



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 313 210**

51 Int. Cl.:
C08L 89/06 (2006.01)
C08J 3/12 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05101795 .2**
96 Fecha de presentación : **07.02.2001**
97 Número de publicación de la solicitud: **1541634**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **15.06.2005**

54 Título: **Proceso para la preparación de colágeno micronizado y sus aplicaciones terapéuticas.**

30 Prioridad: **15.02.2000 IT MI00A0246**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.03.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.03.2009

73 Titular/es: **EURORESEARCH S.R.L.**
Via Mascheroni 23
I-20145 Milano, IT

72 Inventor/es: **Furlan, Diego y**
Cappelletti, Leonardo

74 Agente:
Gómez-Acebo y Duque de Estrada, Ignacio

ES 2 313 210 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

Proceso para la preparación de colágeno micronizado y sus aplicaciones terapéuticas.

5 La presente invención se refiere al uso de colágeno micronizado que tiene un tamaño de partícula de no más de 20 micrómetros para la fabricación de una composición farmacéutica.

10 El colágeno, una sustancia polipeptídica que tiene un peso molecular de aproximadamente 130.000 daltons, es la proteína fibrosa más abundante en los vertebrados superiores debido a que es el constituyente principal de la piel, el tejido conectivo y el material orgánico presente en los huesos y los dientes, y representa aproximadamente un tercio de la cantidad total de proteínas en el cuerpo humano (Merck Index, Versión 12: 1, 2543, 1996).

La producción de colágeno en los cuerpos de mamíferos está precedida de la formación de un precursor biosintético de mayor tamaño, el precolágeno, que después se degrada por enzimas específicas para formar colágeno.

15 Se encuentran diversos tipos de colágeno de forma natural y todos están compuestos por tres cadenas polipeptídicas que tienen una periodicidad constante y que se organizan en una triple hélice; la diferencia entre los diversos tipos de colágeno está causada por pequeñas diferencias en la estructura primaria de las cadenas.

20 El colágeno de tipo I, que es el constituyente básico de la piel, huesos y tendones, puede considerarse el más abundante de los diversos tipos de colágeno; tiene una composición de cadenas $2\alpha 1$ (I) $\alpha 2$ (I), en la que las dos cadenas $\alpha 1$ y la cadena $\alpha 2$ son homólogas. Entre las dos cadenas $\alpha 1$ y la cadena $\alpha 2$ existen interacciones electrostáticas y enlaces de hidrógeno que, junto con la presencia de hidroxiprolina, confieren a la molécula características de dureza y resistencia.

25 La bibliografía describe el uso de colágeno como un agente estimulante en el proceso de cicatrización de heridas mediante la interacción con diversos factores de crecimiento, por su acción de captura de fibronectina, así como la migración y replicación de células que son consecuencia del mismo (II colagene nella cicatrizzazione (Collagen in wound-healing) por B. Palmieri, publicado por Artestampa, enero de 1990, páginas 40-42) y otras acciones que aún no se han aclarado lo bastante.

30 En terapéutica, el colágeno se usa actualmente con un agente cicatrizante en cirugía clínica, en el tratamiento de quemaduras, como un vehículo, en prótesis quirúrgicas (hilos de sutura, gasas, etc.), como un material para implantación o como materia prima de cremas y pomadas en el sector farmacéutico y cosmético (Beghè, Mian y Palmieri en *Collagene e cicatrizzazione* gauzes, etc.), como un material para implantación o como materia prima de cremas y pomadas en el sector farmacéutico y cosmético (Beghè, Mian y Palmieri en *Collagene e cicatrizzazione* "Realtà e prospettive terapeutiche" (Collagen and wound-healing "Facts and therapeutic perspectives"), Estambul, 1990; Mian y Mian, Topical collagen and wound Healing, 1992, suplemento al vol. XIV; Int. J of tissue reactions, Palmieri, Trabucchi and Zucchelli, *Collagene e cicatrizzazione*, (Collagen and wound-healing) 1993, Tacchi Ed. Pisa; GELFIX® technical gazette of Euroresearch Srl).

40 Precisamente por sus características de dureza y resistencia, el colágeno que se usa normalmente en esos sectores es el colágeno de tipo I.

45 El colágeno se obtiene normalmente en la forma estable y no desnaturalizada actualmente en el mercado por procesos de extracción y purificación de órganos animales, tales como, por ejemplo, los descritos en el documento JP 2886164. Normalmente, el colágeno obtenido de este modo es un gel que contiene del 0,1 al 2,0% de colágeno y que, para usarse después en las diversas aplicaciones terapéuticas indicadas anteriormente, se somete normalmente a conversiones adicionales; por ejemplo, se convierte por liofilización en una laminilla que tiene un contenido de agua de aproximadamente el 17% o, por secado, en una estructura laminar que tiene un contenido de agua de aproximadamente el 20%.

50 El colágeno en polvo actualmente en el mercado tiene, sin embargo, desventajas y defectos de una importancia considerable debido a que sólo está disponible en un tamaño de partícula grueso (>500 micrómetros) que no permite que se adhiera a superficies húmedas e impide que se use en forma de una pulverización.

55 Sin embargo, se apreciará que es importante ser capaz de contar con un colágeno que, en la medida en que sea posible, no esté desnaturalizado, no sea alergénico, esté libre de impurezas o contaminantes no deseados y, por encima de todo, esté en una forma finamente micronizada, es decir, para permitir que se aplique a superficies húmedas e irregulares, tales como, por ejemplo, la epidermis o tejidos dañados.

60 Por lo tanto, el objeto de la presente invención es obtener un producto que, al tiempo que mantenga las características típicas del colágeno en lo que respecta a su actividad cicatrizante, permita una aplicación fácil, sencilla y rápida, sea fácil y práctico de usar, pueda aplicarse a zonas del cuerpo que son de difícil acceso (por ejemplo, cavidades y huecos) y sea estéril y estructuralmente homogéneo.

65 Lo anterior se ha obtenido ahora mediante un proceso de micronización particular que constituye uno de los temas de la presente invención y que permite que se obtenga colágeno en polvo que tiene un tamaño de partícula de no más de 20 micrómetros.

ES 2 313 210 T3

El proceso de micronización de acuerdo con la presente invención utiliza los atomizadores normales actualmente en el mercado, tales como los atomizadores de ciclón rotatorio producidos por Niro A/S y descritos, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos US 5.632.100, US 5.615.493, US 4.490.403, US 4.369.091 y US 3.956.521, que se incorporan en este documento como referencia.

El funcionamiento de esos atomizadores es bien conocido por especialistas en la técnica y, por lo tanto, no se analizará en detalle en este documento; sin embargo, es importante subrayar que comprenden básicamente una estructura de ciclón en la que se introduce una solución del producto a micronizar a través de una boquilla giratoria que provoca la nebulización del mismo y choca con una corriente ascendente de un gas inerte, generalmente aire, calentado a una temperatura del orden de 150 a 400°C.

No obstante, en el presente proceso se introduce una solución acuosa de colágeno al 0,1-0,8% en peso/volumen, que tiene un pH de 3,0 a 6,0, en un atomizador normal y choca con una corriente de gas que tiene una temperatura sustancialmente inferior que las usadas en los procesos de micronización habituales; la corriente de gas inerte, generalmente aire, tiene de hecho una temperatura inferior a 120°C, preferiblemente de 70 a 120°C y, aún más preferiblemente, de 80 a 100°C.

La solución de colágeno acuoso, obtenida generalmente por dilución de un gel de colágeno nativo de tipo I al 1,0-2,0% en peso/volumen con agua ligeramente ácida, tiene preferiblemente un pH final de 4 a 5 y un contenido de colágeno del 0,3 al 0,5% en peso/volumen; después, el polvo de colágeno se recoge preferiblemente en un recipiente cerrado, que está de una forma tal que el polvo mantiene un contenido de humedad de menos del 15%.

El producto obtenido de este modo es un polvo de colágeno que tiene un tamaño de partícula de 5 a 30 micrómetros, generalmente no más de 20 micrómetros y, preferiblemente, de aproximadamente 18 micrómetros, que mantiene intacta la forma de agregación cuaternaria (en haces de fibrillas) típica del colágeno nativo; después, el polvo obtenido de este modo puede dividirse, esterilizarse y colocarse en recipientes adecuados (dispensadores de pulverización, sobrecitos, frascos, etc.) de acuerdo con métodos conocidos en la técnica.

El tamaño de partícula de no más de 20 micrómetros permite tanto la adhesión óptima del colágeno a la superficie de la herida como su uso en sistemas de dosis medida en dispensadores de pulverización. Este último aspecto, en particular, es una característica muy importante de la presente invención porque la formulación de pulverización permite la producción de envases "multidosis" que tienen la enorme ventaja de permitir el uso discontinuo y repetido del producto sin alterar sus características y su esterilidad.

Por el contrario, debido a que el envasado en forma de pulverización sólo es posible para productos que tienen un tamaño de partícula de no más de 20 micrómetros, las formulaciones de colágeno en polvo sólo se comercializan actualmente en forma de sobrecitos y frascos. Por supuesto, dichas formas de envasado no son muy adecuadas para los usos terapéuticos del colágeno: los sobrecitos, además de ser difíciles de medir, una vez abiertos no pueden reutilizarse sin alterar la esterilidad del producto.

De acuerdo con la realización preferida de la invención, el gel diluido se atomiza en un atomizador que funciona en las siguientes condiciones:

- temperatura de la boquilla: 80-90°C
- presión del nebulizador: 0,1-0,3 MPa (1-3 bar)
- temperatura del gel a la entrada: 80°C
- temperatura del aire: 80°C
- temperatura del producto a la salida: 65°C
- contenido de humedad del producto a la salida: 10-15%.

El colágeno micronizado obtenido en las condiciones descritas anteriormente tiene las siguientes características:

- tamaño de partícula: de 5 a 20 micrómetros (98%),
- contenido de humedad: no más del 16%.

El colágeno micronizado puede envasarse después en las formas de administración conocidas en la técnica, generalmente en combinación con los excipientes y coadyuvantes normales; las formulaciones preferidas son, por ejemplo, sobrecitos de 0,5 a 50 gramos, frascos de 0,5 a 250 gramos, dispensadores de pulverización de 10 a 1000 ml; por supuesto, en este último caso es necesario añadir un gas propulsor adecuado, generalmente una mezcla preconstituida de gases n-butano, isobutano y propano. Después, los productos terminados se someten a un tratamiento de esterilización mediante la aplicación de radiación ionizante u otros sistemas de esterilización adecuados.

ES 2 313 210 T3

Ejemplo 1

Se diluyeron 500 litros de una solución de colágeno al 1,2% en p/v con 1500 litros de agua destilada (proporción de dilución 1:4) para obtener 2000 litros al 0,4% en p/v. El pH de la solución se corrigió hasta $4,5 \pm 0,5$ usando ácido acético diluido.

Después, la solución se introduce en un atomizador de ensayo en las siguientes condiciones de funcionamiento:

temperatura del aire y de la boquilla: 80-85°C

temperatura a la entrada: 80°C

temperatura a la salida: 65°C

presión del nebulizador: 0,2 MPa (2 bar)

capacidad de la bomba de alimentación: 40 l/hora

Al final de la operación, se recogen aproximadamente 8,0 kilogramos de colágeno en polvo que tiene el tamaño de partícula (98% <20 micrómetros) y el contenido de humedad (K. F. 14%) deseados.

Ejemplo 2

El colágeno micronizado obtenido de la forma descrita en el Ejemplo 1 se envasa automáticamente en sobrecitos de material de polietileno/aluminio/papel combinados; usando una dosis de 0,1, 0,25, 0,5 y 1,0 gramos por sobrecito.

Los sobrecitos obtenidos de este modo se someten a un tratamiento con radiación ionizante a una dosis de 25 kilograys para obtener un polvo completamente libre de microorganismos.

Ejemplo 3

El colágeno micronizado obtenido de la forma descrita en el Ejemplo 1 se envasa automáticamente en frascos de vidrio neutro que tienen una tapa y una bajo tapa de material plástico no tóxico; usando dosis de 1, 2 y 5 gramos por frasco.

Los frascos obtenidos de este modo se someten a un tratamiento con radiación ionizante a una dosis de 25 kilograys para obtener un polvo completamente libre de microorganismos.

Ejemplo 4

El colágeno micronizado obtenido de la forma descrita en el Ejemplo 1 se envasa automáticamente en dispensadores de pulverización de aluminio que tienen un revestimiento interno de resina epoxi. Se usan dispensadores de pulverización de 50 y 125 ml que contienen, respectivamente, 1 y 2 gramos de colágeno micronizado. Después, los dispensadores de pulverización se equipan con válvulas de administración y después se introduce el propulsor compuesto por una mezcla preconstituida de n-butano, isobutano y propano (95:2:3) a una presión de aproximadamente 0,13 MPa (1,3 bar).

Los dispensadores de pulverización obtenidos de este modo se someten a un tratamiento con radiación ionizante a una dosis de 25 kilograys para obtener un polvo completamente libre de microorganismos.

REIVINDICACIONES

1. Uso de colágeno micronizado, que tiene un tamaño de partícula de no más de 20 micrómetros y que mantiene la forma de agregación cuaternaria del colágeno nativo, para la fabricación de una composición farmacéutica para la cicatrización de heridas.

2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho colágeno es colágeno nativo de tipo I.

3. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicho colágeno tiene un tamaño de partícula de aproximadamente 18 micrómetros.

4. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicha composición está en forma de una pulverización.