(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 795 671**

(51) Int. CI.:

A61K 38/14 (2006.01)
A61P 41/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.12.2015 PCT/US2015/067521**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **30.06.2016 WO16106389**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.12.2015 E 15874352 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.03.2020 EP 3236987**

(54) Título: **Agente desbridante no enzimático y método de uso del mismo**

(30) Prioridad:

22.12.2014 US 201462095220 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.11.2020

(73) Titular/es:

CMC CONSULTING BOSTON, INC. (100.0%)
1 Grant Street, Suite 400
Framingham, MA 01702, US

(72) Inventor/es:

SANDERS, MITCHELL

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

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

Agente desbridante no enzimático y método de uso del mismo

Campo técnico

Esta invención se refiere al campo del cuidado de heridas, reparación de heridas y regeneración de tejidos. Puede haber aplicaciones dérmicas y médicas adicionales de esta formulación. Las indicaciones principales son el desbridamiento no enzimático de heridas crónicas, heridas agudas y quemaduras. Sin embargo, las aplicaciones secundarias incluyen cirugía reconstructiva y remodelación de tejidos.

Antecedentes de la técnica

Las heridas crónicas a menudo tienen tejido necrótico (escara negra dura y mucosidad amarilla) que tiene la necesidad de ser eliminadas antes de iniciar la curación adecuada de la herida. Los métodos actuales bien adoptados incluyen el desbridamiento enzimático y el desbridamiento quirúrgico agudo. Existen otros métodos que se usan para el desbridamiento, incluido el uso de gusanos de mosca y desbridamiento mecánico (agua a presión, composición biodegradable a base de vidrio que contiene B_2O_3, ondas de ultrasonido y láser). Aunque estos últimos métodos tienen algún mérito técnico, rara vez se usan en el campo y, por lo tanto, no serán el comparador principal para desarrollar métodos innovadores para el desbridamiento de heridas.

Resumen de la invención

Problema técnico

El desbridamiento enzimático se realiza con una proteasa tal como colagenasa, bromelina, seaprosa o papaína. Las desventajas del desbridamiento enzimático incluyen: el tratamiento es costoso ($250 por tubo, $4000 por tratamiento), requiere una receta y el desbridamiento enzimático causa inflamación y molestias significativas. En algunos casos, los pacientes tratados con colagenasa experimentan enrojecimiento (eritema) alrededor del de la herida, irritación significativa en heridas altamente exudativas y, después de un uso prolongado, hipersensibilidad debido a una reacción alérgica leve (prurito).

En el caso del desbridamiento quirúrgico, el procedimiento de quirófano (de sus siglas en inglés, OR) requiere el uso de un bisturí, fórceps y tijeras para raspar el tejido necrótico de la herida. Las principales desventajas del desbridamiento quirúrgico incluyen dolor y el costo asociado con una visita al OR. En un reciente ensayo clínico aleatorizado y controlado doble ciego, se determinó que el desbridamiento quirúrgico único puede ser insuficiente para desbridar y curar heridas crónicas. En el 2014 Fall Symposium for Advanced Wound Care, los líderes de opinión clave recomendaron el uso de colagenasa en combinación con el desbridamiento quirúrgico. Claramente, se requieren métodos nuevos para mejorar la economía de la salud del desbridamiento de heridas crónicas. El método ideal debería costar menos que los métodos preferidos actualmente y mejorar la calidad de vida del paciente mediante el uso de un método que funcione mejor que el desbridamiento enzimático y tenga menos efectos secundarios adversos (por ejemplo, eritema, dolor y prurito reducidos).

Solución al problema

Un novedoso enfoque no enzimático para desbridar heridas crónicas que utiliza un detergente suave no iónico con una alta concentración micelar crítica en combinación con un agente desnaturalizante natural que permite que el material necrótico se desnaturalice y disuelva, lo que después permite que se mezcle apósito avanzado para heridas. El mecanismo de acción implica un proceso de tres etapas para desbridar no enzimáticamente el material de escara necrótico. La primera etapa implica la rehidratación y desnaturalización del material necrótico con un desnaturalizante. Los desnaturalizantes ejemplares incluyen (pero no se limitan a) urea, derivados de urea y/o guanidina HCL. El desnaturalizante también puede contener un péptido mimético que puede romper (reducir) los enlaces disulfuro de cisteínas del tejido necrótico. La segunda etapa implica la solubilización del material desnaturalizado, tal como por ejemplo con un detergente suave con una concentración micelar crítica alta (CMC alta). La CMC alta es ventajosa porque en la etapa tres, este material puede eliminarse fácilmente de la superficie en un apósito para heridas que puede usarse con heridas moderadas a altamente exudativas.

El agente desbridante no enzimático también puede incluir un tampón preferido, pH y fuerza iónica (concentración de sal). Una realización también incluye micro o nano partículas que se ha demostrado que aceleran el tiempo de disolución mediante una suave interrupción mecánica del tejido. En algunos casos, pueden incluirse ácido cítrico y bicarbonato de sodio o bicarbonato de amonio para ayudar en la agitación suave de los principios activos. Una realización incluye el uso de un apósito para heridas moderado a altamente absorbente, tal como un apósito de espuma o hidrocoloide que puede absorber el material de escara disuelto en el borde de la herida. En otra realización, la solución se proporciona en forma líquida con o sin presión para disolver rápidamente la escara. En una tercera realización, la formulación se mezcla en un gel tal como goma xantana, polietilenglicol, xilosa, hidroxietilcelulosa o vaselina para mantener una alta concentración del agente desbridante no enzimático en el sitio requerido para el desbridamiento antes de que se elimine por un apósito de moderado a altamente absorbente. El agente desbridante no enzimático puede usarse en combinación con un vendaje antimicrobiano como sulfadiazina de plata, clorohexadina,

ácido hipocloroso (0,01%) o una formulación de miel de Manuka. También se prevé que este agente podría usarse en combinación con la terapia de heridas de presión negativa (de sus siglas en inglés, NPWT).

Un beneficio de la alta concentración micelar crítica del detergente (>19 mM) es que permite una fácil extracción a través del exudado que pasa a través del apósito. El detergente disocia las proteínas agregadas en la escara y el sedimento, pero no desnaturaliza las proteínas porque no está cargado. Un detergente suave no iónico puede tener un azúcar, péptido u otro esqueleto para mejorar la solubilidad en el fluido de la herida. Los ejemplos de un detergente suave a base de azúcar no iónico incluyen, pero no se limitan a, 6-O-(N-heptilcarbamoil)-metil-α-D-glucopiranosido y metil-6-O-(N-heptilcarbamoil)-α-D-glucopiranosido como HECAMEG. Los péptidos pueden sintetizarse con suaves propiedades similares a detergentes, y estos se conocen comúnmente como peptergentes. Los peptergentes son pequeños péptidos de autoensamblaje con propiedades detergentes que representan una molécula similar a un fosfolípido. Un ejemplo de un peptergente incluye VVVVVD. La valina (V) actúa como una cola no polar. La V_6D se asemeja a una molécula de fosfolípido de aproximadamente 2 nm de longitud. Pueden añadirse peptergentes en combinación con un detergente a base de azúcar para formar micelas mixtas que tienen características de solubilización interesantes. En otra realización, el péptido puede incluir la secuencia PFPQANYITYC en la configuración D para actuar como un sumidero para eliminar la elastasa de neutrófilos humanos que puede reducir la inflamación en una herida crónica. Alternativamente, EGAMFLEAAIPMSK podría agregarse en una configuración D para unir la proteasa bacteriana que puede interferir con la cicatrización de heridas. En otra realización, el péptido tiene un resto similar a un péptido o fosfina que actúa para reducir las cisteínas del material de escara desnaturalizado en un modo de acción similar al ditiotreitol, beta mercatoetanol o tris(2-carboxietil) fosfina (TCEP).

Los detergentes pueden solubilizarse en un desnaturalizante débil tal como urea 50-250 M, guanidina HCL o compuestos de urea derivados de plantas que generalmente se reconocen como seguros (GRAS) y se usan comúnmente en cosméticos.

Efectos ventajosos de la invención

Un agente de desbridamiento de heridas económico, suave y eficaz que utiliza el poder de un desnaturalizante con un detergente suave con una CMC alta para disolver el material de escara en menos de 14 días basado en un sistema de modelo in vitro que utiliza "extremos quemados" de un bistec de carne para demostrar su eficacia. Este tiempo de disolución es 13 días más rápido que el agente de desbridamiento enzimático disponible comercialmente de Smith and Nephew (Santyl®). Se observaron resultados de disolución similares con material de escara humano desbridado afilado.

Esta descripción presenta un método para desbridar una herida con un agente desbridante no enzimático, y el propio agente desbridante de la herida no enzimático. Los principios activos pueden incluir un desnaturalizante, un detergente suave con una alta concentración micelar crítica (CMC) y un tampón fisiológico y reductor optimizado. Los ejemplos del desnaturalizante incluyen urea, guanidina HCL o un derivado sintético derivado de urea o guanidina HCL de animales o plantas. Los ejemplos del detergente incluyen detergentes con un grupo principal glucosídico, que incluyen, pero no se limitan a, alquil β-glucósidos y alquil β-maltosidos, con longitudes de cadena de alquilo que normalmente varían de 8 a 14. El detergente puede estar basado en péptidos (peptergente) pero tiene propiedades similares a detergente, que incluye, pero no se limitan a, VVVVVD. El detergente puede ser una mezcla de componentes glucosídicos y peptergentes. El péptido o la molécula similar al péptido mimético también pueden tener propiedades reductoras de un agente reductor mercaptano o no mercaptano.

El detergente puede tener propiedades similares de ser suave y tener una CMC alta que incluye, entre otros, digitonina, metilglucamidas (MEGA-8 a MEGA-10), polietilenglicol y N,N-dimetildodecilamina-N-óxido (DDAO; también llamado N,N-laurildimetilamina-N-óxido o LDAO). El peptergente puede estar en la configuración D para evitar la proteólisis durante la disolución del material de escara. Alternativamente, el péptido puede usarse para identificar un producto químico con una estructura y características similares de un detergente y desnaturalizante CMC alta. La fórmula del tampón puede incluir un tampón fisiológico neutro tal como ácido N-2-aminoetanosulfónico (ACES), solución salina tamponada con fosfato (PBS) o ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico (MES) a una concentración de, por ejemplo, 10 - 200 mM. La fórmula del tampón también puede incluir cloruro de sodio (NaCl), por ejemplo a 100-200 mM. La fórmula del tampón también puede incluir ácido cítrico y/o bicarbonato de sodio para agitar la solución de exudado para mejorar el tiempo de disolución.

La fórmula del tampón también puede incluir una nano o microfibra, nanocanal o nanoesfera para ayudar en la disolución del material de escara. La fibra puede comprender sílice, gelatina con un alto número de floración, microesferas o materiales cristalinos que incluyen azúcares simples y complejos. La fibra puede comprender nanoesferas o nanocanales de carbonato de calcio de pared simple o múltiple, nanotubos de carbono, Buckminsterfullereno, nanopartículas de oro o plata, dióxido de titanio (TiO_2), o puntos cuánticos, en los que los puntos cuánticos son cristales de tamaño nanométrico de varios elementos (por ejemplo, silicio y germanio, cadmio y selenio).

El agente desbridante puede usarse en un gel o pomada con o sin una cubierta de apósito para heridas. El agente desbridante puede usarse en combinación con una solución, gel o pomada antimicrobiana y antibiótica. Las pomadas incluyen goma xantana, polietilenglicol y pomadas a base de petróleo.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un diagrama de componentes activos de un ejemplo del agente de desbridamiento de heridas no enzimático. Otros componentes activos no se añaden al dibujo por simplicidad.

La Figura 2 ilustra la estructura química de la urea (A) y el clorhidrato de guanidina (B).

La Figura 3 ilustra la estructura química del detergente HECAMEG (A) y el péptido (B) con propiedades similares a los lípidos (VVVVVVK) referido como un peptergente.

La Figura 4 proporciona los resultados de una prueba in vitro de material de escara humano desbridado afilado en comparación con diferentes formulaciones líquidas y de gel del agente desbridante de heridas no enzimático.

La Figura 5 proporciona resultados (tamaño promedio de la herida) de un modelo de porcino de escara blanda utilizado para analizar las formulaciones líquidas y en gel del agente desbridante no enzimático en comparación con un agente desbridante enzimático aprobado por la FDA.

La figura 6 proporciona la proteína total liberada del modelo porcino de la figura 5, para dos formulaciones de la técnica anterior y seis agentes desbridantes no enzimáticos presentes.

Descripción de las realizaciones

Se prevé que habrá al menos tres realizaciones diferentes (formulaciones del producto) del agente desbridante no enzimático sujeto. Uno es un aderezo. La elección del apósito sería un material moderado a altamente absorbente, como una espuma, un apósito hidrocoloide o un apósito biocompuesto. Aunque el apósito actúa para eliminar el material de escara disuelto, se prevé que la terapia de heridas con presión negativa (NPWT) podría ser otro enfoque para eliminar el material de escara. Una segunda realización es una pomada. La pomada probablemente contendría un agente espesante, como vaselina blanca USP, goma xantana o polietilenglicol, por ejemplo. Esta formulación podría usarse en combinación con un vendaje antibiótico o antimicrobiano, solución acuosa, gel, hidrogel o pomada. Sería contraindicado con un apósito de colágeno porque el agente desbridante de la herida no enzimático desnaturalizaría el colágeno. Una tercera realización de la formulación es un enjuague líquido bajo presión para ayudar en la disolución del material de escara. También se incluyen combinaciones de estas realizaciones (por ejemplo, una formulación de gel utilizada bajo un apósito o un apósito que está adaptado para recibir un enjuague de la formulación líquida bajo presión positiva o negativa).

La Figura 1 es un diagrama de componentes activos de un ejemplo del agente de desbridamiento de heridas no enzimático que se puede usar para disolver material de escara. Los principios activos incluyen una cubierta lipídica con una concentración micelar crítica alta 10 para disolver el material de escara y un núcleo desnaturalizante hidrófilo 12 que incluye urea o un desnaturalizante de escara suave similar. Otros componentes activos pueden incluir un tampón fisiológico, sal, bicarbonato, ácido cítrico, un agente reductor, desnaturalizante y/o micro/nano partículas para ayudar en la disolución del material de escara. Los otros componentes activos no se añaden al dibujo por simplicidad.

En la figura 2 son la estructura química de dos desnaturalizantes que pueden usarse en el presente documento: urea (A) e hidrocloruro de guanidina (B). También pueden usarse otros desnaturalizantes sintéticos, derivados de plantas o animales y están dentro del alcance de la presente descripción. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, peróxido de carbamida, alantoína, y hidantoína, tiolurea y dimetilurea.

En la figura 3 se muestran la estructura química del detergente HECAMEG (A) (un detergente a base de glucosa de Enzo Life Sciences, Inc. de Farmingdale, NY, EE. UU.) y un péptido con propiedades similares a los lípidos denominado peptergente (VVVVVVK) (B). Ambos tienen un grupo de cabeza polar y una cola hidrofóbica para que puedan formar micelas. Tanto HECAMEG como los peptergentes son detergentes suaves con una CMC alta que se han utilizado para aislar proteínas unidas a membrana en su conformación nativa para estudios de bioquímica y cristalografía.

El agente desbridante no enzimático podría colocarse sobre la capa absorbente o adhesiva de un apósito para heridas. Alternativamente, el agente desbridante no enzimático podría suministrarse en forma de vaselina o pomada de petróleo. Las pomadas preferidas incluyen goma de xantana (XG), polietilenglicol (PEG) y vaselina. Otra alternativa es aplicarlo como líquido, por ejemplo por aplicación o por pulverización.

Un sistema modelo *in vitro* fue desarrollado para estudiar la disolución del material similar a la escara utilizando extremos quemados de un filete de carne. El filete de carne se cocinó durante 8 horas a 150 °C. Los extremos quemados se cortaron en pequeños pedazos rectangulares y luego se pesaron. Se colocó una pieza quemada que pesaba aproximadamente 250 mg en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml y se incubó con 1 ml de la solución de desbridamiento actual, con rotación suave hasta que el material se disolvió por completo. Se determinó que es posible disolver el material de escara en 7 días, que es 3 veces más rápido que un agente desbridante enzimático aprobado por la FDA (Santyl). Se cree que la formulación del producto no enzimático sujeto es menos costosa, más activa y mucho más suave que los métodos de desbridamiento quirúrgico y enzimático.

La Figura 4 da resultados de una prueba *in vitro* de material de escara humano desbridado afilado en comparación con diferentes formulaciones líquidas y de gel del agente desbridante de heridas no enzimático. El Dr. Tom Serena del Grupo Serena proporcionó amablemente material de escara humano desbridado y afilado fresco. El material se cortó en piezas uniformes y luego se trató con diferentes formulaciones líquidas y de gel del agente desbridante no enzimático. La formulación del agente de desbridamiento no enzimático es 3-10 veces más eficaz y 3 veces más rápido que un agente desbridante enzimático aprobado por la FDA (Santyl).

En la figura 5 se usó un modelo de porcino de escara blanda para probar las formulaciones líquidas y en gel del agente desbridante no enzimático en comparación con un agente desbridante enzimático aprobado por la FDA (Santyl). Los resultados indican que el agente desbridante no enzimático es igualmente eficaz en la curación. La Figura 6 da resultados en términos de la eliminación del material de escara (basado en la liberación de proteínas) en el modelo de escara blanda porcina (Shi et al., 2009: Wound Repair Regen. 2009 Nov-Dic; 17 (6): 853-62). Para medir la liberación de proteínas de los estudios en cerdos, se extrajeron los apósitos para heridas (gasa o apósito Hydrofera Blue de Hollister Woundcare de Libertyville, IL, EE. UU.) con 5 ml de tampón PBS mientras se rotaban durante la noche y después se midió el contenido total de proteínas en un ensayo de unión de colorante con un Bio- Rad Coomassie azul (G-250) (Bradford, 1976).

En las figuras 4-6, "WS" es un acrónimo del agente desbridante de heridas no enzimático utilizado. "LQ" es una versión líquida. "XG" es una versión de goma xantana, "PEG" es una versión con PEG y "HEC" es una versión con hidroxietilcelulosa. Las formulaciones utilizadas para recopilar los datos se describen a continuación.

Formulaciones

La forma líquida incluye Hecameg 50-250 mM, Urea 100-500 mM, NaCl 5-250 mM, ACES (ácido N-(2-Acetamido)-2-Aminoetano Sulfónico)10-200 mM, y TCEP (Clorhidrato de tris(2-carboxietil)fosfina) 1-10 mM. Los componentes se mezclan en agua estéril, después se filtran estéril en un gabinete de bioseguridad. Se coloca la punta de una jeringa estéril en el líquido y se tira del émbolo hasta que la cantidad deseada esté en la jeringa y después se tapa la jeringa y se coloca el soporte en el émbolo. Se llenan las jeringas en el gabinete de bioseguridad para garantizar la esterilidad.

Las formulaciones de gel incluyen una de las siguientes pomadas: goma xantana al 1-20%, polietilenglicol (60% de PEG 400, 40% de PEG 3500) al 10-30%, hidroxietilcelulosa (HEC) al 1-10% o petróleo gelatina (vaselina blanca) al 10-30%. Las formulaciones de gel se esterilizan por esterilización gamma de 25 kGa.

Aplicabilidad industrial

Un nuevo agente de desbridamiento de heridas no enzimático basado en una formulación patentada para disolver material de escara. El agente es lo suficientemente suave y económico como para incorporarlo en un apósito avanzado para heridas. Las claras ventajas industriales sobre el desbridamiento de heridas enzimáticas o quirúrgicas incluyen, pero no se limitan a: formulación patentada, menos dolorosa que el desbridamiento agudo, menos costosa que el desbridamiento enzimático, no es un medicamento sino un apósito impregnado de detergente, ruta reglamentaria sugerida en los EE. UU.: Dispositivo médico de clase IIB.

Se han descrito varias implementaciones. No obstante, se entenderá que pueden realizarse modificaciones adicionales sin apartarse del alcance de los conceptos de la invención descritos en el presente documento y, en consecuencia, otras realizaciones están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un agente desbridante de heridas no enzimático, que comprende:

un desnaturalizante;

un detergente suave con una concentración micelar crítica > 19 mM; y

opcionalmente comprende además un tampón optimizado.

2. El agente desbridante de heridas no enzimático de la reivindicación 1, en el que el desnaturalizante comprende uno o más de urea, guanidina HCL o un derivado sintético derivado de urea o guanidina HCL de animales o plantas.

3. El agente desbridante de heridas no enzimático de la reivindicación 1, en el que el detergente comprende un grupo de cabeza glucosídico que comprende uno o más de alquil β-glucósidos y alquil β-maltosidos, con longitudes de cadena de alquilo que varían de 8 a 14.

4. El agente desbridante de heridas no enzimático de la reivindicación 1, en el que el detergente comprende un péptido basado en peptergentes que tiene propiedades similares a las de los detergentes.

5. El agente desbridante de heridas no enzimático de la reivindicación 1, en el que el detergente comprende un grupo de cabeza glucosídico que comprende uno o más de alquil β-glucósidos y alquil β-maltosidos, con longitudes de cadena de alquilo que varían de 8 a 14, y un péptido basado en peptergentes que tiene detergente como propiedades.

6. El agente desbridante de heridas no enzimático de la reivindicación 1, en el que el detergente comprende uno o más de digitonina, HECAMEG, metilglucamidas (MEGA-8 a MEGA-10), polietilenglicol y N,N-dimetildodecilamina-N-óxido (DDAO; también llamado N,N-laurildimetilamina-N-óxido o LDAO).

7. El agente desbridante de heridas no enzimático de la reivindicación 6, en el que el detergente está en la configuración D para inhibir la proteólisis durante la disolución del material de escara.

8. El agente desbridante de heridas no enzimático de la reivindicación 1, que comprende además un tampón fisiológico neutro que comprende uno o más de ácido N-2-aminoetanosulfónico (ACES), solución salina tamponada con fosfato (PBS) y ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico (MES) a una concentración de 10-200 mM.

9. El agente desbridante de heridas no enzimático de la reivindicación 8, en el que el tampón además comprende uno o más de: cloruro de sodio (NaCl) 100-200 mM, ácido cítrico y/o bicarbonato de sodio para agitar la solución de exudado para mejorar el tiempo de disolución, y una nano o micro fibra para ayudar en la disolución del material de escara, en el que la fibra comprende uno o más de sílice, gelatina con un alto número de floración, microesferas o materiales cristalinos que incluyen azúcares simples y complejos, uno o más de un nanotubo de carbono de una o varias paredes, Buckminsterfullereno, nanopartículas de oro o plata, dióxido de titanio (TiO_2), o punto cuántico, en el que los puntos cuánticos son cristales de tamaño nanométrico de varios elementos como silicio y germanio, cadmio y selenio.

10. El agente desbridante de heridas no enzimático según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además un gel o pomada, con o sin una cubierta de apósito para heridas.

11. El agente desbridante de heridas no enzimático según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además una solución, gel o pomada antimicrobiana y antibiótica, donde el gel o pomada comprende goma xantana, polietilenglicol o es a base de petróleo.

12. El agente desbridante de heridas no enzimático de la reivindicación 11, donde la solución, gel o pomada además comprende un agente reductor no mercaptano que comprende un péptido o una molécula similar a un péptido.

13. El agente desbridante de heridas no enzimático de la reivindicación 12, donde el detergente comprende un resto disulfuro reductor no mercaptano.

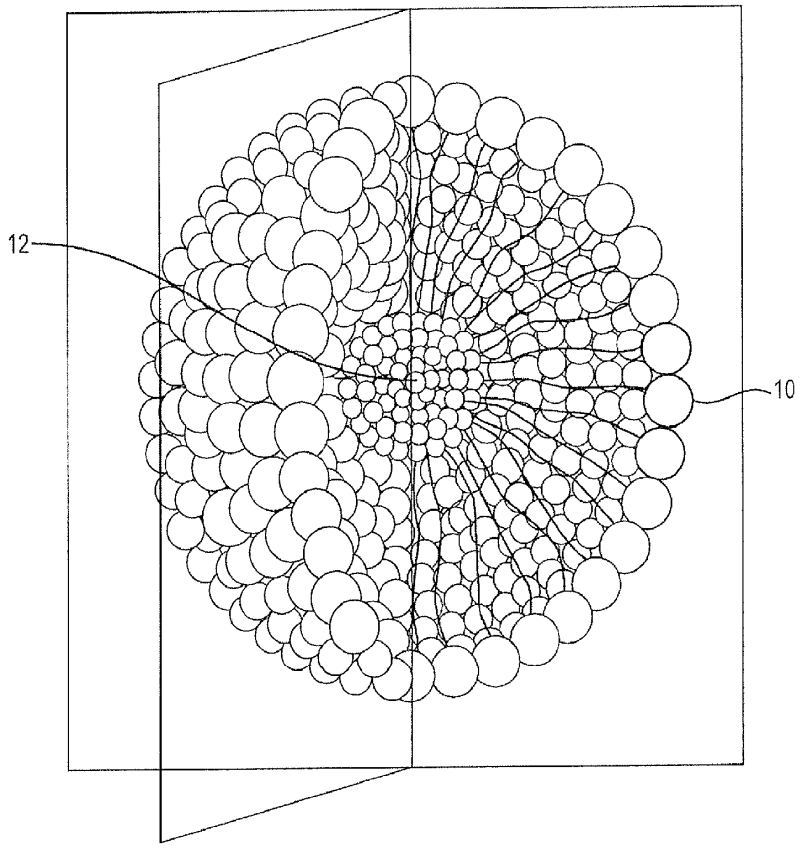

FIG. 1

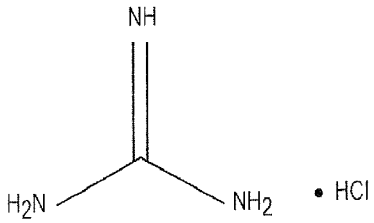

FIG. 2A

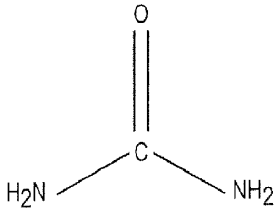

FIG. 2B

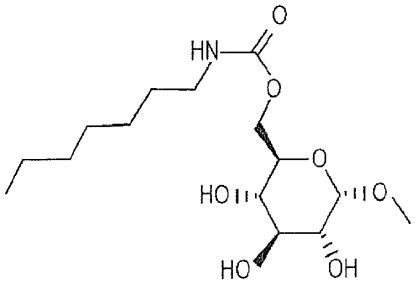

FIG. 3A

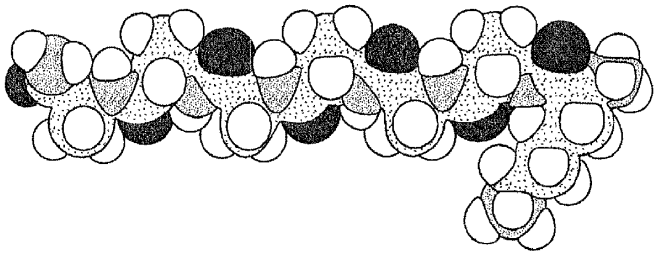

FIG. 3B

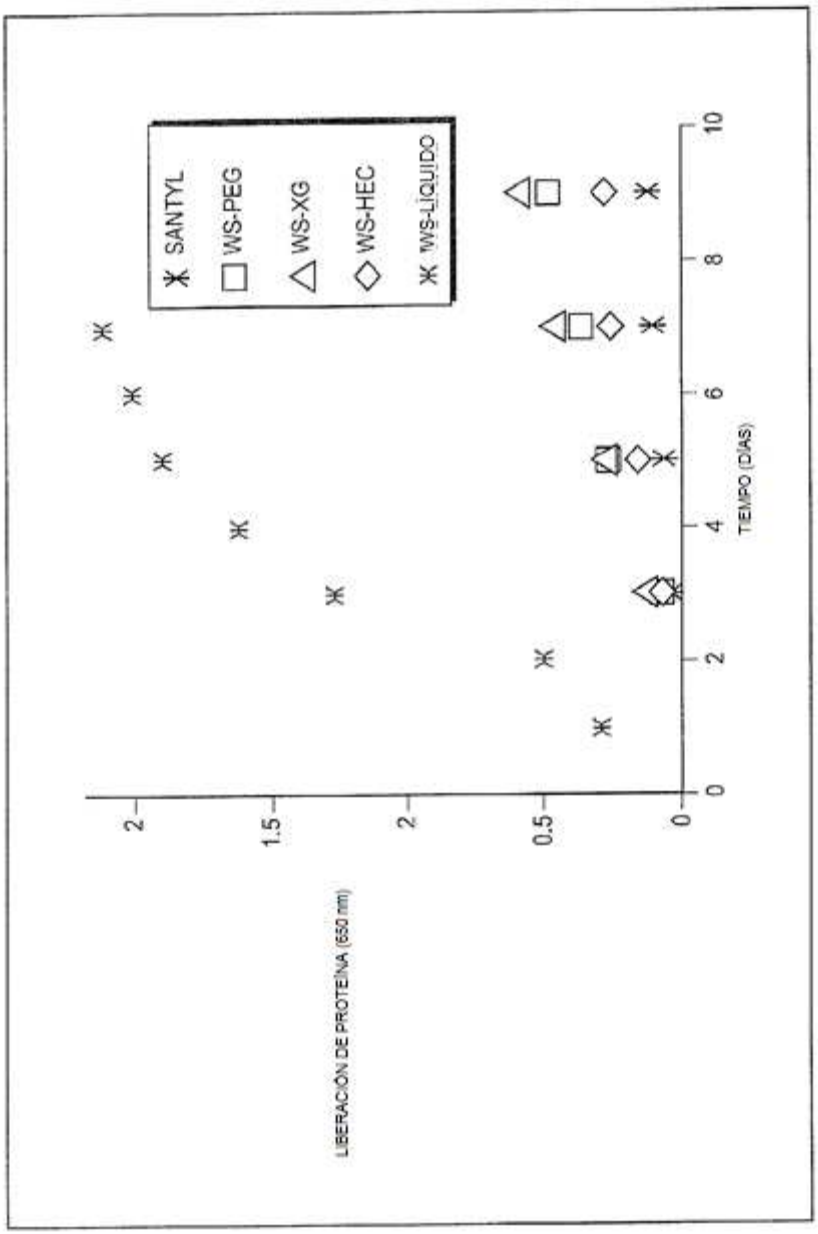
SANTYL
WS-PEG
WS-XG
WS-HEC
WS-LIQUIDO
LIBERACIÓN DE PROTEÍNA (650 nm)
TIEMPO (DÍAS)
0
0.5
2
1.5
2
0
2
4
6
8
10

FIG. 4

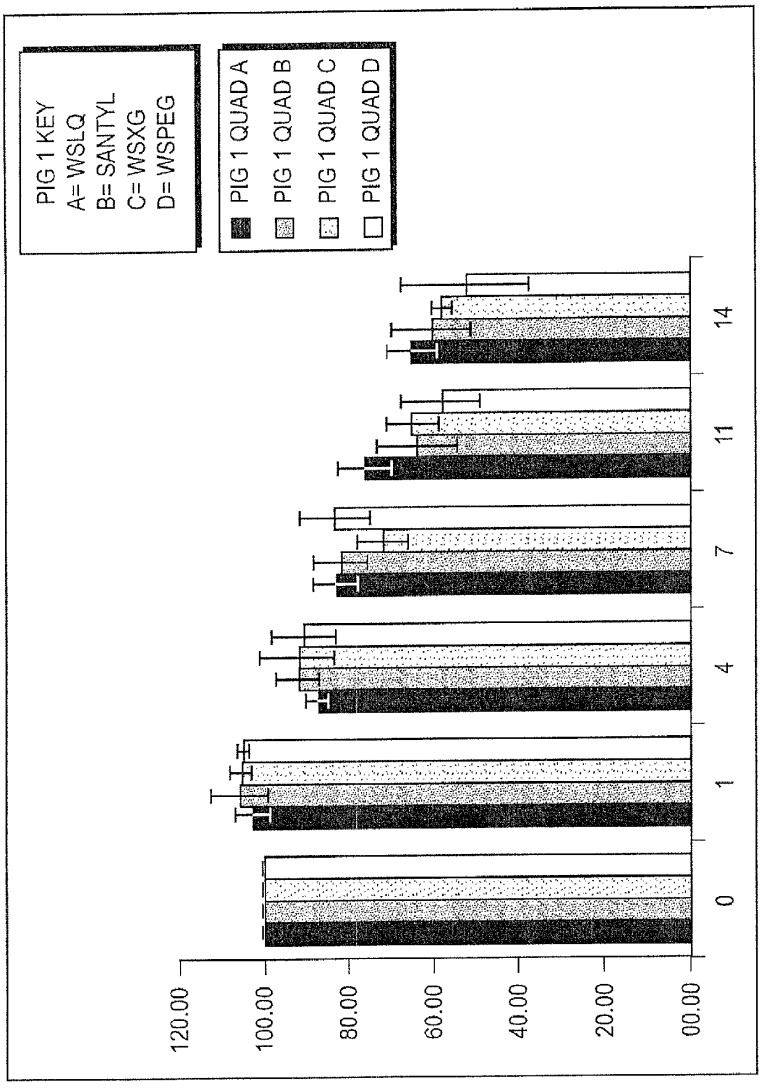
PIG 1 KEY
A= WSLQ
B= SANTYL
C= WSXG
D= WSPEG
PIG 1 QUAD A
PIG 1 QUAD B
PIG 1 QUAD C
PIG 1 QUAD D
120.00
100.00
80.00
60.00
40.00
20.00
00.00
0
1
4
7
11
14

FIG. 5

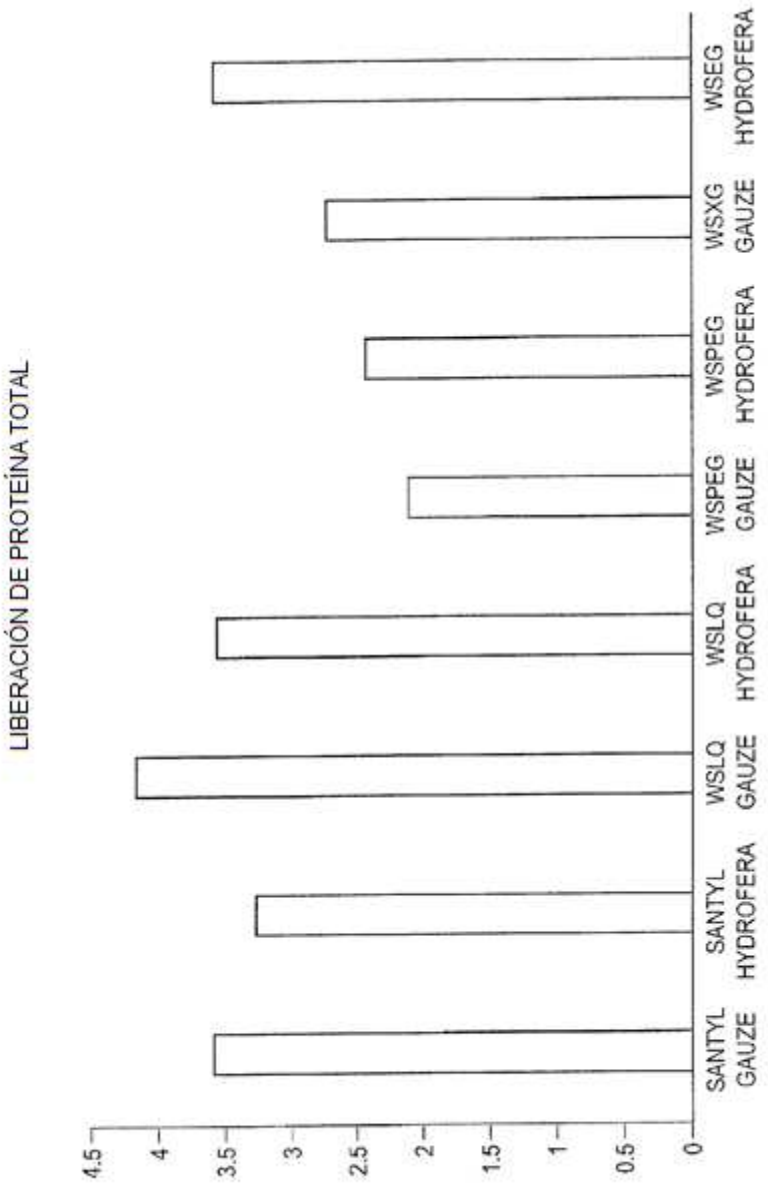
LIBERACIÓN DE PROTEÍNA TOTAL
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
SANTYL GAUZE
SANTYL HYDROFERA
WSLQ GAUZE
WSLQ HYDROFERA
WSPEG GAUZE
WSPEG HYDROFERA
WSXG GAUZE
WSEG HYDROFERA

FIG. 6