

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 960 795**

51 Int. Cl.:

**A61L 27/20** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.10.2018 PCT/CN2018/110016**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.03.2020 WO20056815**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.10.2018 E 18934139 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.08.2023 EP 3854423**

54 Título: **Material de reparación de dermis artificial y método de preparación del mismo**

30 Prioridad:

**19.09.2018 CN 201811096057**

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

**06.03.2024**

73 Titular/es:

**SHENZHEN TSINGCARE MEDICAL  
INSTRUMENTS CO., LTD. (100.0%)  
Unit 2A, Building B6, China Merchants  
Guangming, Science and Technology Park,  
Guangming New District  
Shenzhen, Guangdong 518107, CN**

72 Inventor/es:

**WANG, DANYAN;  
TAN, RONGWEI;  
SHE, ZHENDING;  
GUO, YUANJUN;  
LIU, XI;  
XU, MENGQIANG y  
CHEN, YINGYING**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 960 795 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

Material de reparación de dermis artificial y método de preparación del mismo

5 **Campo técnico**

La presente divulgación se refiere al campo de los instrumentos médicos y al campo de la regeneración de la ingeniería de tejidos y, en particular, a un material de reparación dérmica artificial y un método de preparación del mismo.

10 **Antecedentes**

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano y puede proteger el cuerpo de sustancias nocivas del exterior, evitar la pérdida de agua, electrolitos y similares del cuerpo, mantener la estabilidad de un entorno interno del cuerpo humano, y participar en los procesos inmunitarios y metabólicos del cuerpo humano. Defectos del tejido de la piel causados por quemaduras, enfermedades, trauma físico, enfrentamientos y similares afectan la calidad de vida de las personas e incluso amenazan vidas. De acuerdo con un informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (enero de 2018), 180.000 personas mueren de quemaduras en todo el mundo cada año. En 2004, casi 11 millones de personas en todo el mundo sufrieron quemaduras graves y requirieron atención médica. En 2000, el gasto médico directo en quemaduras para niños en Estados Unidos superó los 211 millones \$. En 2007, el gasto en gestión de quemaduras hospitalarias en Noruega superó los 10,5 millones €. Pérdidas indirectas tales como salarios perdidos, la atención a largo plazo para discapacidades y traumas psicológicos, y los recursos domésticos invertidos también han exacerbado el impacto en la sociedad y la economía. Cuando la piel está dañada en un área grande o gravemente, la piel no puede repararse a sí misma y necesita ser reparada mediante injertos de piel/colgajos de piel o trasplante dérmico sustituto. En la actualidad, los sustitutos dérmicos para tratar la superficie de una herida incluyen principalmente dermis artificial (hecha de materiales biológicos y sintéticos), dermis natural alogénica o xenogénica (tratada por descelularización), dermis activa de ingeniería tisular (como Apligraf®, IERFU®), etc. Los productos sustitutos dérmicos artificiales no tienen limitación en cuanto a fuentes materiales y éticas, tienen bajo riesgo de infección por virus, son fáciles de almacenar y transportar, se pueden producir en lotes, tienen producción cada vez más madura, seguridad y control de calidad, y tienen bajo costo, ocupando de este modo gradualmente la corriente principal del desarrollo del mercado.

El colágeno, como el material biológico más comúnmente utilizado, es muy utilizado para preparar pieles artificiales. Por ejemplo, tanto la dermis artificial Integra® como Lando® que han sido aprobadas para su comercialización utilizan materiales de colágeno-glicosaminoglicano (GAG) y se utilizan clínicamente para quemaduras profundas y defectos de la piel de espesor total. La patente de EE. UU. 20160143726 A1 divulga un método para preparar una estructura soporte de colágeno-GAG-elastina, y el proceso de preparación del mismo incluye preparar una solución de complejo de colágeno-GAG-elastina, liofilizar la solución compleja en una estructura de soporte porosa y, a continuación, realizar la reticulación. Estas estructuras de soporte se pueden utilizar en los campos médicos y quirúrgicos, tales como la reconstrucción del tejido dérmico. Sin embargo, los sustitutos dérmicos artificiales existentes todavía no pueden cumplir con los requisitos de los sustitutos dérmicos ideales y tienen problemas, tales como vascularización, infección de heridas y similares en aplicaciones clínicas. Por lo tanto, es necesario inventar materiales con mejores propiedades físicas y propiedades antibacterianas para su uso en el campo de la ingeniería de tejidos de la piel.

45 **Sumario**

Un problema técnico para resolver por la presente divulgación es proporcionar un material de reparación dérmica artificial y un método de preparación del mismo. El material de reparación dérmica artificial preparado tiene buenas propiedades físicas y propiedades antibacterianas, y es aplicable en el campo de la ingeniería de tejidos de la piel.

50 La presente divulgación adopta soluciones técnicas como sigue.

La presente divulgación proporciona un material de reparación dérmica artificial, que incluye una capa de caucho de silicona y una capa de complejo de colágeno unidas entre sí. La capa de complejo de colágeno se prepara con materias primas que incluyen colágeno, glicosaminoglicano, y un agente antibacteriano por una reacción de reticulación.

55 La capa de caucho de silicona incluye una primera capa de caucho de silicona, una segunda capa intermedia de caucho de silicona en forma de malla y una tercera capa de caucho de silicona que se proporcionan en secuencia. La resistencia a la tracción de la segunda capa intermedia de caucho de silicona en forma de malla es mayor que la resistencia a la tracción de la primera capa de caucho de silicona y la resistencia a la tracción de la tercera capa de caucho de silicona.

60 En algunas realizaciones más preferidas, la resistencia a la tracción de la primera capa de caucho de silicona y/o la tercera capa de caucho de silicona es inferior a 2 MPa. La resistencia a la tracción de la segunda capa intermedia de caucho de silicona en forma de malla es superior a 10 MPa.

65 En algunas realizaciones preferidas, la capa de complejo de colágeno tiene una estructura porosa en gradiente.

Además, los tamaños de los agujeros en la estructura porosa en gradiente se distribuyen en forma de gradiente, y el tamaño de un agujero aumenta de 50 µm a 250 µm.

5 En algunas realizaciones preferidas, las materias primas incluyen de un 73 % a un 97 % del colágeno, de un 2 % a un 15 % del glicosaminoglicano, y de un 1 % a un 12 % del agente antibacteriano.

En algunas realizaciones preferidas, las materias primas incluyen de un 78 % a un 93 % del colágeno, de un 3 % a un 10 % del glicosaminoglicano, y de un 4 % a un 12 % del agente antibacteriano.

10 En algunas realizaciones preferidas, el glicosaminoglicano es sulfato de condroitina o ácido hialurónico.

En algunas realizaciones preferidas, el agente antibacteriano es al menos uno seleccionado del grupo que consiste en polihexametileno biguanida (PHMB), lisozima y lisostafina.

15 En algunas realizaciones preferidas, al menos una de la capa de caucho de silicona y la capa de complejo de colágeno está provista de una pluralidad de agujeros.

En algunas realizaciones más preferidas, los diámetros de los agujeros en la capa de caucho de silicona están en un intervalo de 50 µm a 1.000 µm. La separación de los agujeros está en un intervalo de 0,5 mm a 10 mm.

20 En algunas realizaciones más preferidas, los diámetros de los agujeros en la capa de complejo de colágeno están en un intervalo de 50 µm a 500 µm. La separación de los agujeros está en un intervalo de 0,5 mm a 5 mm.

En algunas realizaciones preferidas, la capa de complejo de colágeno tiene un espesor de 1 mm a 3 mm.

25 En algunas realizaciones preferidas, la capa de caucho de silicona tiene un espesor de 0,2 mm a 0,3 mm.

La presente divulgación proporciona además un método para preparar el material de reparación dérmica artificial como se ha descrito anteriormente, que incluye:

30 preparación de una capa de complejo de colágeno, que incluye:

disolver glicosaminoglicano en un disolvente para obtener una solución de glicosaminoglicano y disolver colágeno en un disolvente para obtener una solución de colágeno;

35 mezclar la solución de glicosaminoglicano y la solución de colágeno, realizar la centrifugación y recoger un precipitado, y volver a disolver el precipitado añadiendo ácido acético para obtener una solución de complejo de colágeno-glicosaminoglicano; y

40 añadir un agente reticulante y un agente antibacteriano a la solución del complejo colágeno-glicosaminoglicano, realizar un secado por congelación y, a continuación, realizar una reacción de reticulación en condiciones de vacío, para obtener la capa de complejo de colágeno;

preparar una capa de caucho de silicona,

45 unir la capa de complejo de colágeno y la capa de caucho de silicona, y

preparar opcionalmente un agujero en al menos una de la capa de complejo de colágeno y la capa de caucho de silicona.

50 En algunas realizaciones preferidas, la reacción de reticulación se realiza además en condiciones de vacío a alta temperatura de 100 °C a 120 °C.

La preparación de la capa de caucho de silicona incluye: mezclar y curar materiales de un primer caucho de silicona para formar la primera capa de caucho de silicona; mezclar materiales de un segundo caucho de silicona para formar una solución mixta, preparar una capa en forma de malla sobre la primera capa de caucho de silicona con la solución mixta utilizando un dispensador y realizar el curado para formar una segunda capa intermedia de caucho de silicona en forma de malla; y nivelar los materiales de un tercer caucho de silicona sobre una superficie de la segunda capa intermedia de caucho de silicona en forma de malla, y realizar el curado para formar una tercera capa de caucho de silicona. La resistencia a la tracción de los materiales del segundo caucho de silicona después de la formación de la película es mayor que la resistencia a la tracción de los materiales del primer caucho de silicona y la resistencia a la tracción de los materiales del tercer caucho de silicona después de la formación de la película.

65 En algunas implementaciones preferidas, el ácido acético tiene una concentración de 0,03 M a 0,1 M.

En algunas realizaciones preferidas, la realización de la liofilización incluye: realizar la congelación en un entorno de

baja temperatura, recocido durante 5 min a 10 min y, a continuación, congelar en un ambiente de baja temperatura y, a continuación, liofilizar en un liofilizador.

5 En realizaciones preferidas adicionales, el ambiente de baja temperatura tiene una temperatura en un intervalo de -50 °C a 70 °C.

En algunas realizaciones preferidas, el agente de reticulación es uno seleccionado del grupo que consiste en glutaraldehído, genipina y carbodiimida.

10 En algunas realizaciones preferidas, el agente de reticulación representa la solución del complejo de colágeno-glicosaminoglicano en un intervalo de masa del 0,005 % al 0,015 %.

15 En algunas realizaciones preferidas, la solución de glicosaminoglicano se agrega a la solución de colágeno para mezclar mediante atomización con flujo de aire de alta velocidad.

En algunas realizaciones preferidas, los agujeros pueden prepararse por cualquiera de perforación con láser, perforación física y liofilización en agujeros en un molde especial con protuberancias dispuestas regularmente en su parte inferior.

20 En algunas realizaciones preferidas, la capa de complejo de colágeno y la capa de caucho de silicona están unidas por gel de silicona.

Los efectos beneficiosos logrados por la presente divulgación son:

25 En el material de reparación dérmica artificial proporcionado por la presente divulgación, la capa de goma de silicona tiene alta resistencia, alta elasticidad y suavidad, es fácil de suturar y tiene un buen rendimiento de ajuste. La capa de complejo de colágeno es beneficiosa para el crecimiento de fibroblastos, las células endoteliales y capilares, y tiene buena biocompatibilidad, degradabilidad y propiedad antibacteriana, que es aplicable para la reparación y reconstrucción del tejido dérmico.

30 **Breve descripción de los dibujos**

35 La FIG. 1 es una imagen de microscopio de fuerza atómica (AFM) de un complejo de colágeno-sulfato de condroitina en el Ejemplo 1.

La FIG. 2 es una imagen de microscopio electrónico de barrido (SEM) del complejo de colágeno-sulfato de condroitina en el Ejemplo 1.

40 La FIG. 3 es una imagen de SEM que muestra una sección transversal de una capa de complejo de colágeno en el Ejemplo 1.

La FIG. 4 es una imagen de SEM de una capa de complejo de colágeno perforada en el Ejemplo 2.

45 La FIG. 5 son fotos que muestran los resultados de los experimentos bacteriostáticos en el Ejemplo 3.

La FIG. 6 es una fotografía que muestra una capa de caucho de silicona perforada en el Ejemplo 4.

### **Descripción detallada de las realizaciones**

50 La invención aparece definida en las reivindicaciones. Cualquier materia objeto que quede fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona únicamente con fines informativos. En lo sucesivo, el concepto y los efectos técnicos producidos por la presente divulgación se describirán clara y completamente junto con las realizaciones para comprender completamente el propósito, las características y los efectos de la presente invención. Aparentemente, las realizaciones descritas son solo una parte de las realizaciones de la presente divulgación, en lugar de todos ellos.

55 Ejemplo 1

Este ejemplo proporciona un material de reparación dérmica artificial, y su proceso de preparación es el siguiente.

60 En S1, se preparó una capa de complejo de colágeno.

65 Se pesó el colágeno y se disolvió en agua para preparar 200 g de una solución de colágeno con una concentración de masa del 0,3 %. A continuación, se pesaron 0,056 g de sulfato de condroitina y se disolvieron en agua para preparar una solución de sulfato de condroitina con una concentración de masa de 1,7 mg/ml. La solución de sulfato de condroitina se atomizó mediante un flujo de aire de alta velocidad y, a continuación, se añadió a la solución de colágeno y se agitó continuamente durante 2 horas para obtener un complejo de sulfato de condroitina-colágeno. El complejo

colágeno-sulfato de condroitina se centrifugó a 8.000 rpm durante 15 minutos. Se recogió el precipitado y se añadió ácido acético 0,05 M para volver a disolver el precipitado y lograr una concentración de colágeno del 0,9 % (p/p) y, a continuación, se agitó durante 2,5 h para que se dispersara uniformemente, formando de este modo una dispersión del complejo colágeno-sulfato de condroitina. Se caracterizó la dispersión del complejo colágeno-sulfato de condroitina. Una imagen de AFM fue como se muestra en la FIG. 1 y una imagen de SEM como se muestra en la FIG. 2. En las figuras se puede ver que el complejo obtenido se puede coprecipitar para formar fibras de colágeno a nanoescala, y las fibras de colágeno a nanoescala se pueden autoensamblar para formar haces de fibras de colágeno, formando un complejo de sulfato de condroitina-colágeno disperso uniformemente. Se añadió una solución de agente reticulante de glutaraldehído (ácido acético como disolvente) para que la concentración de colágeno fuera del 0,7 % (p/p), donde una fracción de masa del glutaraldehído agregado fue del 0,01 % (es decir, una fracción de masa del glutaraldehído que representa la solución del complejo de colágeno) y, a continuación, se agitó durante 5 h para que se distribuyera uniformemente. A continuación, se añadió una solución de agente antibacteriano de polihexametileno biguanida (PHMB) para que la concentración de colágeno fuera del 0,65 % (p/p), donde la cantidad de PHMB añadida fue de 0,028 g y, a continuación, se agitó durante 2 h para que se distribuyera uniformemente y, a continuación, se vertió en un molde de aleación de aluminio, se niveló, se pre congeló a -60 °C durante 2 h y, a continuación, se sometió a recocado durante 5 min a 10 min y, a continuación, se congeló a -60 °C durante media hora y, a continuación, se transfirió a un liofilizador para liofilización durante 24 h y, a continuación, se colocó bajo una condición de vacío a alta temperatura de 105 °C para la reticulación a alta temperatura durante 24 horas, para obtener la capa de complejo de colágeno.

En S2, se preparó una capa de caucho de silicona.

Los componentes A y B de caucho de silicona líquida con resistencia normal (con resistencia a la tracción de <2 MPa después de la formación de la película) se mezclaron en una proporción de 1:1, se agitó a 300 rpm durante 10 minutos y, a continuación, se despumó y, a continuación, se vertió en un molde de politetrafluoroetileno, se niveló, y se colocó en un horno de secado y se curó a 150 °C durante 2 horas para obtener una primera capa de caucho de silicona con un espesor de 0,12 mm.

Los componentes A y B de caucho de silicona líquida de alta resistencia (con resistencia a la tracción >10 MPa después de la formación de la película) se mezclaron en una proporción de 1:1, se agitó a 300 rpm durante 10 minutos para formar una solución mixta y, a continuación, se despumó la solución mixta. Se preparó uniformemente una capa de caucho de silicona en forma de malla de paralelogramo sobre una superficie de la primera capa de caucho de silicona con la solución mixta usando un dispensador, en el que el espacio entre líneas paralelas era de 1 mm a 10 mm y, a continuación, se colocó en un horno de secado para el curado y se curó a 150 °C durante 2 horas, para obtener una segunda capa de caucho de silicona en forma de malla con un espesor de 0,02 mm.

A continuación, se niveló un caucho de silicona líquido con resistencia normal (con resistencia a la tracción <2 MPa después de la formación de la película) sobre una superficie de la segunda capa de caucho de silicona en forma de malla y, a continuación, se colocó en un horno de secado y se curó a 150 °C durante 2 horas, para obtener una tercera capa de caucho de silicona con un espesor de 0,12 mm. Finalmente, se formó una capa de caucho de silicona con un espesor de 0,26 mm y que tenía una capa intermedia en forma de malla.

En S3, una capa de gel de silicona se revistió sobre una superficie de la capa de caucho de silicona, y una capa de complejo de colágeno perforada se unió a una superficie de la película de caucho de silicona para obtener el material de reparación dérmica artificial.

En S4, se realizó el envasado y la esterilización. El material de reparación dérmica artificial preparado se envasó y se esterilizó mediante haz de electrones de alta energía con una dosis de esterilización de 15 KGy a 20 KGy.

Se caracteriza la capa de complejo de colágeno preparada en este ejemplo, y en la FIG. 3 se muestra una imagen de SEM que muestra una sección transversal de la capa de complejo de colágeno. Puede verse en la figura que la capa de complejo de colágeno preparada tiene una estructura porosa de gradiente tridimensional, y el tamaño de los poros aumenta de 50  $\mu\text{m}$  a 250  $\mu\text{m}$  desde una posición en contacto con la capa de caucho de silicona hasta una posición alejada de la capa de caucho de silicona. En la técnica anterior, la estructura porosa de gradiente se prepara generalmente rociando y liofilizando múltiples capas de soluciones mixtas con diferentes concentraciones para lograr el efecto de poros de gradiente, que tiene un proceso de preparación más complicado, y el tamaño de los poros aumenta repentinamente. En la presente divulgación, los poros de gradiente se preparan mediante pre congelación, recocado y liofilización, el funcionamiento es sencillo, el tamaño de los poros aumenta de forma transitoria y natural, que es más beneficioso para el crecimiento de fibroblastos, células endoteliales y capilares.

Se mide la resistencia a la tracción de la capa de caucho de silicona preparada en esta implementación. Las etapas específicas de la medición son las siguientes. En referencia a la norma de GB/T 1040.3-2006 "Measurement of Tensile Properties of Plastics Part 3: Test Conditions for Films and Sheets", se preparan en un cortador probetas en forma de mancuerna tipo 5, respectivamente, y se preparan 3 probetas paralelas para cada grupo de muestras. Se marca una marca específica en la probeta. Se miden un espesor  $h$  y un ancho  $b$  de cada probeta dentro de los 5 mm a partir de cada extremo de la longitud calibrada en el medio de cada probeta. Se miden 3 puntos para calcular el valor medio.

Se enciende la máquina de ensayo universal electrónica, se establecen los parámetros de prueba y se ingresan los parámetros de prueba relacionados, tales como el espesor y la longitud del calibre. La velocidad de prueba se fijó en 500 mm/min. El sensor es de 1.000 N. Las probetas se montan en el elemento fijo de modo que los ejes longitudinales de las probetas estén alineados con un eje de la máquina de ensayo. Se hace clic en el botón "run" (ejecutar) para realizar el ensayo. La resistencia a la tracción se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula.

Fórmula de cálculo de la resistencia a la tracción:  $\sigma = F/S$ . En la fórmula:  $\sigma$ : resistencia a la tracción en MPa; F: fuerza (valor máximo) requerida para rasgar la probeta, en N; S: área de la sección transversal original de la probeta, mm<sup>2</sup>. Los resultados del ensayo se muestran en la Tabla 1.

10

Tabla 1 La resistencia a la tracción de la capa de caucho de silicona en el Ejemplo 1

Numero de muestra	Resistencia a la tracción (MPa)
1	9,2
2	9,3
3	9,5

Los resultados del ensayo muestran que la capa de caucho de silicona con la capa intermedia en forma de malla proporcionada por la presente divulgación tiene una excelente resistencia mecánica. La capa intermedia en forma de malla es similar a una capa de malla de refuerzo ajustable, que puede equilibrar la alta resistencia y la flexibilidad de toda la capa de caucho de silicona, mejorar las propiedades mecánicas de la capa de caucho de silicona, de modo que la capa de caucho de silicona tenga el rendimiento de ajuste apropiado y una buena resistencia a la tracción y al desgarro, y sea conveniente para suturar, y tenga una unión cercana a la superficie de una herida.

15

20

Ejemplo 2

Este ejemplo proporciona un material de reparación dérmica artificial, y su proceso de preparación es el siguiente.

25

En S1, se preparó una capa de complejo de colágeno.

Se pesó el colágeno y se disolvió en agua para preparar 200 g de una solución de colágeno con una concentración de masa del 0,3 %. A continuación, se pesaron 0,013 g de sulfato de condroitina y se disolvieron en agua para preparar una solución de sulfato de condroitina con una concentración de masa de 0,37 mg/ml. La solución de sulfato de condroitina se atomizó mediante un flujo de aire de alta velocidad y, a continuación, se añadió a la solución de colágeno y se agitó continuamente durante 2 horas para obtener un complejo de sulfato de condroitina-colágeno. El complejo colágeno-sulfato de condroitina se centrifugó a 8.000 rpm durante 15 minutos. Se recogió el precipitado y se añadió ácido acético 0,03 M para volver a disolver el precipitado, para hacer que la concentración de colágeno sea del 0,9 % (p/p) y, a continuación, se agitó durante 2,5 horas para dispersarse uniformemente. A continuación, se añadió una solución de ácido acético de glutaraldehído para formar una solución de complejo de colágeno para lograr una concentración de colágeno del 0,7 % (p/p), donde una fracción de masa del glutaraldehído agregado fue del 0,005 % (es decir, una fracción de masa del glutaraldehído que representa la solución del complejo de colágeno) y, a continuación, se agitó durante 5 h para que se distribuyera uniformemente. A continuación, se añadió una solución de agente antibacteriano PHMB para lograr que una concentración del colágeno fuera del 0,65 % (p/p), donde la cantidad de PHMB añadida fue de 0,0062 g y, a continuación, se agitó durante 2 h para que se distribuyera uniformemente y, a continuación, se vertió en un molde de aleación de aluminio, se niveló, se pre congeló a -60 °C durante 2 h y, a continuación, se sometió a recocado durante 5 min a 10 min y, a continuación, se congeló a -60 °C durante media hora y, a continuación, se transfirió a un liofilizador para liofilización durante 24 h y, a continuación, se colocó bajo una condición de vacío a alta temperatura de 105 °C para la reticulación a alta temperatura durante 24 horas, para obtener la capa de complejo de colágeno.

30

35

40

45

En S2, se preparó una capa de caucho de silicona.

Los componentes A y B de caucho de silicona líquida con resistencia normal (con resistencia a la tracción de <2 MPa después de la formación de la película) se mezclaron en una proporción de 1:1, se agitó a 300 rpm durante 10 minutos y, a continuación, se despumó y, a continuación, se vertió en un molde de politetrafluoroetileno, se niveló, y se colocó en un horno de secado y se curó a 150 °C durante 2 horas para obtener una primera capa de caucho de silicona con un espesor de 0,1 mm.

50

Los componentes A y B de caucho de silicona líquida de alta resistencia (con resistencia a la tracción >10 MPa después de la formación de la película) se mezclaron en una proporción de 1:1, se agitó a 300 rpm durante 10 minutos para formar una solución mixta y, a continuación, se desespumó la solución mixta. Se preparó uniformemente una capa de caucho de silicona en forma de malla de paralelogramo sobre una superficie de la primera capa de caucho de silicona con la solución mixta utilizando un dispensador, en el que un espacio entre líneas paralelas era de 1 mm a 10 mm y, a continuación, se colocó en un horno de secado para curado y se curó a 150 °C durante 2 horas, para obtener una segunda capa de caucho de silicona en forma de malla con un espesor de 0,01 mm.

55

60

A continuación, se niveló un caucho de silicona líquido con resistencia normal (con resistencia a la tracción <2 MPa después de la formación de la película) sobre una superficie de la segunda capa de caucho de silicona en forma de malla y, a continuación, se colocó en un horno de secado y se curó a 150 °C durante 2 horas, para obtener una tercera  
 5 capa de caucho de silicona con un espesor de 0,1 mm. Finalmente, se formó una capa de caucho de silicona con un espesor de 0,21 mm y que tenía una capa intermedia en forma de malla.

En S3, parámetros tales como el espacio entre agujeros, el número de filas y el tamaño del agujero se establecieron en una interfaz de operación de la máquina perforadora láser. La capa de complejo de colágeno obtenida en la etapa  
 10 S1 se colocó y fijó en la máquina, y se ejecutó el programa para perforar agujeros. El tamaño del agujero era de 250 µm. La distancia entre agujeros era de 0,5 mm. Se caracterizó la capa de complejo de colágeno perforada y se mostró una imagen de SEM de la misma como se muestra en la FIG. 4.

En S4, una capa de gel de silicona se revistió sobre una superficie de la capa de caucho de silicona, y la capa de complejo de colágeno perforada se unió a una superficie de la capa de caucho de silicona para obtener el material de  
 15 reparación dérmica artificial.

En S5, se realizó el envasado y la esterilización. El material de reparación dérmica artificial preparado fue empacado y esterilizado por haz de electrones de alta energía, con una dosis de esterilización de 15 KGy a 20  
 20 KGy.

### Ejemplo 3

Este ejemplo proporciona tres tipos de materiales de reparación dérmica artificial, que son los mismos que en el  
 25 Ejemplo 1. La diferencia estaba en que el contenido de PHMB era del 1,2 %, 6 % y 12 %, respectivamente. Se llevaron a cabo experimentos bacteriostáticos en los tres tipos de materiales de reparación dérmica artificial, y la operación fue la siguiente: los materiales de reparación dérmica artificial se cortaron en discos con un diámetro de 12 cm y se esterilizaron con radiación ultravioleta durante 30 minutos en una mesa de trabajo superlimpia para espera. Se preparó un medio de agar Mueller-Hinton (MH) y, a continuación, se calentó para que se disolviera por completo y, a  
 30 continuación, se esterilizó a 121 °C durante 15 minutos, después de lo cual se vertió en una placa en un ambiente estéril cuando la temperatura bajó hasta 40 °C a 50 °C y, a continuación, se enfrió y solidificó para su uso posterior. Se usó un hisopo de algodón estéril para sumergir soluciones bacterianas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* corregidas a 0,5 Mcfarland (un Mcfarland =  $3 \times 10^8$  ufc/ml) y, a continuación, se exprimió el exceso de solución bacteriana haciendo tope ligeramente contra la pared del tubo. Se cubrió toda la superficie del medio con el hisopo, la  
 35 placa se giró 60 grados cada vez, se realizó el untado tres veces, y finalmente, se limpió alrededor de una periferia de dos círculos, para asegurarse de que la solución bacteriana se había untado uniformemente. La muestra se adhirió a una superficie de la placa con unas pinzas estériles y no se puede retirar después de unirla. Se adhirieron cuatro muestras a cada placa. Se dio la vuelta a la placa y se cultivó en una incubadora a temperatura constante de 37 °C durante 18 a 24 horas y, a continuación, se sacó para la medición. Se midió el diámetro de una zona de inhibición con  
 40 una regla en la parte posterior de la placa (medida transversal, horizontal y verticalmente, calculando el valor promedio y convirtiendo el valor promedio en un número entero). Un borde de la zona de inhibición se limitaba al hecho de que no era visible a simple vista ningún crecimiento evidente de bacterias. Los resultados se mostraron en la FIG. 5. En la figura, la marca E indica el experimento bacteriostático con *Escherichia coli*, y la marca S indica el experimento bacteriostático con *Staphylococcus aureus*. Los números 1 a 3 corresponden a materiales de reparación dérmica artificiales con un contenido de PHMB del 1,2 %, 6 % y 12 %, respectivamente. El N. 4 es un grupo de control en blanco sin PHMB. Los resultados experimentales muestran que los materiales de reparación dérmica artificiales preparados por la presente divulgación tienen bacteriostasis tanto para bacterias gramnegativas (tal como *Escherichia coli*) como para bacterias grampositivas (tales como *Staphylococcus aureus*), y tienen una bacteriostasis más fuerte para bacterias grampositivas.  
 45

### Ejemplo 4

Este ejemplo proporciona un material de reparación dérmica artificial, y su proceso de preparación es el siguiente.

55 En S1, se preparó una capa de complejo de colágeno.

Se pesó el colágeno y se disolvió en agua para preparar 200 g de una solución de colágeno con una concentración de masa del 0,3 %. A continuación, se pesaron 0,123 g de sulfato de condroitina y se disolvieron en agua para preparar una solución de sulfato de condroitina con una concentración de masa de 3,54 mg/ml. La solución de sulfato de condroitina se atomizó mediante un flujo de aire de alta velocidad y, a continuación, se añadió a la solución de colágeno y se agitó continuamente durante 2 horas para obtener un complejo de sulfato de condroitina-colágeno. El complejo colágeno-sulfato de condroitina se centrifugó a 8.000 rpm durante 15 minutos. Se recogió el precipitado y se añadió ácido acético 0,1 M para volver a disolver el precipitado y lograr una concentración de colágeno del 0,9 % (p/p) y, a continuación, se agitó durante 2,5 h para dispersarse uniformemente. A continuación, se añadió una solución de ácido acético de glutaraldehído para formar una solución de complejo de colágeno para lograr una concentración de colágeno del 0,7 % (p/p), donde una fracción de masa del glutaraldehído agregado fue del 0,015 % (es decir, una  
 60  
 65

- fracción de masa del glutaraldehído que representa la solución del complejo de colágeno) y, a continuación, se agitó durante 5 h para que se distribuyera uniformemente. A continuación, se añadió una solución de agente antibacteriano PHMB para lograr que una concentración del colágeno fuera del 0,65 % (p/p), donde la cantidad de PHMB añadida fue de 0,099 g y, a continuación, se agitó durante 2 h para que se distribuyera uniformemente y, a continuación, se vertió en un molde de aleación de aluminio, se niveló y se precongelo a -60 °C durante 2 h y, a continuación, se sometió a recocido durante 5 min a 10 min y, a continuación, se congelo a -60 °C durante media hora y, a continuación, se transfirió a un liofilizador para liofilización durante 24 h y, a continuación, se colocó bajo una condición de vacío a alta temperatura de 105 °C para la reticulación a alta temperatura durante 24 horas, para obtener la capa de complejo de colágeno.
- En S2, se preparó una capa de caucho de silicona.
- Los componentes A y B de caucho de silicona líquida con resistencia normal (con resistencia a la tracción de <2 MPa después de la formación de la película) se mezclaron en una proporción de 1:1, se agitó a 300 rpm durante 10 minutos y, a continuación, se despumó y, a continuación, se vertió en un molde de politetrafluoroetileno, se niveló, y se colocó en un horno de secado y se curó a 150 °C durante 2 horas para obtener una primera capa de caucho de silicona con un espesor de 0,15 mm.
- Los componentes A y B de caucho de silicona líquida de alta resistencia (con resistencia a la tracción >10 MPa después de la formación de la película) se mezclaron en una proporción de 1:1, se agitó a 300 rpm durante 10 minutos para formar una solución mixta y, a continuación, se despumó la solución mixta. Se preparó uniformemente una capa de caucho de silicona en forma de malla de paralelogramo sobre una superficie de la primera capa de caucho de silicona con la solución mixta utilizando un dispensador, en el que un espacio entre líneas paralelas era de 1 mm a 10 mm y, a continuación, se colocó en un horno de secado para curado y se curó a 150 °C durante 2 horas, para obtener una segunda capa de caucho de silicona en forma de malla con un espesor de 0,05 mm.
- A continuación, se niveló un caucho de silicona líquido con resistencia normal (con resistencia a la tracción <2 MPa después de la formación de la película) sobre una superficie de la segunda capa de caucho de silicona en forma de malla y, a continuación, se colocó en un horno de secado y se curó a 150 °C durante 2 horas, para obtener una tercera capa de caucho de silicona con un espesor de 0,1 mm. Finalmente, se formó una capa de caucho de silicona con un espesor de 0,3 mm y que tenía una capa intermedia en forma de malla.
- En S3, parámetros tales como el espacio entre agujeros, el número de filas y el tamaño del agujero se establecieron en la interfaz de operación de la máquina perforadora láser. La capa de complejo de colágeno obtenida en la etapa S1 se colocó y fijó en la máquina, y se ejecutó el programa para perforar agujeros. El tamaño del agujero era de 250 µm. La distancia entre agujeros era de 5 mm. Se perforó la capa de caucho de silicona obtenida en la etapa S2, con un tamaño de agujero de 500 µm y una distancia entre agujeros de 5 mm. La capa de caucho de silicona perforada era como se muestra en la FIG. 6.
- En S4, una capa de gel de silicona se revistió sobre una superficie de la capa de caucho de silicona, y la capa de complejo de colágeno perforada se unió a una superficie de la capa de caucho de silicona perforada para obtener el material de reparación dérmica artificial.
- En S5, se realizó el envasado y la esterilización. El material de reparación dérmica artificial preparado fue empaquetado y esterilizado por haz de electrones de alta energía, con una dosis de esterilización de 15 KGy a 20 KGy.

**REIVINDICACIONES**

1. Un material de reparación dérmica artificial, que comprende una capa de caucho de silicona y una capa de complejo de colágeno unidas entre sí, siendo la capa de complejo de colágeno preparada con materias primas que comprenden colágeno, glicosaminoglicano, y un agente antibacteriano por una reacción de reticulación, en donde la capa de caucho de silicona comprende una primera capa de caucho de silicona, una segunda capa intermedia de caucho de silicona en forma de malla y una tercera capa de caucho de silicona que se proporcionan en secuencia, la resistencia a la tracción de la segunda capa intermedia de caucho de silicona en forma de malla es mayor que la resistencia a la tracción de la primera capa de caucho de silicona y la resistencia a la tracción de la tercera capa de caucho de silicona.
2. El material de reparación dérmica artificial de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la resistencia a la tracción de la primera capa de caucho de silicona y/o la tercera capa de caucho de silicona es inferior a 2 MPa, la resistencia a la tracción de la segunda capa intermedia de caucho de silicona en forma de malla es superior a 10 MPa.
3. El material de reparación dérmica artificial de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la capa de complejo de colágeno tiene una estructura porosa en gradiente.
4. El material de reparación dérmica artificial de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde las materias primas comprenden del 73 % al 97 % del colágeno, de un 2 % a un 15 % del glicosaminoglicano, y de un 1 % a un 12 % del agente antibacteriano.
5. El material de reparación dérmica artificial de acuerdo con la reivindicación 4, en donde las materias primas comprenden del 78 % al 93 % del colágeno, de un 3 % a un 10 % del glicosaminoglicano, y de un 4 % a un 12 % del agente antibacteriano.
6. El material de reparación dérmica artificial de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y la reivindicación 5, en donde al menos una de la capa de caucho de silicona y la capa de complejo de colágeno está provista de una pluralidad de agujeros.
7. Un método para preparar un material de reparación dérmica artificial de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende:  
preparación de una capa de complejo de colágeno, que comprende:  
disolver glicosaminoglicano en un disolvente para obtener una solución de glicosaminoglicano y disolver colágeno en un disolvente para obtener una solución de colágeno;  
mezclar la solución de glicosaminoglicano y la solución de colágeno, realizar la centrifugación y recoger un precipitado, y volver a disolver el precipitado añadiendo ácido acético para obtener una solución de complejo de colágeno-glicosaminoglicano; y  
añadir un agente reticulante y un agente antibacteriano a la solución del complejo colágeno-glicosaminoglicano, realizar liofilización y, a continuación, realizar además una reacción de reticulación en condiciones de vacío para obtener la capa de complejo de colágeno;  
preparar una capa de caucho de silicona,  
unir la capa de complejo de colágeno y la capa de caucho de silicona, y  
preparar opcionalmente un agujero en al menos una de la capa de complejo de colágeno y la capa de caucho de silicona;  
en donde la preparación de la capa de caucho de silicona comprende:  
mezclar y curar materiales de un primer caucho de silicona para formar una primera capa de caucho de silicona;  
mezclar materiales de un segundo caucho de silicona para formar una solución mixta, preparar una capa en forma de malla sobre la primera capa de caucho de silicona con la solución mixta utilizando un dispensador y realizar el curado para formar una segunda capa intermedia de caucho de silicona en forma de malla; y  
nivelar los materiales de un tercer caucho de silicona sobre una superficie de la segunda capa intermedia de caucho de silicona en forma de malla y realizar el curado para formar una tercera capa de caucho de silicona; en donde la resistencia a la tracción de los materiales del segundo caucho de silicona después de la formación de la película es mayor que la resistencia a la tracción de los materiales del primer caucho de silicona y la resistencia a la tracción de los materiales del tercer caucho de silicona después de la formación de la película.
8. El método para preparar el material de reparación dérmica artificial de acuerdo con la reivindicación 7, en donde la realización de la liofilización comprende: realizar la congelación en un entorno de baja temperatura, recocado durante 5 min a 10 min y, a continuación, congelar en un ambiente de baja temperatura y, a continuación, liofilizar en un liofilizador.
9. El método para preparar el material de reparación dérmica artificial de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el agente de reticulación es uno seleccionado del grupo que consiste en glutaraldehído, genipina y carbodiimida.

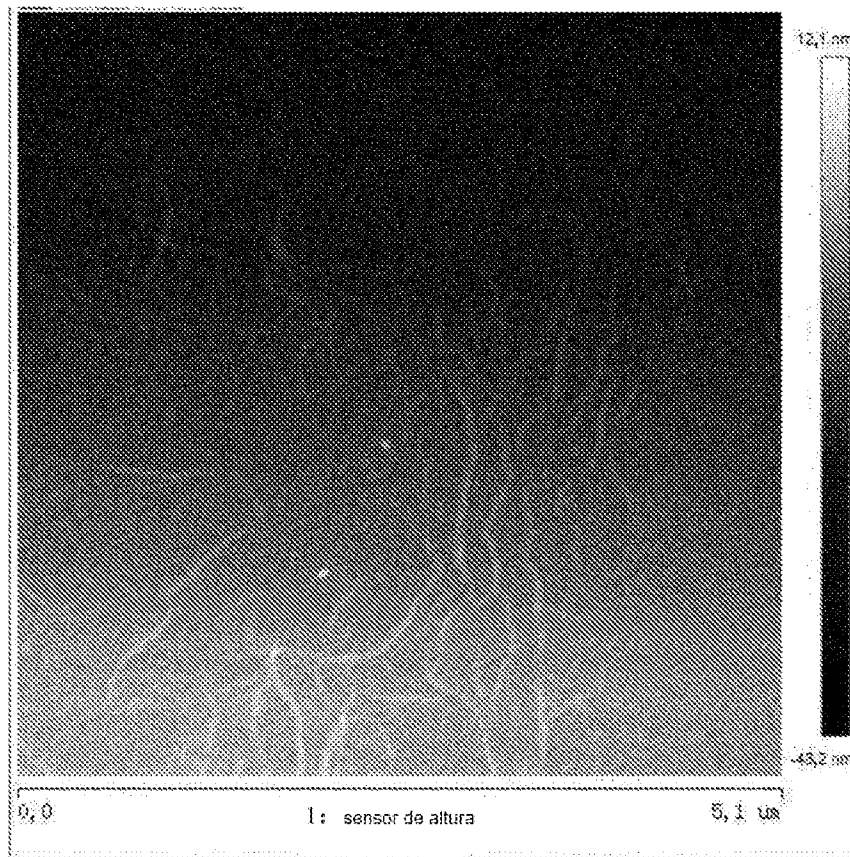


FIG. 1

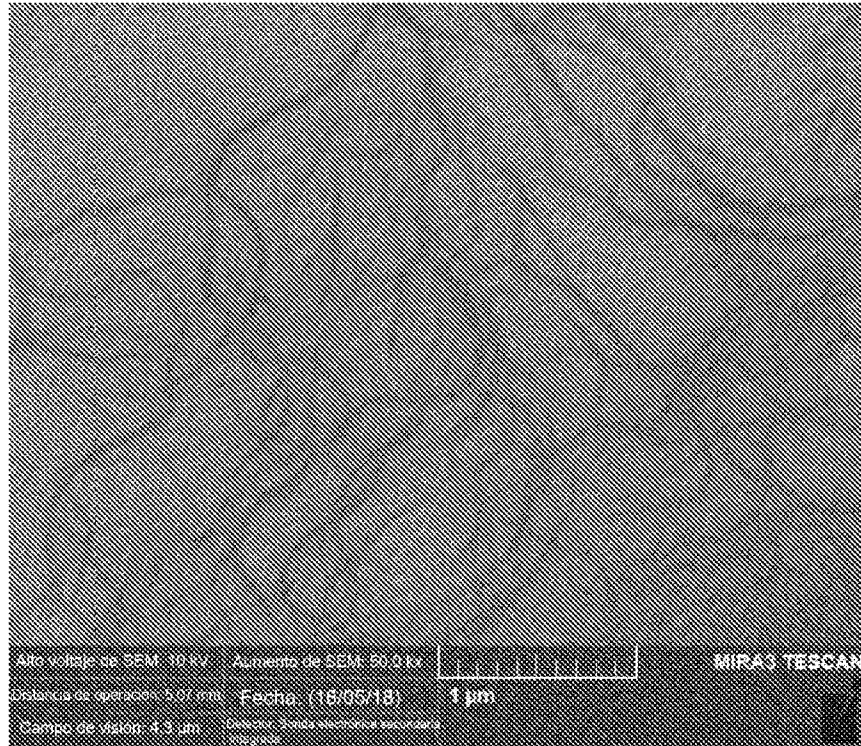
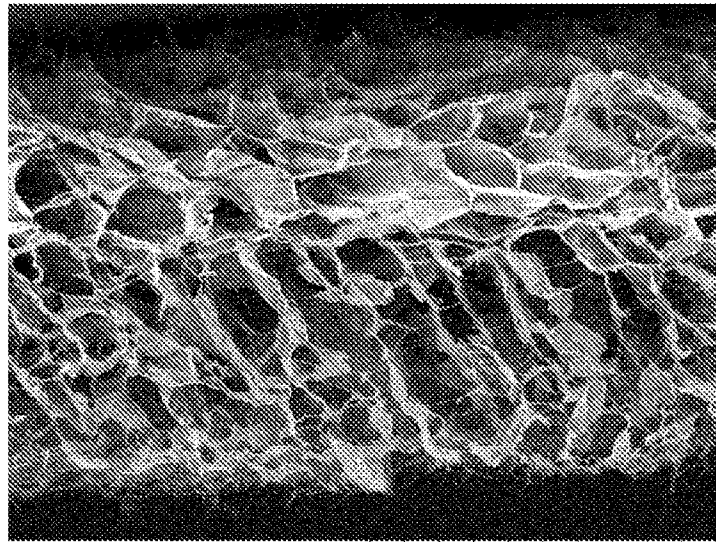


FIG. 2



TM3030

H D3,5 x20 1 mm

FIG. 3

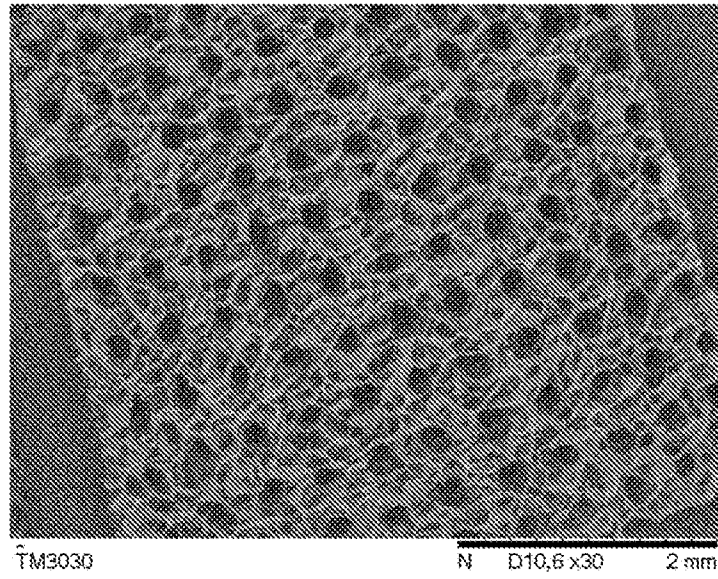


FIG. 4

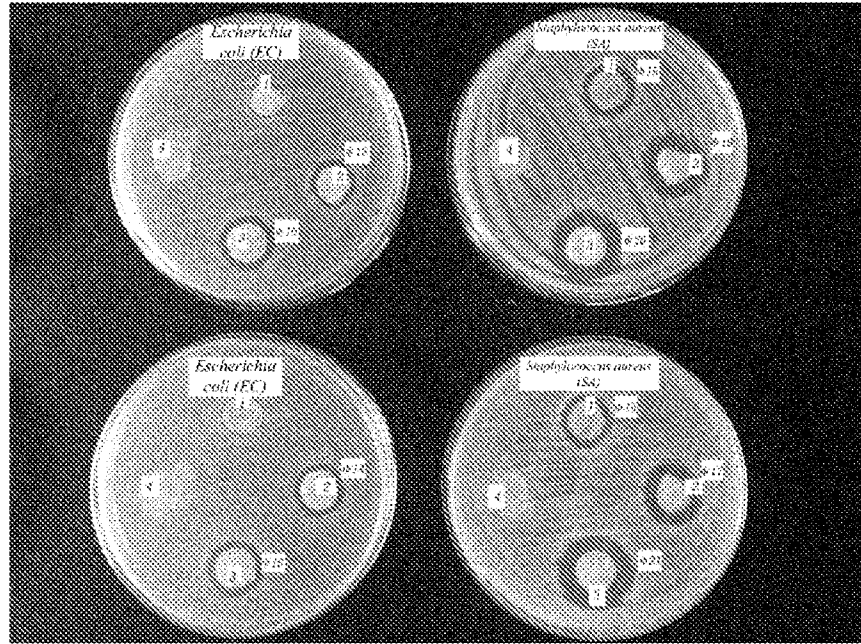


FIG. 5

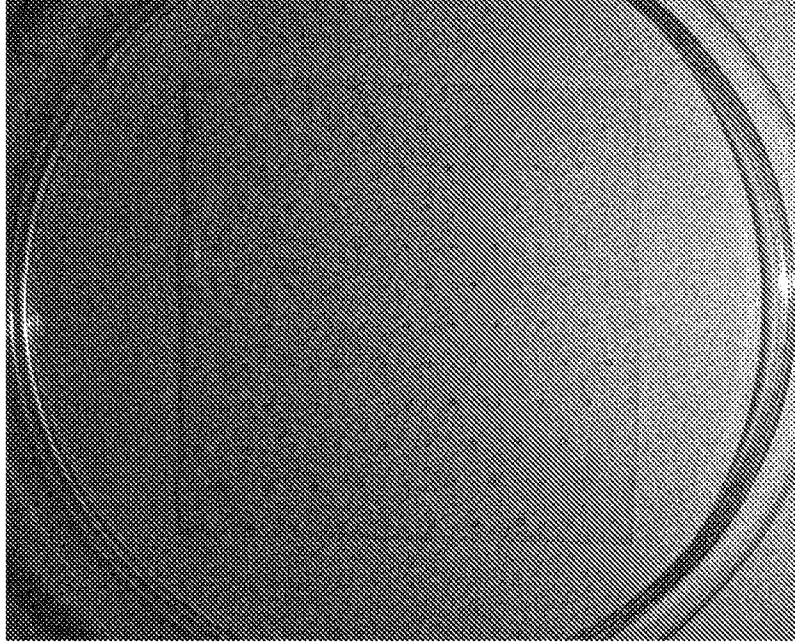


FIG. 6