es de aproximadamente 0,2:1 a aproximadamente 100:1.

25

[0056] En algunas formas de realización adicionales, la invención proporciona una composición con tropoelastina y goma xantana, donde la relación de masa de tropoelastina a goma xantana es de 0,1:1 a aproximadamente 500:1. En algunas formas de realización, la relación de masa de tropoelastina a goma xantana es de aproximadamente 0,2:1 a aproximadamente 100:1.

30

[0057] En algunas formas de realización adicionales, la invención proporciona una composición con tropoelastina y ácido hialurónico, donde la relación de masa de tropoelastina a ácido hialurónico es de 0,1:1 a aproximadamente 500:1. En algunas formas de realización, la relación de masa de tropoelastina a ácido hialurónico es de aproximadamente 0,2:1 a aproximadamente 100:1.

35

[0058] En una forma de realización, el agente para proporcionar una sustancia que contiene tropoelastina con propiedades de flujo excluye, o no es PEG o DMSO.

40

[0059] En otras formas de realización, la composición según la actual invención también puede incluir una fase líquida. Se entenderá que "fase líquida" generalmente se refiere a un vehículo de líquido biológicamente aceptable que es adecuado para inyectar. Generalmente, el solvente de la fase líquida será agua. Entre las fases líquidas preferidas se incluyen soluciones acuosas tales como tampón fosfato salino (PBS). La fase líquida puede incluir tampones tal como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos. En otra forma de realización, la fase líquida incluye al menos un agente destinado a alterar la fuerza iónica de la fase líquida.

45

[0060] La composición según la presente invención puede incluir uno o más principios activos o ingredientes de agentes adicionales. Los agentes adicionales pueden proporcionar un efecto terapéutico, como la estimulación de reparación de tejido. De forma alternativa, los agentes adicionales pueden evitar o limitar una respuesta de tejido adversa. Más adicionalmente, los agentes adicionales pueden ayudar a la estabilidad o viabilidad de la composición inyectable. En algunas formas de realización, otros compuestos se proporcionan como diluyentes, soportes, excipientes o compuestos similares.

50

[0061] Los agentes adicionales pueden estar presentes (o disueltos o suspendidos) en la fase líquida de la composición. De forma alternativa, los agentes adicionales pueden estar presentes en los glóbulos de la composición.

55

[0062] En una forma de realización, se pueden incluir en la composición agentes farmacéuticos, que incluyen antibióticos, promotores de crecimiento, antiinfecciosos, antisépticos, compuestos angiogénicos, agentes anticáncer, agentes antiinflamatorios, inhibidores de proteasa y similares.

60

[0063] En otra forma de realización, se pueden incluir en la composición factores biológicos tales como factores tisulares, citocinas, factores de crecimiento y similares. Se prefieren particularmente aquellos factores implicados en la cicatrización de una herida, la fibrosis y la granulación.

65

[0064] En otra forma de realización, se pueden incluir en la composición células, en particular, células que están implicadas en la cicatrización de heridas. Entre los ejemplos se incluyen células epiteliales, fibrocitos, fibroblastos, precursores de queratinocito, queratinocitos, miofibroblastos, fagocitos y similares.

[0065] La composición se puede empaquetar de diversas maneras que incluyen un contenedor que tiene depositada en su interior la composición en una forma apropiada. Los expertos en la materia conocen contenedores adecuados que incluyen materiales tales como botellas (plástico y vidrio), jeringas, sobres, ampollas, bolsas de plástico, cilindros de metal y similares. El contenedor también puede incluir un ensamblaje a prueba de manipulaciones para evitar el acceso indiscreto al contenido del paquete. Además, el contenedor puede tener depositada sobre el mismo una etiqueta que describe el contenido del contenedor. La etiqueta también puede incluir advertencias apropiadas.

III MÉTODOS DE PRODUCCIÓN

[0066] En otra forma de realización, la invención proporciona un proceso para producir una composición formada a partir de tropoelastina con la etapa de coacervar o polimerizar la tropoelastina en una fase líquida en la que hay un agente de control de la coalescencia disuelto.

[0067] Una ventaja importante del proceso es que la composición producida con él se puede inyectar sin manipulación o etapas de procesamiento adicionales. Este es un aspecto distintivo de la invención, dado que muchas de las composiciones de biomateriales inyectables actualmente conocidas en la técnica requieren etapas de procesamiento adicionales (por ejemplo, lavado para eliminar agentes reticulantes) antes de poder inyectarse.

[0068] Otra ventaja importante del proceso es que la composición producida mediante el proceso contiene un alto contenido de sólidos de tropoelastina mientras que a su vez mantiene la propiedad inyectable de la composición. Este es también un aspecto distintivo de la invención si se la compara con otras composiciones que contienen biomaterial conocidas en la técnica.

[0069] Generalmente, una solución de tropoelastina que tiene una concentración superior a aproximadamente 1,5 mg/mL es capaz de formar una composición inyectable de integridad deseable, aunque también son útiles concentraciones inferiores. En la mayoría de aplicaciones, la concentración de solución es inferior a aproximadamente 400 mg/mL. Por lo tanto, es preferible una solución de tropoelastina que tenga una concentración de aproximadamente 1,5 mg/mL a aproximadamente 400 mg/mL. Más preferiblemente, se usa una solución de tropoelastina que tenga una concentración de entre aproximadamente 5 mg/mL a aproximadamente 300 mg/mL. Más preferiblemente, se usa una solución de tropoelastina que tenga una concentración de entre aproximadamente 10 mg/mL a aproximadamente 200 mg/mL.

[0070] La concentración de sal de la fase líquida se puede controlar añadiendo sal, que incluye cualquier compuesto iónico, o especies de bajo peso molecular capaces de afectar a la osmolalidad de la solución. Por ejemplo, se puede usar NaCl, KCl, MgSO₄, Na₂CO₃ o glucosa. Una sal preferida es NaCl.

[0071] Donde la intención es formar una composición formada de tropoelastina que consiste en elastina (o tropoelastina reticulada), la temperatura de la solución se puede elevar a gamas fisiológicas de aproximadamente 37 °C, de modo que se forme una fase viscoelástica. Se puede añadir un agente reticulante tal como el glutaraldehído antes de esta etapa de coacervación o se puede añadir después.

[0072] Donde la intención es de formar una composición formada a partir de tropoelastina con material elástico, un pH de aproximadamente pH 7,5 o más es suficiente para provocar que un material elástico se forme a partir de la tropoelastina en la solución. Generalmente se evita que el pH supere aproximadamente un pH 13 ya que, por encima de este, el material elástico queda menos bien formado. Más preferiblemente, es deseable un pH de entre aproximadamente pH 9 y pH 13. Sin embargo, más preferiblemente se usa un pH de entre aproximadamente pH 10 y pH 11. Otras medidas de pH que se podrían usar incluyen 8,0; 8,5; 9,5; 10; 10,5 y 11,5. Se puede añadir un agente reticulante tal como el glutaraldehído antes del cambio en el pH, o se puede añadir después.

[0073] La alcalinidad se puede ajustar mediante un número de métodos que incluyen 1) añadir directamente una sustancia de aumento del pH a una solución de tropoelastina, 2) mezclar una solución que contiene suficientes cantidades de una sustancia de aumento de pH para volverla alcalina con una solución de tropoelastina. La sustancia de aumento de pH podría ser una base, un tampón, un material adsorbente de protón. Se ha descubierto que ejemplos que incluyen Tris base, NH₄OH y NaOH son útiles como sustancias de aumento o control del pH.

[0074] Donde el pH es alcalino y de menos de aproximadamente 9,5, se puede requerir sal para formar el material elástico de la invención. Donde se usa sal, la concentración es generalmente de más de 25 mM y puede ser de hasta 200 mM. Preferiblemente, la concentración de sal es de entre aproximadamente 100 mM y 150 mM. Más preferiblemente, la concentración de sal es de aproximadamente 150 mM. Conforme el pH se reduce (y a la vez permanece alcalino) por debajo de pH 10, se requiere sal para provocar la formación del material elástico y la

cantidad de sal requerida aumenta conforme el pH se reduce. De modo que, por ejemplo, en alrededor de pH 9 a 10, se requiere sal, por ejemplo debería proporcionarse a la solución una concentración de sal equivalente a aproximadamente 60 mM. En algunas formas de realización, la solución consiste en tener una osmolaridad equivalente a la de la solución salina isotónica de mamífero (150 mM) o inferior. En otras formas de realización, la solución consiste en tener una osmolaridad superior a 150 mM. La concentración de sal también puede ser de 0 mM.

[0075] La concentración de sal de la solución se puede controlar añadiendo sal, que incluye cualquier compuesto iónico, iones monovalentes o bivalentes o especies de bajo peso molecular capaces de afectar a la osmolaridad de la solución. Por ejemplo, se pueden usar NaCl, KCl, MgSO₄, Na₂CO₃ o glucosa. Una sal preferida es NaCl.

[0076] Opcionalmente, la fase líquida se puede agitar durante la coacervación. La fase líquida se puede agitar mediante medios mecánicos, por ejemplo mediante el uso de equipo de agitador magnético, mezcla manual o colocación en una agitación orbital.

[0077] El proceso según la actual invención se puede llevar a cabo en condiciones estériles para asegurar que las composiciones producidas por el proceso son adecuadas para el uso *in vivo*.

[0078] En otra forma de realización, el pH de la composición se puede ajustar hasta alcanzar un valor dentro de un rango fisiológicamente aceptable. En otra forma de realización, la fuerza iónica de la composición se ajusta hasta estar dentro de un rango fisiológicamente aceptable.

IV DISPOSITIVOS Y KITS

[0079] En algunas formas de realización, la composición puede proporcionarse en forma de un dispositivo, desechable o reutilizable, que incluye un receptáculo para retener la composición. En una forma de realización, el dispositivo es una jeringa. El dispositivo puede contener de 0,1 a 10 mL de la composición. Más preferiblemente el dispositivo puede contener de 0,5 a 5 ml de la composición. La composición puede proporcionarse en el dispositivo en un estado que esté listo para usar, por ejemplo, en una forma reticulada, o en un estado que requiera mezcla o adición de componentes adicionales, tal como un reticulante (si se requiere reticulación).

[0080] En otras formas de realización se proporciona un kit para usar en una de las formas de realización descritas anteriormente, donde el kit incluye:

- un contenedor que contiene una composición según la invención;
- un inserto de etiqueta o paquete con instrucciones de uso.

[0081] En algunas formas de realización, el kit puede contener uno o más principios activos o ingredientes además de los glóbulos. Estos ingredientes activos se han descrito previamente.

[0082] El kit puede comprender un contenedor y un inserto de etiqueta o paquete en o asociado al contenedor. Entre los contenedores adecuados se incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringas, blísteres, etc. Los contenedores pueden estar hechos de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico. El contenedor contiene la composición o formulación de la misma y puede tener una puerta de acceso estéril (por ejemplo, el contenedor puede ser una bolsa o vial de solución intravenosa o con un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica). El inserto de etiqueta o paquete indica que la composición se usa para tratar el problema elegido, tal como el hinchamiento de tejidos. En una forma de realización, el inserto de etiqueta o paquete incluye instrucciones de uso e indica que la composición se puede usar para tratar un trastorno o una complicación que surge a partir de un defecto de tejido.

[0083] El kit puede comprender (a) un primer contenedor con la composición de la invención; y (b) un segundo contenedor con un principio activo o ingrediente contenido en su interior. El kit en esta forma de realización de la invención puede comprender además un inserto de paquete que indica que la composición y otro principio activo se pueden usar para tratar un trastorno. Alternativa o adicionalmente, el kit puede comprender además un segundo (o tercer) contenedor que comprende un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWFI), solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y de usuario, que incluyen otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

V MÉTODOS DE TRATAMIENTO

[0084] En algunas formas de realización, se proporciona un uso de la composición según la invención en la producción de una formulación o prótesis para corregir un defecto de tejido, especialmente un defecto que requiere el aumento de tejidos blandos o dérmicos.

[0085] En otras formas de realización, se proporciona un método de aumento de tejidos blandos o dérmicos, el método incluye la administración de una cantidad eficaz de una composición según la invención a un individuo que necesite este tipo de tratamiento.

5 [0086] Un individuo adecuado para el tratamiento con este método puede mostrar síntomas menores del proceso de envejecimiento, por ejemplo, arrugas menores alrededor de los ojos y la boca, arrugas menores de los labios y una reducción menor en el volumen de los labios. De forma alternativa, los signos del envejecimiento pueden ser más pronunciados. Por ejemplo, un individuo puede mostrar signos de envejecimiento más pronunciados, con
10 arrugas profundas y una profundización de la arruga nasolabial. Adicionalmente, puede haber atrofia o descolgamiento de las estructuras faciales, tales como las almohadillas de grasa malar. Más adicionalmente, un individuo puede desear aumentar su aspecto en ausencia de cualquier signo de envejecimiento, por ejemplo el individuo puede desear aumentar el volumen de sus labios. En algunas formas de realización, la composición se puede inyectar intradérmica, intracutánea y/o subcutáneamente. La inyección de la composición proporciona un efecto de volumen o relleno, reduciendo el aspecto de las arrugas o pliegues o, de forma alternativa, proporcionar
15 un efecto estéticamente agradable.

[0087] Otros defectos de tejido a los que se puede aplicar la composición incluyen cicatrices dérmicas procedentes de, por ejemplo, enfermedades cutáneas (tal como acné, paperas, varicela o sarampión), cicatrices de traumatismos (herida o quemaduras) o de procedimientos quirúrgicos.

20 [0088] Otros defectos de tejido a los que se puede aplicar la composición incluyen pérdida o atrofia de tejidos gruesos, tal como la lipoatrofia en la región facial de pacientes de VIH como un efecto secundario de las terapias retrovíricas.

25 [0089] En una forma de realización se proporciona un uso de la composición según la invención para el tratamiento de un problema asociado a una insuficiencia esfinteriana. Un individuo adecuado para este tratamiento puede padecer de un problema o una enfermedad tal como, por ejemplo, deficiencia intrínseca del esfínter, incontinencia urinaria, enfermedad de reflujo gastrointestinal o reflujo vesicoureteral. Además, un individuo adecuado para esta forma de tratamiento puede padecer de incontinencia fecal.

30 [0090] Generalmente, la composición se administra al lugar del defecto de tejido mediante inyección aunque pueden ser apropiadas otras vías de administración dependiendo de la naturaleza del defecto de tejido. Cuando la composición debe ser administrada mediante inyección, se puede usar un rango de gauges de aguja. El gauge usado depende, entre otras cosas, de la naturaleza del material que contiene tropoelastina (por ejemplo, su viscosidad) y la naturaleza del defecto (por ejemplo, la profundidad del lugar de inyección). Por ejemplo, cuando la composición se destina a usarse en el aumento de tejidos, el gauge de aguja estará generalmente en el rango de entre aproximadamente 16 G y 31 G. Generalmente, para rellenos dérmicos, el gauge de aguja estará en el rango de entre aproximadamente 25 G y 31 G. Las inyecciones de dermis superficiales para arrugas finas pueden servirse, por ejemplo, de agujas con un gauge en el rango de 27-31 G mientras una aguja de mayor gauge tal como una aguja de 25 G o 27 G puede ser necesaria para inyecciones profundas bajo la dermis. Para aplicaciones de incontinencia, el indicador de aguja será generalmente de entre aproximadamente 16 G y aproximadamente 21 G.

45 [0091] La composición se puede administrar en una variedad de tratamientos para corregir el defecto de tejido y/o para conseguir o mantener el resultado deseado.

[0092] Se entenderá que la invención descrita y definida en esta especificación se extiende a todas las combinaciones alternativas de dos o más de las características individuales mencionadas o evidentes en el texto o dibujos. Todas estas combinaciones diferentes constituyen varios aspectos alternativos de la invención.

50 Ejemplos

[0093] Los ejemplos siguientes se destinan a ilustrar, pero en modo alguno limitar, la presente invención.

55 **Ejemplo 1: producción de glóbulos formados a partir de tropoelastina en bajas concentraciones de tropoelastina usando un proceso de polimerización de álcali.**

Materiales y métodos

60 [0094] Se disolvieron 20 mg de tropoelastina en 10 mL de tampón fosfato salino (PBS) a 4 °C durante toda la noche (estimadas 16 h) para proporcionar una concentración final de tropoelastina de 2 mg/ml. Manteniendo la solución en hielo todo el rato, se midió el pH de inicio de la solución (pH 7,2) y se añadieron 39 µL de NaOH 1 M para llevar el pH de la solución a un valor de 10,7. A continuación se incubó la solución resultante a 37 °C durante 4 h en un tubo de 15 mL antes de retirarla de la incubadora y colocarla a temperatura ambiente.

Resultados

[0095] Las micropartículas producidas tienden a revestir el lado del tubo. Una imagen de SEM de una muestra de la solución (figura 1A) muestra la presencia de micropartículas con un diámetro estimado de 1 μm . Las esferas tienden a agregarse entre sí debido a la naturaleza "pegajosa" del material de elastina.

Ejemplo 2: polimerización de álcali de tropoelastina en ausencia de un agente de control de la coalescencia en una concentración de 10 mg/ml.

Materiales y métodos

[0096] Se disolvieron 50 mg de tropoelastina en 4,9 mL de PBS a 4 °C durante toda la noche (estimadas 16 h). Manteniendo la solución en hielo todo el rato, se midió el pH de inicio de la solución (pH 7,22) y se añadieron 47 μL de NaOH 1 M para llevar el pH de la solución a un valor de 10,7. Se añadieron 53 μL adicionales de PBS para hacer una solución de tropoelastina con una concentración final 10 mg/mL. A continuación, la solución se incubó a 37 °C durante toda la noche (16 h) en un tubo de fondo plano de 5 mL antes de eliminarla de la incubadora y colocarla a temperatura ambiente.

Resultados

[0097] Tal y como se puede observar en la figura 1B, el material producido fue un material elástico sólido que retuvo la forma del tubo en el que se preparó. Más de 4,5 mL de fluido separado del sólido resultante, sugiriendo la mayoría de 50 mg de tropoelastina (> 40 mg) estuvo presente en aproximadamente 0,5 mL de líquido en la construcción producida. En otras palabras, la tropoelastina está significativamente más concentrada en el sólido en comparación con el material de partida (10 mg/mL) debido a la agregación densa de tropoelastina en esta concentración en ausencia de un agente de control de la coalescencia.

Ejemplo 3: producción de glóbulos en presencia de CMC como el agente de control de la coalescencia usando reticulación química.

Materiales y métodos

[0098] Se produjo una solución madre de 200 mg/mL de tropoelastina disolviendo 300 mg de tropoelastina en 1,5 mL de PBS durante toda la noche a 4 °C. Se produjo una solución madre de 2 % (p/v) de carboximetilcelulosa de viscosidad alta (CMC; Sigma Cat N.º C5013) disolviendo 2 g de CMC en 100 mL de PBS con agitación durante toda la noche a temperatura ambiente.

[0099] Manteniendo las soluciones en hielo todo el rato, se mezclaron 250 μL de la solución madre de tropoelastina con 200 μL de PBS y 500 μL del 2% (p/v) de CMC. Un vial fresco de un 25 % (v/v) de solución de glutaraldehído (GA) se abrió en hielo y 2 μL de un 25 % (v/v) de GA se mezclaron con 48 μL de PBS antes de añadirse inmediatamente a la solución de tropoelastina. La mezcla resultante de 50 mg/mL de tropoelastina, un 1 % (p/v) de CMC, un 0,05 % (v/v) de GA se agitó usando una punta de pipeta enfriada (las puntas de pipeta se preenfriaron colocándolas a -20 °C durante toda la noche) antes incubarse a 37 °C durante 24 horas en un 5 mL de tubo de fondo plano.

Resultados

[0100] El material producido tenía un aspecto rosa y viscoso después de 3 horas de incubación y se mantuvo de la misma manera después del periodo de 24 horas de incubación restantes. El material se pudo pasar a través de una aguja de 29 G y, a continuación, de una aguja de 31 G y su aspecto se volvió menos viscoso después del paso por la aguja. Una imagen de SEM de una muestra del material muestra una mezcla homogénea de glóbulos con un rango de diámetros de aproximadamente 0,5 a 1 μm (figura 2). Un nivel bajo de coalescencia entre los glóbulos es evidente en esta formulación.

Ejemplo 4: producción de glóbulos en presencia de HA como agente de control de la coalescencia usando reticulación química.

Materiales y métodos

Solución madre de tropoelastina

[0101] Se añadió H₂O (1 mL) + PBS (0,5 ml) a 200 mg tropoelastina liofilizada y se mantuvieron a 2 - 8° para disolver - la concentración resultante, determinada midiendo la absorbancia de UV a 280 nm de una dilución 1/250 en H₂O, fue de 150 mg/ml. La concentración se determinó usando un coeficiente de extinción de 0,3125 ml/mg.cm.

Solución madre de ácido hialurónico (HA)

[0102] Se preparó un 2 % de solución de HA en PBS añadiendo PBS autoclavado a 1 g de HA (volumen final de 50 mL) y agitando con un agitador magnético. La muestra se almacenó a 2 - 8 °C.

Solución madre de glutaraldehído

[0103] Se preparó un 1 % de solución de glutaraldehído añadiendo 2 µL de 25 % de GA a 48 µL de PBS y mezclando en un tubo de Eppendorf. Todas las puntas se enfriaron a < 10 °C antes de usarse.

Preparación y composición de la muestra de prueba

[0104] Todos los componentes se mantuvieron en hielo hasta que fueron necesarios. La cantidad requerida de soluciones madre de HA, PBS y tropoelastina se combinó en un tubo de 5 ml en hielo usando una pipeta. La composición resultante se mezcló usando un agitador magnético a 2 - 8 °C durante 2 minutos y se centrifugó brevemente en una centrifugadora para eliminar cualquier burbuja de aire. Se añadió glutaraldehído y la composición resultante se mezcló usando un agitador magnético a 2 - 8 °C durante 2 minutos más. La barra de agitación se retiró; la muestra se centrifugó brevemente en una centrifugadora para eliminar las burbujas de aire y, a continuación, se incubó a 37 °C durante 16 horas. Composición final: 50 mg/ml de tropoelastina, 1 % de HA, 0,05 % de glutaraldehído.

Resultados

[0105] El material producido tenía aspecto de gel viscoso rosa. El material podría pasarse directamente a través de una aguja de 31 G y no cambió de aspecto después del paso a través de la aguja. Una imagen de SEM de una muestra del material (figura 3) muestra una mezcla homogénea de glóbulos con un próximo diámetro de 1µm. Es evidente una conectividad clara entre los glóbulos. El análisis de SEM del material después de la extrusión a través de una aguja de 31 G y seguido de un lavado en agua en exceso o PBS no reveló ningún cambio en la estructura del material.

Ejemplo 5: efecto de valoración de la concentración de tropoelastina contra el agente de control de la coalescencia en la formación de glóbulos formados a partir de tropoelastina usando catálisis de álcali.

Materiales y métodos

[0106] Se produjo una solución madre de 200 mg/mL de tropoelastina disolviendo 300 mg de tropoelastina en 1,5 mL de PBS durante toda la noche a 4 °C. Se produjo una solución madre de un 2 % (p/v) de ácido hialurónico (sal de sodio de HA de cordón umbilical humano; Sigma Cat N.º H1876) disolviendo 100 mg de HA en 5 mL de PBS durante toda la noche a 4 °C.

[0107] Para producir una valoración de la concentración de tropoelastina contra la del HA, se prepararon las muestras siguientes mezclando las soluciones apropiadas en hielo:

Muestra A: 50 µL de solución de tropoelastina + 450 µL de PBS + 500 µL de solución de HA. PH de inicio de 6,8 ajustado por la adición de 4 µL de NaOH 1 M a proporcionar un pH de 10,7. La solución final producida es de 10 mg/mL de tropoelastina, 1 % (p/v) de HA.

Muestra B: 125 µL de solución de tropoelastina + 375 µL de PBS + 500 µL de solución de HA. PH de inicio de 6,8 ajustado por la adición de 7 µL de NaOH 1 M para proporcionar un pH de 10,3. La solución final producida son 25 mg/mL de tropoelastina, 1 % (p/v) de HA.

Muestra C: 250 µL de solución de tropoelastina + 250 µL de PBS + 500 µL de solución de HA. PH de inicio de 6,8 ajustado por la adición de 10,5 µL de NaOH 1 M para proporcionar un pH de 10,4. La solución final producida fue 50 mg/mL de tropoelastina, 1 % (p/v) de HA.

Muestra D: 375 µL de solución de tropoelastina + 125 µL de PBS + 500 µL de solución de HA. PH de inicio de 6 ajustado por la adición de 16 µL de NaOH 1 M para proporcionar un pH de 10,3. La solución final producida es de 75 mg/mL de tropoelastina, 1 % (p/v) de HA.

[0108] A continuación, todas las muestras se incubaron a 37 °C durante toda la noche (16 h) en un tubo de fondo plano de 5 ml.

Resultados

Muestra A: 10 mg/mL de tropoelastina, 1 % (p/v) de HA, pH 10,7

[0109] El material producido fue un líquido blanco homogéneo que se podía pasar a través de una aguja de 30 G después de extrusiones secuenciales a través de una aguja de 18 G, 21 G, 25 G y 30 G. Una imagen de SEM

(figura 4A) de la solución resultante revela una mezcla relativamente homogénea de glóbulos de fusión formados a partir de tropoelastina con un rango de diámetros de aproximadamente 1 a 4 μm .

Muestra B: 25 mg/mL de tropoelastina, 1 % (p/v) de HA, pH 10,3

[0110] El material producido fue una pasta blanca gruesa formada en el fondo del tubo y cubierta por un líquido blanco. La pasta se pudo mezclar en el resto de la solución; sin embargo, la solución se mantuvo bastante heterogénea y obstruyó una aguja de 29 G - es posible que el material se pudiera extruir a través de una aguja de mayor gauge como 18 G [N.B. que la extrusión se llevó a cabo directamente solo en una aguja fija de 29 G - no se intentó aquí ningún método de extrusión secuencial]. Una imagen de SEM (figura 4B) de la solución resultante después del mezclado demuestra la presencia de glóbulos coalescidos con un rango de diámetros de aproximadamente 1 a 4 μm .

Muestra C: 50 mg/mL de tropoelastina, 1 % (p/v) de HA, pH 10,4

[0111] El material producido fue una pasta/un sólido blanco y grueso formado en el fondo del tubo. Esta pasta se pudo mezclar parcialmente en el líquido anterior, sin embargo, dio lugar a una suspensión heterogénea que contenía trozos de material sólido. Esta no pudo pasar a través de una aguja de 29 G aunque es posible que el material pudiera extruirse a través de una aguja de mayor gauge como 18 G [N.B. que la extrusión se llevó a cabo directamente solo en una aguja fija de 29 G - no se intentó aquí ningún método de extrusión secuencial]. Una imagen de SEM (figura 4C) de la solución resultante después de la mezcla demuestra la presencia de glóbulos coalescidos con un rango de diámetros de aproximadamente 1-10 μm .

Muestra D. 75 mg/mL de tropoelastina, 1 % (p/v) de HA, pH 10,3

[0112] El material producido fue una pasta/un sólido blanco y grueso formado en el fondo del tubo. Esta pasta pudo mezclarse parcialmente en el líquido anterior, sin embargo, esto dio lugar a una suspensión heterogénea que contenía trozos de material sólido. Esta no pudo pasar a través de una aguja de 29 G, aunque es posible que el material se pudiera extruir a través de una aguja de mayor gauge como 18 G [N.B. que la extrusión se llevó a cabo directamente solo en una aguja fija de 29 G - no se intentó aquí ningún método de extrusión secuencial]. Una imagen de SEM (figura 4D) de la solución resultante después de la mezcla demuestra la presencia de glóbulos coalescidos con un rango de diámetros de aproximadamente 0,5-20 μm .

[0113] Usando las imágenes de SEM anteriores, la distribución de tamaño de los diámetros de glóbulo se muestra en la figura 5. Conforme la concentración de tropoelastina aumenta, el tamaño de los glóbulos y el nivel de coalescencia aumenta.

Ejemplo 6: efecto de agitación en la formación de glóbulos en presencia de un agente de control de la coalescencia.

Materiales y métodos

[0114] Se produjo una solución de tropoelastina de 222 mg/mL disolviendo 100 mg de tropoelastina en 450 μL de PBS durante toda la noche a 4 $^{\circ}\text{C}$. Se produjo una solución madre de 2 % (p/v) de carboximetilcelulosa de alta viscosidad (CMC; Sigma Cat No.C5013) disolviendo 2 g CMC en 100 mL de PBS durante toda la noche con agitación a temperatura ambiente.

[0115] Manteniendo las soluciones en hielo todo el rato, se mezclaron 450 μL de solución de tropoelastina 500 μL del 2 % (p/v) de CMC. Se abrió en hielo un vial fresco de un 25 % (v/v) de solución de glutaraldehído y se mezclaron 2 μL de un 25% (v/v) de GA con 48 μL de PBS antes de que se añadiera inmediatamente a la solución de tropoelastina. La mezcla resultante de 100 mg/mL de tropoelastina, 1 % (p/v) de CMC, se agitó un 0,05 % (v/v) de GA usando una punta de pipeta enfriada (las puntas de pipeta se preenfriaron colocándolas a -20 $^{\circ}\text{C}$ durante toda la noche). La mezcla se colocó en una incubadora a 37 $^{\circ}\text{C}$ y se agitó usando un agitador magnético durante 4 horas. A continuación, la solución se refrigeró durante toda la noche (16 h) sin agitación.

Resultados

[0116] El material producido fue rosa, opaco y viscoso después de la incubación inicial de 4 horas a 37 $^{\circ}\text{C}$. Después de la refrigeración, el material se volvió ligeramente translúcido (aunque se mantuvo rosa y viscoso); sin embargo, tras el calentamiento a temperatura ambiente se volvió rápidamente opaco una vez más. El material se pudo pasar a través de una aguja de 31 G. Después del paso a través de una aguja, la solución se mantuvo igual.

[0117] Cuando se observó con SEM, la muestra (figura 6A y 6B) mostró glóbulos coalescidos de tamaños variables.

Ejemplo 7: producción de glóbulos en presencia de un agente de control de la coalescencia usando un proceso de polimerización de álcali.

Materiales y métodos

[0118] Se añadieron 450 µl de tropoelastina (222 mg/ml) a 500 µl de un 2 % de CMC en hielo. Después de mezclar meticulosamente, el pH de la solución se ajustó de 7,1 a 10,2 con 19 µl de NaOH 1M y se añadieron 31 µl de PBS a continuación mientras la muestra se mantenía en hielo. Posteriormente, la muestra se incubó a 37 °C durante 4 h con agitación y después se almacenó a 4 °C. Para una muestra neutra, el pH se ajustó a continuación a temperatura ambiente de 9,7 a 7,4 con 11 µl de HCl 1 M. Las soluciones resultantes contenían 100 mg/mL de tropoelastina, 1 % (p/v) de CMC.

Resultados

[0119] El material producido fue un líquido blanco homogéneo que podía pasarse a través de una aguja de 26 G - 29 G. Una imagen de SEM de la solución alcalina (figura 7A y 7B) y la solución alcalina neutralizada (figura 7C y 7D) revela material que comprende glóbulos coalescidos. Ambos materiales son un líquido translúcido viscoso y marrón claro a 4 °C que se convierte en un líquido opaco viscoso y blanco/marrón cuando se calienta.

Ejemplo 8: estabilidad de las micropartículas formadas a partir de tropoelastina en presencia de un agente de control de la coalescencia.

[0120] Las muestras producidas según los ejemplos 4A y 6 se almacenaron a 4 °C durante más de 60 días. Después de más de 60 días, el material todavía era capaz de ser inyectado y su aspecto no había cambiado como se juzgó mediante SEM.

Ejemplo 9: formación de material inyectable que comprende tropoelastina reticulada y goma xantana (XG)Materiales y métodos

[0121] Se añadieron 450 µl de tropoelastina (222 mg/ml) a 500 µl de un 3 % de XG en hielo y se mezclaron meticulosamente. Un vial fresco de 25 % (v/v) de solución de glutaraldehído se abrió en hielo y 2 µL de un 25 % (v/v) de GA se mezclaron con 48 µL de PBS antes de añadirse inmediatamente a la solución de tropoelastina. A continuación, la muestra se incubó a 37 °C durante 4 h con agitación y después se almacenó a 4 °C. La mezcla resultante contenía 100 mg/mL de tropoelastina, 1,5 % (p/v) de XG, 0,05 % (v/v) de GA.

Resultados

[0122] El material producido fue un gel viscoso rosa translúcido a 4 °C que se volvía un gel rosa opaco cuando se calentaba. La formación de imágenes con SEM (figura 8A y 8B) muestra que el material se compone de acreciones. El material pudo pasarse a través de una aguja de 31 G. Después del paso a través de una aguja, la solución se mantuvo igual.

Ejemplo 10: formación de material para administración a través de una aguja o cánula de diámetro amplio o que comprende tropoelastina reticulada y HPCMateriales y métodos

[0123] 450 µl tropoelastina (222 mg/mL) fue añadido a 500 µl 4% hidroxipropilcelulosa (HPC) en hielo y mezclado íntegramente. Un vial fresco de un 25 % (v/v) de solución de glutaraldehído se abrió en hielo y 2 µL de un 25 % (v/v) de GA se mezclaron con 48 µL de PBS antes de añadirse inmediatamente a la solución de tropoelastina. A continuación, la muestra se incubó a 37 °C durante 4 h con agitación y posteriormente se almacenó a 4 °C. La mezcla resultante contenía 100 mg/mL de tropoelastina, 2 % (p/v) de HPC, 0,05 % (v/v) de GA.

Resultados

[0124] Se produjo un material blando, grueso y de tintado de rosa fue producido (figura 9A). La formación de imágenes con SEM (figura 9B) muestra que el material es fibroso con cierta evidencia de acreciones. El material se pudo pasar a través de un diámetro de 2 mm usando una jeringa.

Ejemplo 11 - optimización de una formulación para administración a través de una aguja de gauge fino

[0125] Los estudios de optimización se llevaron a cabo para averiguar los posibles límites de la relación de masa de la tropoelastina: agente de control de la coalescencia para una formulación de tropoelastina que es capaz de inyectarse a través de gauges de aguja en el rango de 29 G - 31 G. Las muestras en **negrita** en la tabla siguiente no pudieron pasar a través de una aguja de 29/31 G.

Agente	[tropoelastina] (mg/ml)	[agente] (p/v)	Alc o R ^a	Mezcla ^b	Relación de masa tropoelastina:agente
HA ^c	10	1 %	Alc	No	1:1
	25	1 %	Alc	No	2,5:1
	25	1,5 %	R	No	1,6:1
	50	1 %	R	No	5:1
	75	0,5 %	R	No	15:1
CMC (vis med) ^d	10	1,8 %	Alc	No	0,56:1
	10	1,9 %	Alc	No	0,53:1
	25	1,6 %	Alc	No	1,56:1
	25	1,75 %	Alc	No	1,43:1
CMC (vis alta) ^e	10	1 %	R	No	1:1
	50	1 %	R	No	5:1
	90	1 %	R	Sí	9:1
	90	1 %	Alc	Sí	9:1
	100	1 %	R	Sí	10:1
	100	0,5 %	R	Sí	20:1
	150	1 %	R	Sí	15:1
XG ^f	100	1 %	R	Sí	10:1
	100	1,5 %	R	Sí	6,67:1
	100	0,5 %	R	Sí	20:1

^aAlc o R: polimerización alcalina (Alc) o reticulación (R)
^bMezcla: ¿la mezcla se sometió a agitación durante la coacervación?
^c HA: ácido hialurónico
^dCMC (vis med): carboximetilcelulosa (viscosidad media)
^eCMC (vis alta): carboximetilcelulosa (viscosidad alta)
^fXG: goma xantana

Ejemplo 12: método de uso de la composición inyectable en el aumento de tejido

Descripción

5 [0126] La composición es un gel producido a partir de una tropoelastina humana sintética generada por la especie de bacterias *Escherichia coli*, reticulada químicamente con glutaraldehído en presencia de un 1 % de solución de un derivado de la celulosa con pH = 7 y con una concentración de tropoelastina final de 100 mg/mL.

10 Indicación

[0127] La composición se indica para implantación dérmica media a profunda para la corrección de moderado a arrugas y pliegues faciales moderadas a graves, tales como los pliegues nasolabial.

15 Cómo se suministra

[0128] La composición se suministra en una jeringa desechable con una aguja de 31 G x 1/2".

20 Procedimiento de tratamiento

[0129]

1. Resulta esencial consultar con el paciente y que estén informados acerca de las indicaciones, contraindicaciones, advertencias, precauciones, respuestas de tratamiento, reacciones adversas y método de administración del tratamiento. Debería llevarse a cabo una historial médico exhaustivo del paciente antes del tratamiento.

2. Valorar la necesidad del paciente de gestión del dolor.

30 3. Limpiar el área que se va a tratar con alcohol u otra solución antiséptica adecuada.

4. Antes de la inyección, presionar la barra del émbolo de modo que una pequeña cantidad de la composición sea visible en la punta de la aguja.

35 5. La composición debería administrarse usando una aguja de gauge fino (31G x "1/2"). La aguja se inserta en un ángulo de aproximadamente 30° paralelo a la longitud de la arruga o pliegue. La técnica de inyección en consideración con el ángulo y la orientación del bisel, la profundidad de inyección y la cantidad administrada

pueden diferir. Si la composición se inyecta demasiado profunda o intramuscularmente, la duración del efecto será más corta.

5 6. Inyectar la composición aplicando una presión homogénea en la barra del émbolo mientras se tira de la aguja lentamente hacia atrás. La arruga debería realizarse y eliminarse hacia el final de la inyección. Es importante que la inyección se detenga justo antes de retirar la aguja de la piel para evitar que se filtre material o acabe demasiado superficialmente en la piel.

10 7. Cuando se completa la inyección, el lugar tratado debería masajearse suavemente de modo que se ajuste al contorno de los tejidos circundantes.

8. El uso típico para cada sesión de tratamiento es de 1 ml por sitio de tratamiento.

15 [0130] La técnica de inyección correcta es crítica para el resultado final del tratamiento.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición inyectable formada a partir de tropoelastina, donde la composición incluye una sustancia que contiene tropoelastina, donde la sustancia incluye tropoelastina reticulada y además incluye un agente en forma de un polisacárido o un derivado de polisacárido que tiene una sustitución o una cadena lateral adicional que comprende uno o más grupos consistentes en hidrógeno, alquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, alquilarilo sustituido con uno o más átomos de oxígeno, de nitrógeno, de azufre o de fósforo; arilalquilo sustituido con uno o más átomos de oxígeno, de nitrógeno, de azufre, de fósforo, de halógeno o de ion de metal; heterociclo sustituido con uno o más átomos de oxígeno, de nitrógeno, de azufre, de fósforo, de halógeno o de ion de metal y donde dichos grupos sustituidos pueden estar ligados directamente entre sí o separados por un miembro seleccionado del grupo que consiste en éter, ceto, amino, oxicarbonilo, sulfato, sulfóxido, carboxamida, alquino y alqueno; que incluyen, donde dichas sustituciones o cadenas laterales adicionales terminan con grupos que incluyen pero no se limitan a hidrógeno, péptido, aldehído, amina, arilazida, hidrazida, maleimida, sulfhidrilo, éster activo, éster, carboxilato, imidoéster, halógeno o hidroxilo, en una cantidad eficaz para proporcionar a la sustancia propiedades de flujo que permitan inyectar la composición.
- 15 2. Composición según la reivindicación 1 donde el agente es uno o más entre ácido hialurónico, carboximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y goma xantana.
- 20 3. Composición según las reivindicaciones 1 o 2 donde la relación de masa de tropoelastina a agente es de aproximadamente 0,2:1 a aproximadamente 100:1.
- 25 4. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde la composición incluye tropoelastina en una cantidad de 5 a 300 mg/mL.
- 30 5. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde la sustancia que contiene tropoelastina incluye un fragmento de tropoelastina reticulado.
- 35 6. Composición según la reivindicación 1 donde la sustancia está en forma de glóbulos.
- 40 7. Proceso de producción de una composición según la reivindicación 1 que incluye la etapa de coacervar la tropoelastina en una fase líquida en la que hay disuelto un agente de control de la coalescencia en forma de un polisacárido o un derivado de polisacárido.
- 45 8. Proceso según la reivindicación 7 donde la fase líquida tiene un pH de 7 a 13.
9. Proceso según las reivindicaciones 7 o 8 donde la temperatura de la fase líquida es de aproximadamente 37 °C.
- 50 10. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9 donde la fase líquida incluye además sal.
11. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10 donde la fase líquida incluye además un agente reticulante para reticular la tropoelastina coacervada.
12. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11 donde el agente reticulante se añade a la fase líquida después de la coacervación.
13. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 12 que incluye la extrusión de la tropoelastina coacervada a través de una aguja para dispersar la tropoelastina formada en la fase líquida.
14. Proceso de producción de una composición según la reivindicación 1 que incluye la etapa de calentamiento de una tropoelastina en una fase líquida con un pH alcalino y en la que hay disuelto un agente de control de la coalescencia en forma de un polisacárido o un derivado de polisacárido para formar un material elástico.

Figura 1A y 1B

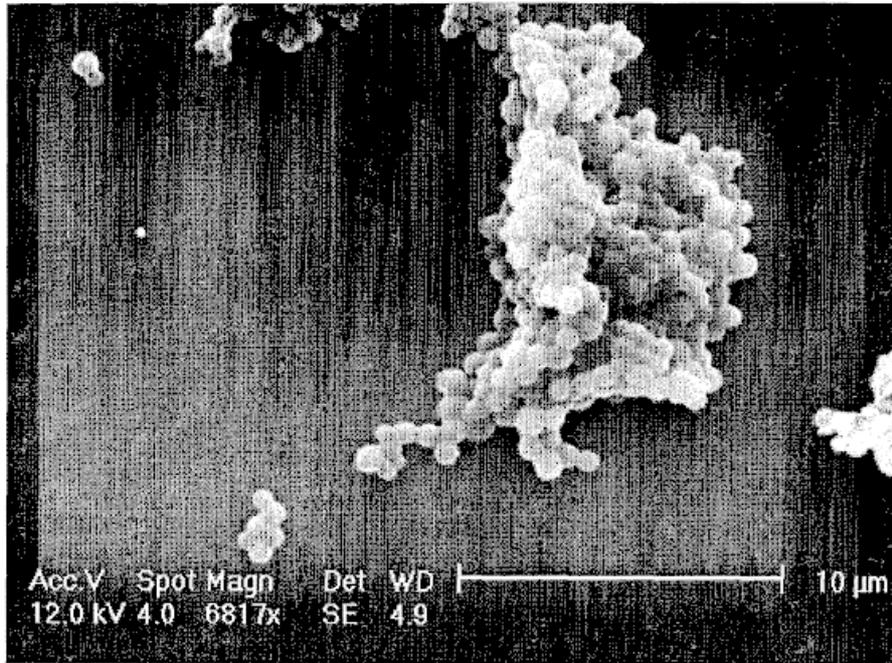


Figura 2

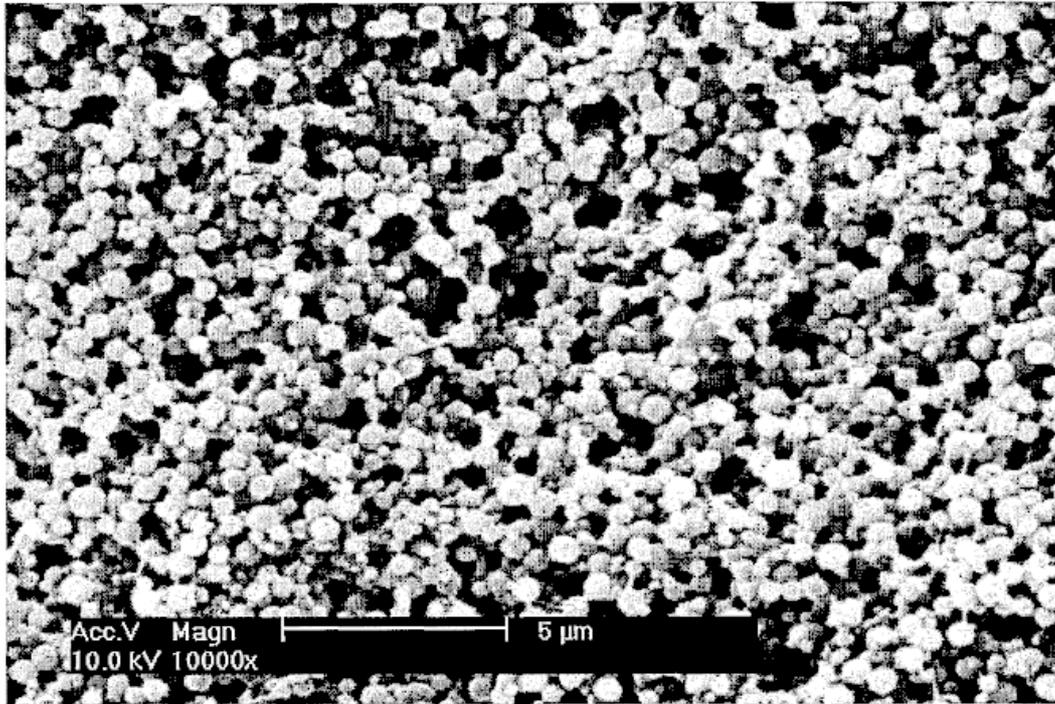


Figura 3

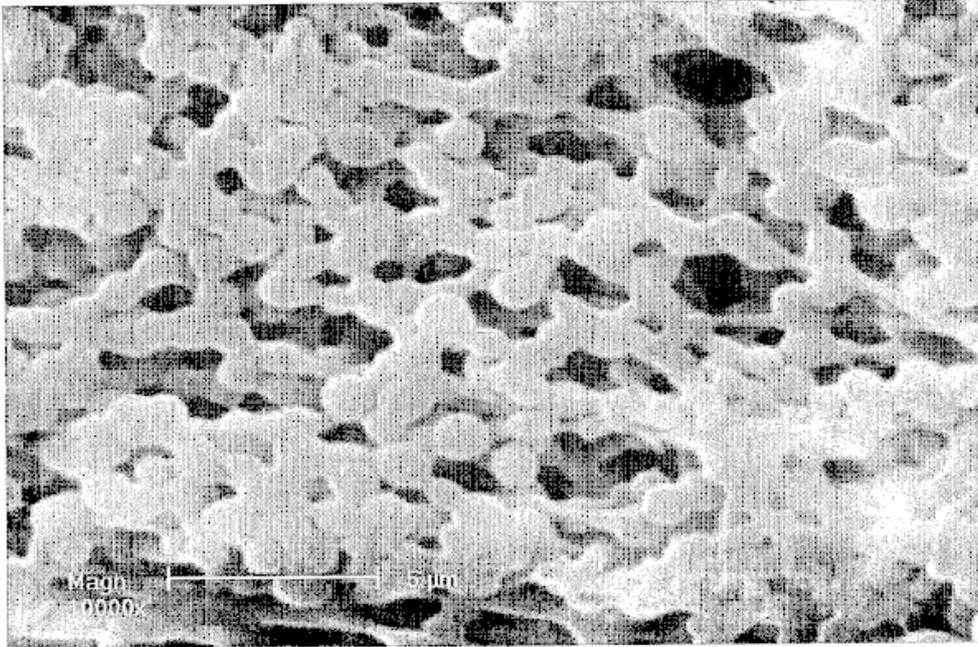


Figura 4A

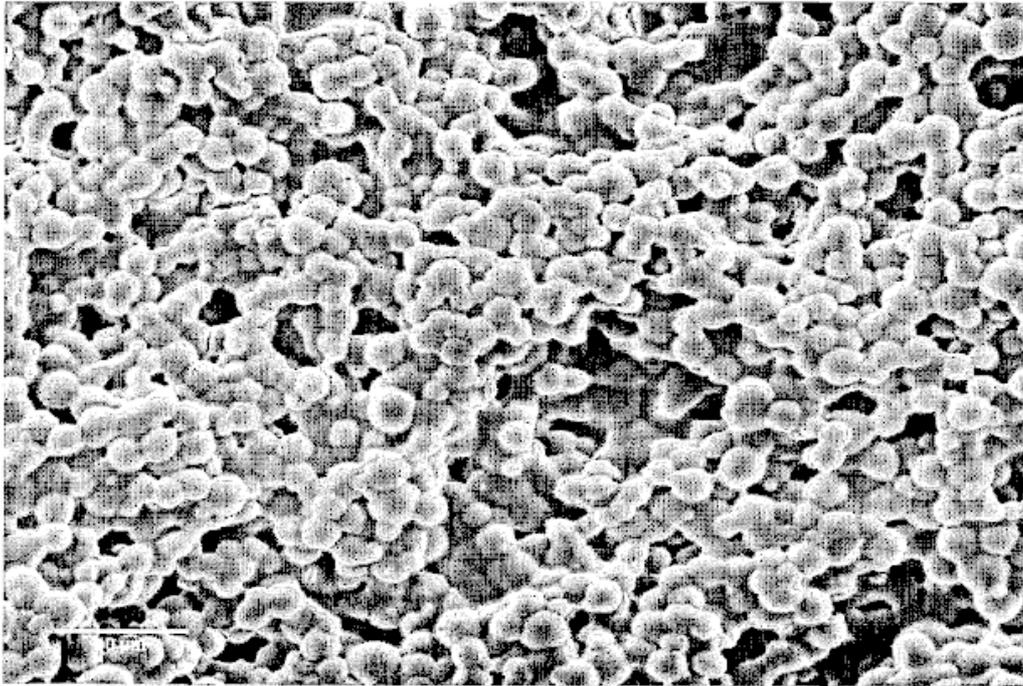


Figura 4B

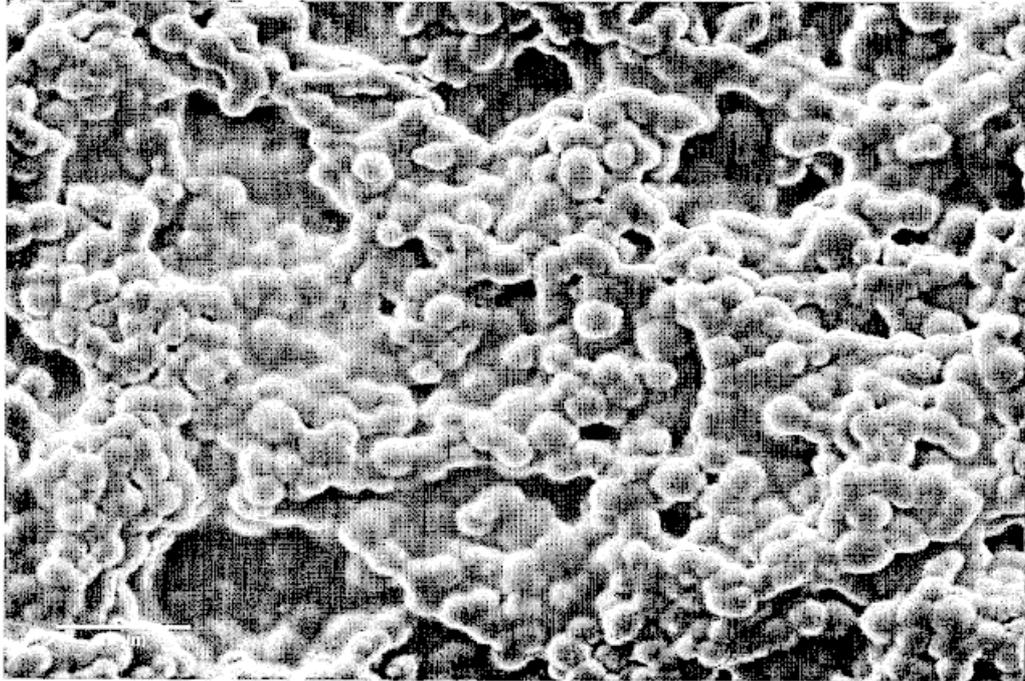


Figura 4C

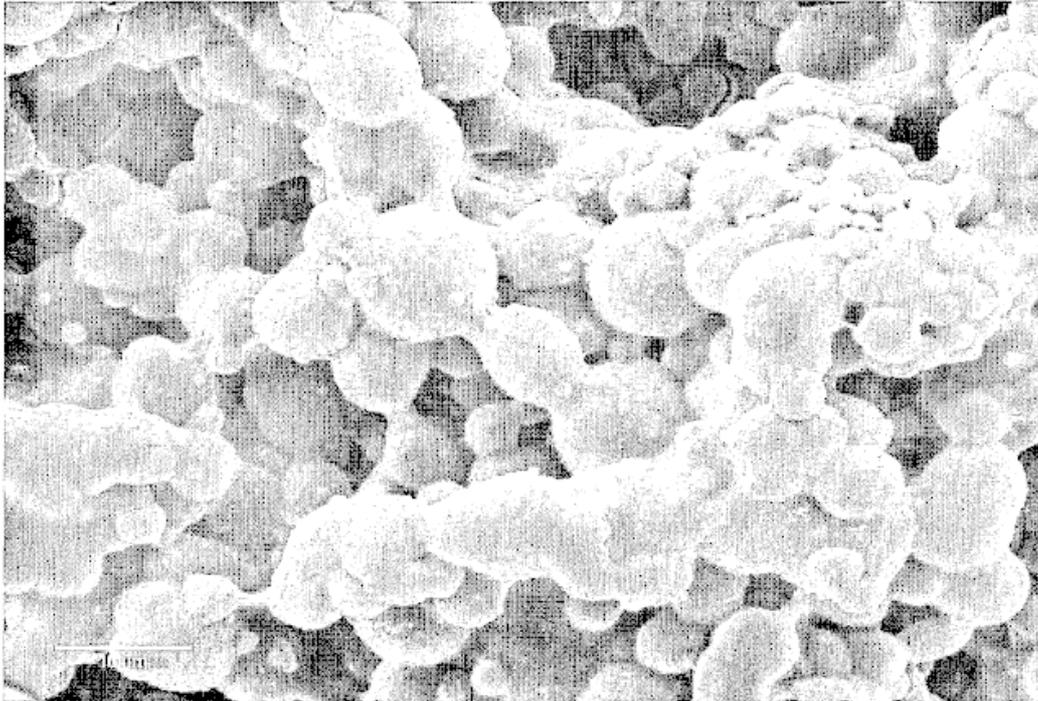


Figura 4D

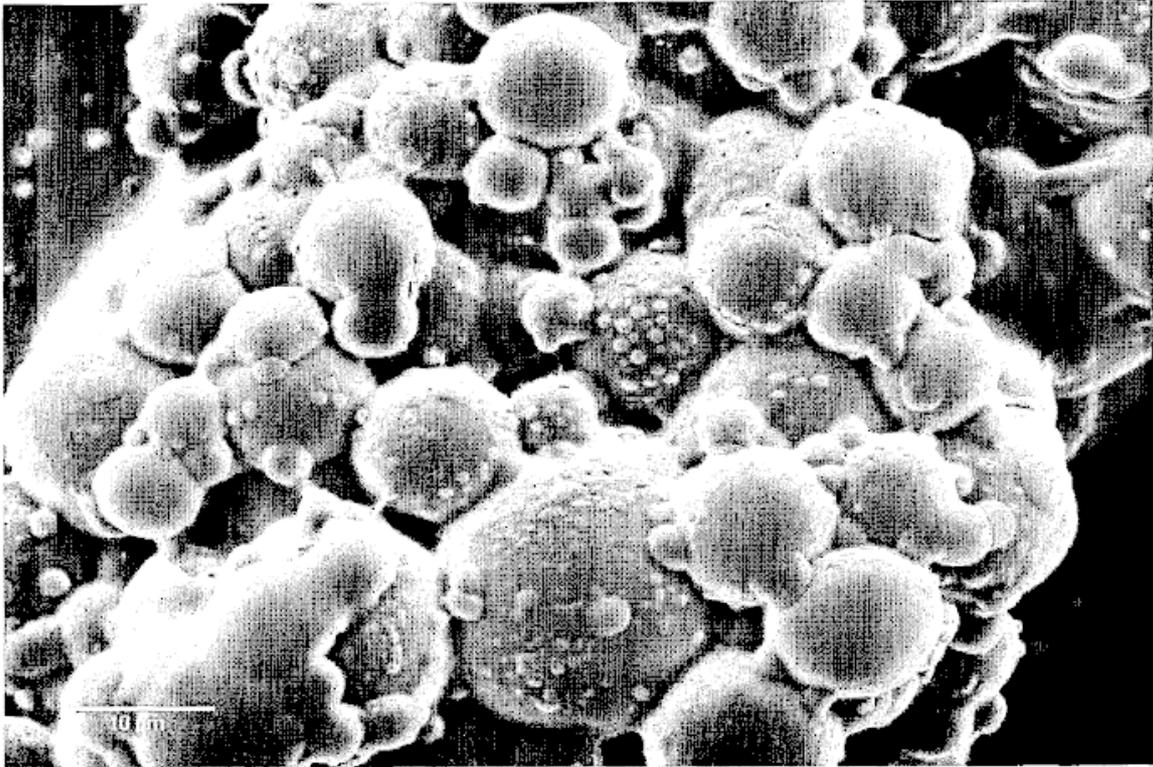


Figura 5

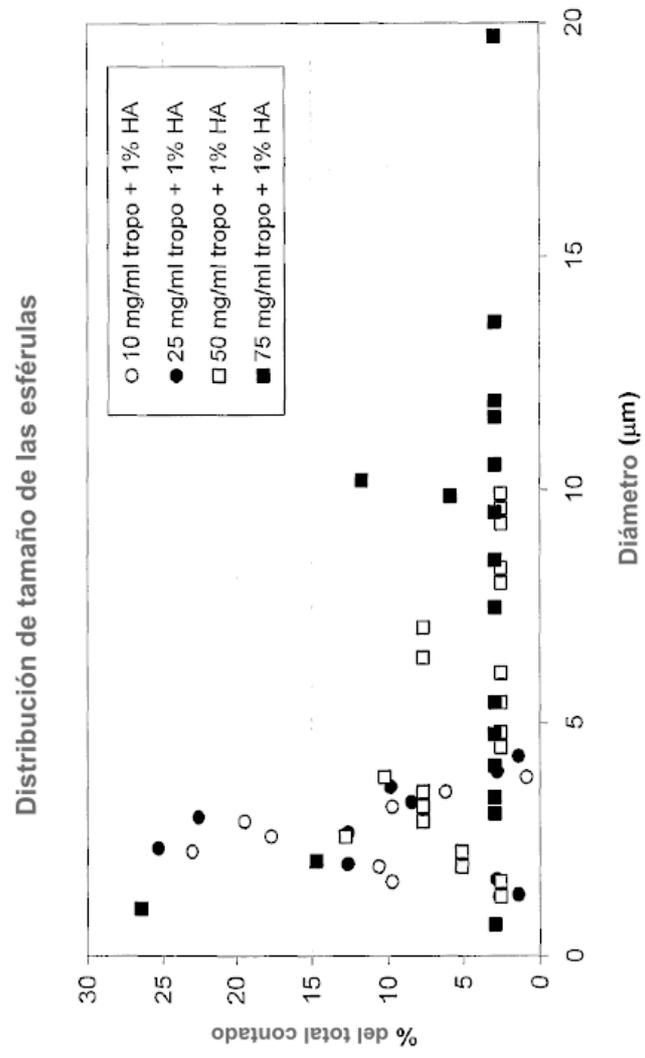


Figura 6A y 6B

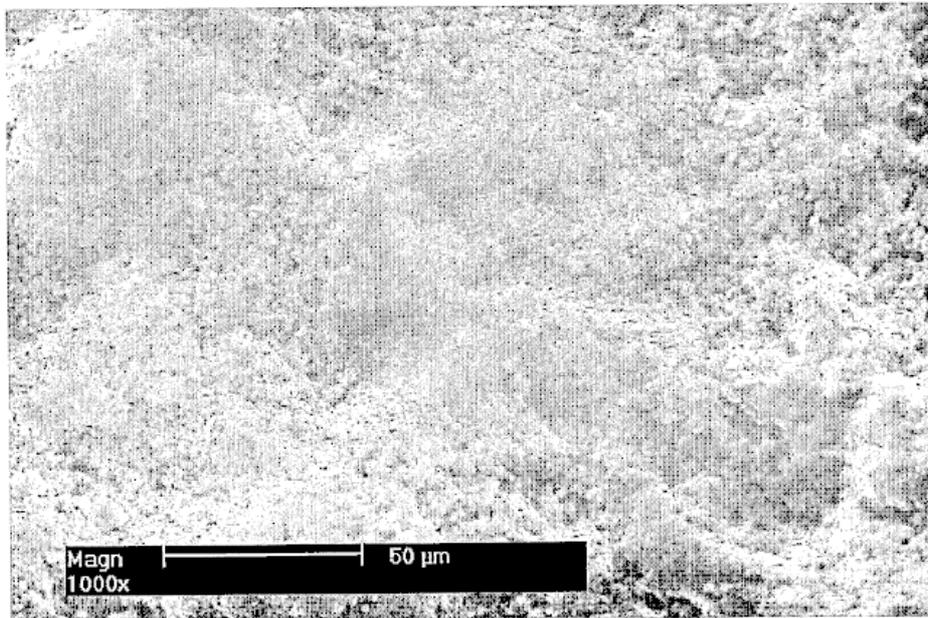
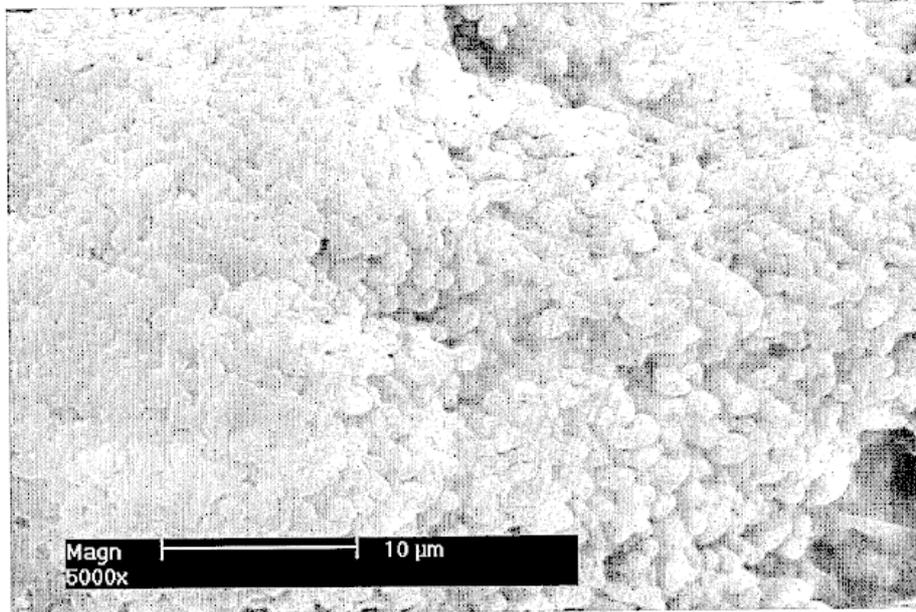


Figura 7A y 7B

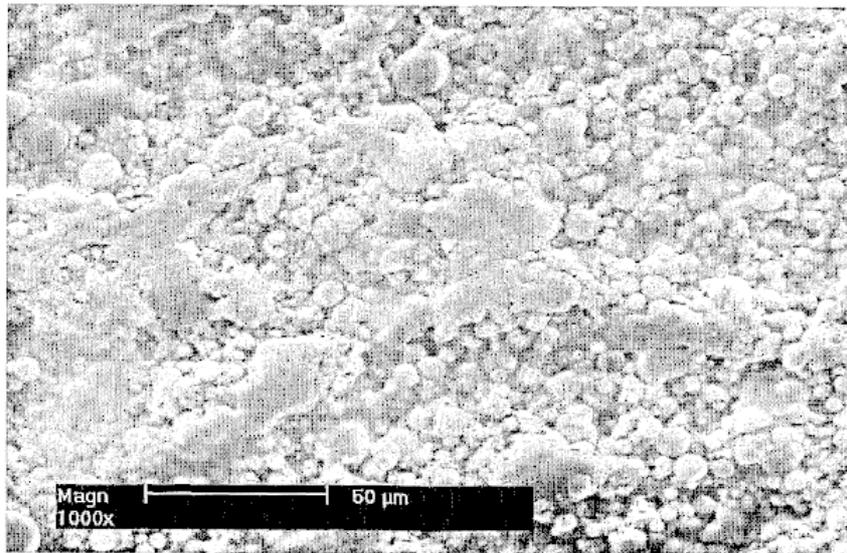
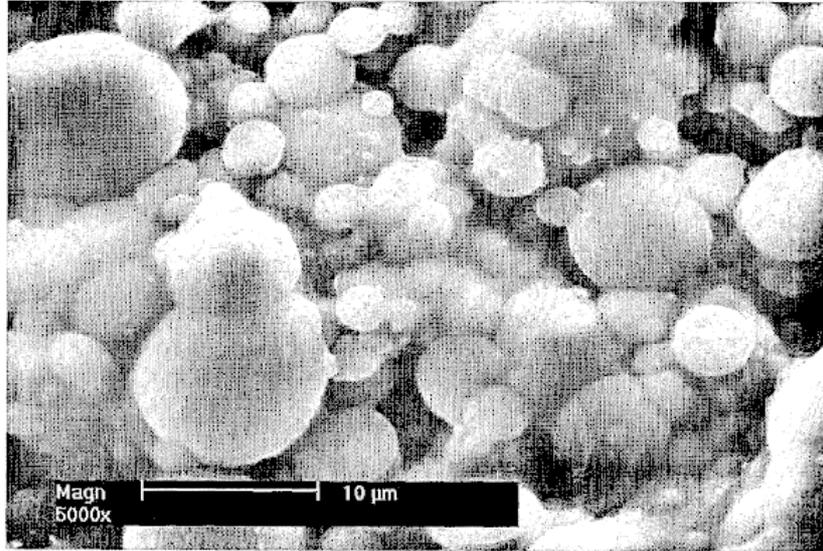


Figura 7C y 7D

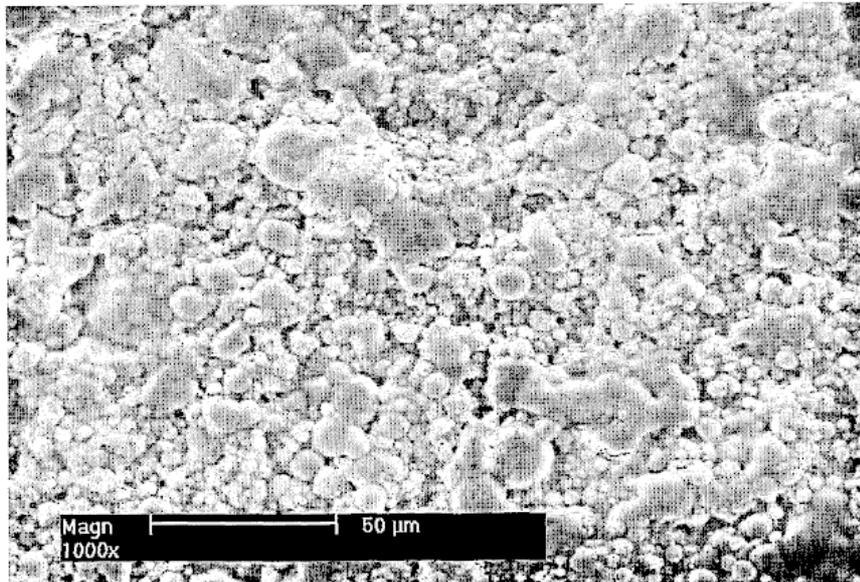
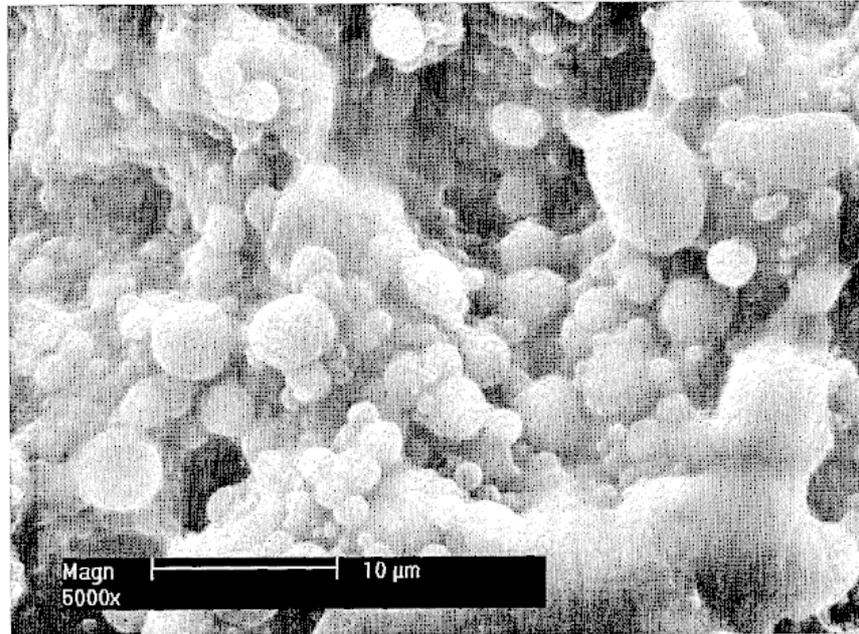


Figura 8A y 8B

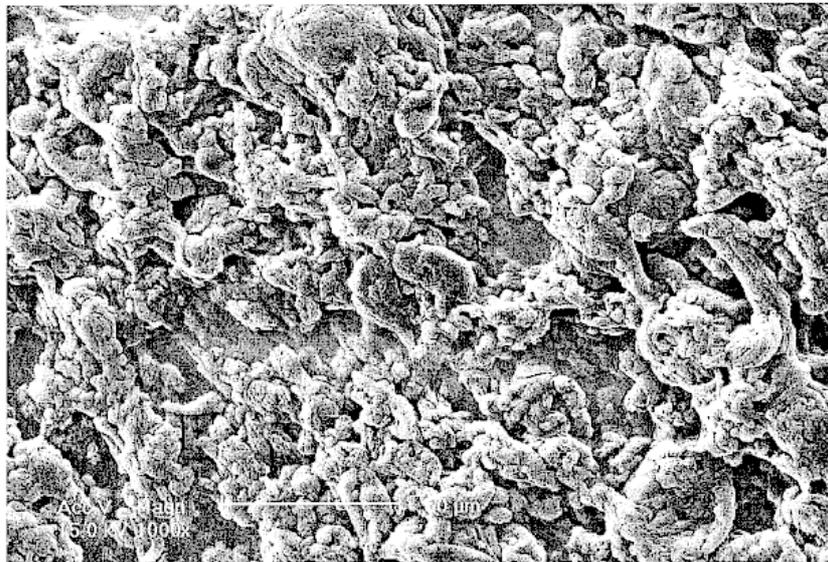
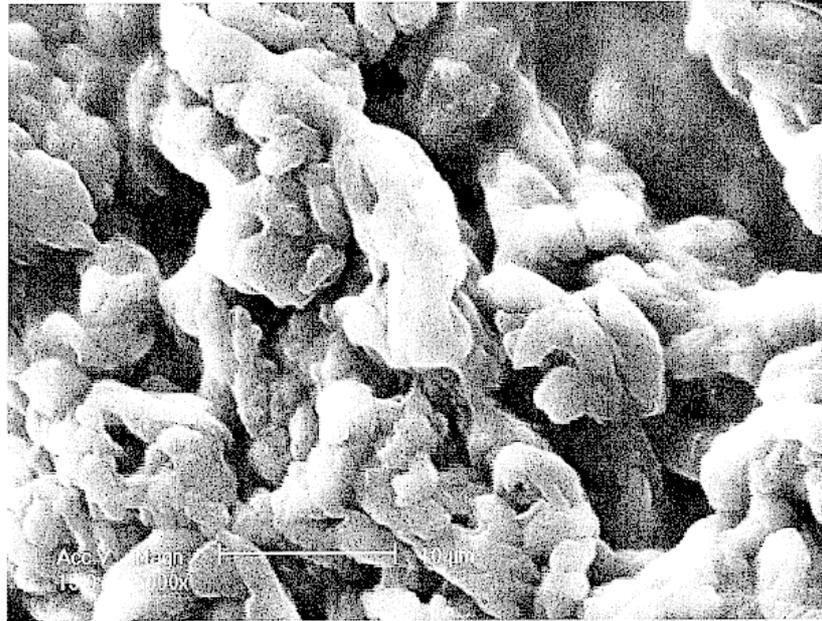


Figura 9A y 9B

