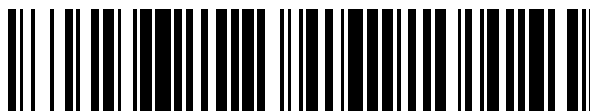


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 378 158**

51 Int. Cl.:
C07H 1/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07713234 .8**
96 Fecha de presentación: **12.03.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **1999159**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **10.12.2008**

54 Título: **Proceso para el aislamiento y la estabilización de aminoglucanos de bajo peso molecular procedentes de cáscaras de huevo de deshecho**

30 Prioridad:
25.03.2006 US 277489

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
09.04.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
09.04.2012

73 Titular/es:
**ROMANO DEVELOPMENT INC.
CASSANDRA CENTER 29 THEKLAS LYSSIOTI
STREET
LIMASSOL 3315, CY**

72 Inventor/es:
PATEL FRAMROZE, Bomi

74 Agente/Representante:
Ruo, Alessandro

ES 2 378 158 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 el aislamiento y la estabilización de aminoglucanos de bajo peso molecular procedentes de cáscaras de huevo de desecho

5

Campo de la invención

[0001] Las formas de realización de la invención se refieren a un procedimiento para aislar y estabilizar simple y eficazmente aminoglucanos de peso molecular ultra bajo procedentes de cáscaras de huevo de desecho.

10

Antecedentes de la invención

[0002] Las formas de realización de la invención se refieren a procesos para aislar, estabilizar y formular aminoglucanos de bajo peso molecular procedentes de cáscaras de huevo de desecho. El extracto de aminoglucanos es útil para la preparación de cremas cosméticas con propiedades hidratantes y antiarrugas de la piel.

15

[0003] Nakano y col. (Poult Sci. (1991), Vol. 70 (12), págs. 2524-8) han mostrado que la composición química de las fracciones de glucosaminoglucanos de la cresta y la barba de gallos Leghorn blancos de cresta simple están formadas por glucosaminoglucanos de peso molecular muy alto que tienen aplicaciones en la terapia de sustitución de cartílagos.

20

[0004] Balazs y col (documento US 4141973) han descrito un proceso para el aislamiento de ácido hialurónico puro a partir de tejido animal, con un peso molecular en el intervalo de 1 MD a 6 MD útil como sustituto del líquido sinovial y del humor vítreo.

25

[0005] Heaney y col. (Biochim Biophys Acta. (1976), Vol. 18; 451 (1), págs. 133-42) han mostrado que la parte orgánica de la cáscara de huevo de pollo está formada por colágeno, proteínas y polisacáridos que están probablemente presentes como glucoproteínas y glucosaminoglucanos. Adicionalmente, identificaron los componentes orgánicos mediante cromatografía para rendir glucosaminoglucanos con un peso molecular mínimo de 30.000 Daltons. El análisis de la velocidad de sedimentación en un gradiente de densidad mostró que los polisacáridos contenían cantidades equimolares de glucosamina (36,3% s/p) y ácido glucurónico 35,6% p/p. La identificación de los productos de degradación mostró que el glucosaminoglucano era principalmente ácido hialurónico.

35

[0006] Stahl y col (documento US6537795) han descrito un proceso para producir y aislar aminoglucanos a partir de cepas cultivadas de fermentación de estreptococos. Estos aminoglucanos están caracterizados por sus extremadamente altos pesos moleculares por encima de 6 MD y son útiles en la terapia de sustitución de cartílagos.

40

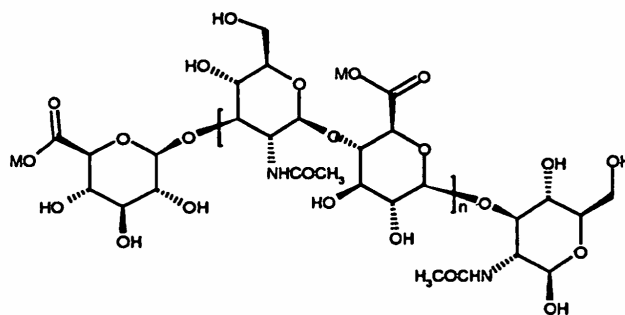
[0007] Algunos procesos relacionados con el aislamiento y la purificación de glucosaminoglucanos a partir de otras fuentes naturales y tejidos animales también pueden encontrarse en la patente de EE.UU. N° 5824658, en la patente de EE.UU. N° 6660853, en la patente de EE.UU. N° 6451326 y en el documento WO 2004/080388.

Resumen de la invención

45

[0008] Las formas de realización de la invención proporcionan un nuevo proceso para el aislamiento de un compuesto aminoglucano de bajo peso molecular de fórmula I formado por unidades alternantes de ácido glucurónico y N- acetilglucosamina, a partir de una fuente natural desconocida hasta la fecha de cáscaras de huevo de desecho,

50



I

en la que M puede ser en uno o más casos Na, Ca, K, Mg; y n es un número entero entre 20 y 40

comprendiendo dicho proceso las etapas de:

- 5
- (a) pre-preparación de las cáscaras de huevo de desecho para la extracción del compuesto aminoglucano embrionario de bajo peso molecular de fórmula I usando un disolvente orgánico polar disuelto en agua,
- 10
- (b) extracción del compuesto aminoglucano de bajo peso molecular de fórmula I como su sal soluble en agua usando una disolución salina acuosa polar,
- (c) aislamiento de un compuesto aminoglucano de bajo peso molecular purificado de fórmula I mediante la formación de un gel fuera de la mezcla salina acuosa usando un disolvente orgánico polar, seguido de filtración o centrifugación,
- 15
- (d) estabilización del extracto de aminoglucano aislado mediante la introducción secuencial de aceites orgánicos en el gel semiseco para formar los compuestos aminoglucanos de fórmula I.

20 **[0009]** Las formas de realización de la invención se refieren más particularmente a la etapa (b), en la que la disolución salina acuosa polar puede ser la sal sódica, potásica, cálcica o magnésica de citrato, glutamato, acetato, pirrolidoncarbonato, tartrato, glicinato, sulfato, sulfito, nitrato, carbonato, oxalato, para rendir una disolución que contiene los compuestos aminoglucanos de fórmula I, que es adecuada para la congelación y el aislamiento selectivos.

25 **[0010]** El proceso descrito en este documento es un nuevo procedimiento para rendir selectiva y simplemente compuestos aminoglucanos de bajo peso molecular de fórmula I a partir de cáscaras de huevo de desecho. Más específicamente, el proceso de la invención, en comparación con los procedimientos para aislar aminoglucanos desvelados en la técnica anterior, se diferencia por;

- 30
- a) la identificación de una nueva fuente no usada hasta la fecha, las cáscaras de huevo de desecho, que de otra forma son difíciles de desechar y provocan un significativo impacto negativo en el entorno,
- 35
- b) contener concentraciones muy bajas de proteínas y nucleótidos perjudiciales,
- c) no requerir separaciones caras e ineficaces de materiales orgánicos e inorgánicos a partir de la cáscara de huevo de desecho,
- d) comprender extracciones más simples que implican reactivos y materiales y disolventes suaves, y
- 40
- e) no requerir acetilación ni otra derivatización, por ejemplo, usando anhídrido acético y ácido sulfúrico según se describe en el documento US5679657, para conseguir la viscosidad deseada y las propiedades filantes requeridas para las aplicaciones cosméticas:

45 **[0011]** Los compuestos aminoglucanos de fórmula I son de un peso molecular excepcionalmente bajo y están sin embargo estabilizados sin derivatización para proporcionar una excelente penetración dérmica para reducir las arrugas superficiales de la piel y mostrar asimismo unos excelentes efectos suavizantes e hidratantes.

Descripción detallada de la invención

50 **[0012]** Los desechos de cáscaras de huevos producidos por la industria de procesamiento de huevos se lavan a menudo con disolventes y se tratan para eliminar olores desagradables antes de ser llevados al vertedero. El carbonato cálcico de las cáscaras sólo se puede usar tras unos amplios procedimientos de separación y limpieza que hacen el proceso comercialmente no rentable. No hay una necesidad específica de pulverizar las cáscaras de huevo en un intervalo estrechamente delimitado, dado que el proceso de la presente invención no depende de la separación de la membrana interna de la cáscara del huevo como en el complejo proceso y equipamiento descrito por MacNeil (patente de EE.UU. N° 6176376) para obtener carbonato cálcico puro.

60 **[0013]** Hemos identificado procesos para aislar selectivamente valiosos compuestos orgánicos, específicamente compuestos aminoglucanos de fórmula I, a partir de cáscaras de huevo molidas sin la costosa separación de los componentes orgánicos e inorgánicos.

65 **[0014]** Las cáscaras de huevo molidas pueden tratarse con agua caliente o una disolución caliente de etanol al 5% y filtrarse para eliminar los desechos orgánicos adheridos a la superficie de las cáscaras. La proporción entre la masa orgánica y el carbonato cálcico puede estar entre el 1% y el 15% p/p. Unas proporciones mayores de masa orgánica indicarían masa de huevo sin lavar presente en las cáscaras de huevo molidas que podrían conducir a la presencia de proteínas y productos nucleotídicos perjudiciales en el extracto de aminoglucanos. Se destaca que, al

contrario que otras fuentes de aminoglucanos tales como tejido animal y caldos de fermentación conocidos por la técnica anterior, el uso de cáscaras de huevo de desecho según se muestra en este documento es único debido a la ausencia de proteínas antigénicas y componentes nucleotídicos significativos en el medio extraído, que da lugar a métodos más fáciles de extracción del compuesto aminoglucano purificado de fórmula I. Las cáscaras de huevo pueden pretratarse adicionalmente con luz ultravioleta para destruir los microbios que pudieran estar presentes incluso después de la limpieza líquida.

[0015] La siguiente etapa comprende someter la anterior masa de cáscaras de huevo a una extracción altamente selectiva del componente de carbohidrato en forma de su sal soluble en agua. Los procesos implican suspender la masa de cáscaras de huevo en un volumen de 1:2 a 1:10 de una disolución salina acuosa que contiene del 5% al 40% en peso de sales de citrato, glutamato, acetato, pirrolidioncarbonato, tartrato, glicinato, sulfato, sulfito, nitrato, carbonato de sodio, potasio, calcio o magnesio, o una combinación de las disoluciones salinas anteriores según se necesite. Más específicamente se prefieren las sales monovalentes de ácidos orgánicos. La suspensión se mantiene entre 1 y 24 horas, más preferiblemente entre 6 y 12 horas, con una agitación vigorosa periódica a unas temperaturas que varían entre 10°C y 35°C. Subsiguientemente la suspensión se filtra o se centrifuga para recoger la disolución acuosa que contiene la sal apropiada de los compuestos aminoglucanos de fórmula I. La masa de cáscaras de huevo así separada muestra una unión mucho más débil a las membranas de la cáscara de huevo, y por lo tanto, pueden tratarse más fácilmente usando procesos conocidos en la materia para separar el carbonato cálcico puro que contiene la cáscara del huevo del residuo orgánico.

[0016] La siguiente etapa comprende la precipitación en gel del compuesto aminoglucano de fórmula I en su apropiada forma salina a partir de la disolución acuosa. El proceso implica reducir la polaridad de la disolución acuosa, y por tanto, la solubilidad del compuesto aminoglucano de fórmula I, mediante la adición secuencial de cualquier disolvente orgánico miscible con agua tal como alcoholes, acetona, dimetilformamida, N-metilpirrolidinona o 1,4-dioxano. El disolvente orgánico se añade en lotes con una agitación suave y un enfriamiento para mantener la temperatura de la reacción entre 20°C y 25°C, para rendir un gel blanco suspendido en la capa acuosa. La disolución se deja reposar entre 2 y 24 horas hasta que se completa la formación del gel. Entonces el gel se filtra o se centrifuga para rendir un extracto semiseco de compuesto aminoglucano de fórmula I. Es importante no permitir que el extracto se seque completamente, dado que se requiere una cierta cantidad de la fase acuosa durante el proceso de estabilización que se llevará a cabo a continuación.

[0017] La etapa final comprende la estabilización del compuesto aminoglucano de bajo peso molecular de fórmula I ordenando las moléculas en un entorno lipófilo para evitar su reticulación, que es característica de los aminoglucanos de bajo peso molecular no acetilados según se describe en la técnica anterior (patente de EE.UU. N° 5.679.657). Esta etapa del proceso implica la adición secuencial de dos aceites. El primer aceite es de naturaleza más hidrófoba y puede elegirse de entre los aceites encontrados habitualmente en las semillas vegetales. Específicamente, el aceite de almendra o el aceite de jojoba son más preferidos como primer aceite. El segundo aceite es de naturaleza más hidrófila y puede elegirse de entre los aceites aislados típicamente a partir de hierbas y especias procedentes de partes vegetativas de plantas. Específicamente, el aceite de salvia, el aceite de romero o el aceite de lavanda son más preferidos como segundo aceite. La cantidad total de aceite añadida puede ser de entre el 5% y el 50% del peso del aminoglucano extraído, mientras que la proporción entre los dos aceites puede estar entre 0,1: 1 y 1:0,1.

[0018] El peso molecular del compuesto aminoglucano de fórmula I así aislado es difícil de medir directamente, y por lo tanto me he basado en la medición de la viscosidad intrínseca para determinar el peso molecular (Laurent y col., *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol. 42, pág. 476 (1960)). Se encontró que las viscosidades intrínsecas de varias disoluciones que contienen el compuesto aminoglucano de fórmula I estaban entre los 4 cm³/gm y los 7 cm³/gm, y cuando se representaron gráficamente frente a disoluciones estándar de sales de ácido hialurónico (peso molecular de aproximadamente 1,2 MD) condujo a la asignación de un único peso molecular ultra bajo natural para el compuesto aminoglucano de fórmula I en el intervalo de entre 15.000 Daltons y 28.000 Daltons. Un compuesto aminoglucano de peso molecular ultra bajo de fórmula I procedente de una fuente natural no ha sido descrito previamente en la técnica anterior (por ejemplo, según resumen Balazs y col. en el documento US4582865).

Resultados experimentales

Ejemplo 1

[0019] Se añadieron 500 g de cáscaras de huevo de desecho pretratadas con aproximadamente un contenido orgánico del 10% en un recipiente de vidrio abierto con un tapón de rosca. A esto se añadieron 750 ml de una disolución acuosa al 5% de citrato sódico, y el recipiente se precintó y se colocó en un agitador durante 24 horas a velocidades moderadas. Después de 24 horas, toda la mezcla se transfirió a un embudo de filtración y se separó el desecho sólido de la cáscara de huevo de la suspensión acuosa. Los sólidos se lavaron con 1 x 250 ml de una disolución acuosa al 5% de citrato sódico y las capas acuosas combinadas se lavaron una vez con 250 ml de cloruro de metileno para eliminar la potencial sustancia proteica, y entonces la capa acuosa se transfirió a un vaso de precipitados de 2 L. El vaso de precipitados se colocó en un baño de agua fría y se inició una lenta adición de metanol absoluto con agitación lenta. Una vez completada la adición de aproximadamente 200 ml de metanol,

comenzó a formarse un precipitado turbio blanco, y se detuvo la agitación. Se añadió una cantidad adicional igual de metanol lentamente, y el vaso de precipitados se dejó reposar durante 12 horas para asegurarse de que se completaba la formación del gel. La totalidad de la masa se transfirió a un embudo de filtración y se filtró para dar un gel cremoso coloreado del compuesto aminoglucano de fórmula I. El precipitado se secó hasta que se midió un contenido en humedad del 5-7%. El peso final del compuesto aminoglucano en gel de fórmula I fue de 42 g.

Ejemplo 2

[0020] Se mezcló el material en gel que contiene el compuesto aminoglucano de fórmula I procedente del Ejemplo 1 con 4 g de aceite de jojoba a 15°C-20°C y se agitó vigorosamente durante 20 minutos. El gel resultante se calentó hasta 25°C y se dejó agitando suavemente durante 1 hora. A esta masa se añadió 1 g de aceite de salvia y el gel resultante se agitó adicionalmente suavemente durante 10 minutos. Entonces el gel se deja enfriar lentamente hasta 10°C durante 4 horas para obtener el compuesto aminoglucano de fórmula I, que es estable en ausencia de aire circulante a la temperatura ambiente durante al menos 3 meses.

Ejemplo 3

[0021] Se repitió el anterior ejemplo 1 con una disolución acuosa al 10% de tartrato potásico para rendir 46 g del gel de compuestos aminoglucanos de fórmula I.

Ejemplo 4

[0022] Se repitió el anterior ejemplo 1 con una disolución al 20% de acetato sódico para rendir 43 g del gel de compuesto aminoglucano de fórmula I.

Ejemplo 5

[0023] Se repitió el anterior ejemplo 1 excepto porque se usó etanol en lugar de metanol para completar la formación del gel, para rendir 47 g del gel de compuesto aminoglucano de fórmula I.

Ejemplo 6

[0024] Se repitió el anterior ejemplo 1 excepto porque se usó acetona en lugar de metanol para completar la formación del gel, para rendir 41 g del gel de compuesto aminoglucano de fórmula I.

Ejemplo 7

[0025] Se repitió el anterior ejemplo 1 con una disolución al 10% de carbonato sódico para rendir 24 g del gel de compuesto aminoglucano de fórmula I.

Ejemplo 8

[0026] Se repitió el anterior ejemplo 1 con una disolución al 25% de carbonato cálcico para rendir 14 g del gel de compuesto aminoglucano de fórmula I.

Ejemplo 9

[0027] Se añaden 10 g del anterior gel estabilizado realizado según el procedimiento mostrado en el Ejemplo 2, a 50 ml de agua destilada que contiene 3 ml de glicerina, y se agita hasta conseguir una suspensión uniforme. A esta suspensión se añadió un fundido formado por 10 g de cera emulsionante, 10 g de cera de parafina, 4 g de cera blanca de abeja y 13 g de una mezcla de aceites vegetales cosméticamente útiles tales como aceite de almendra, de lavanda, de sándalo y de nuez, y la mezcla se agitó vigorosamente para proporcionar una crema uniforme con excelentes características físicas y propiedades antiarrugas.

[0028] Con respecto a los anteriores geles aislados y estabilizados de compuesto aminoglucano de fórmula I, se realizaron las siguientes pruebas analíticas y de utilidad.

Ausencia de sulfato de condroitina

[0029] En la técnica anterior se sabe que todas las fuentes comerciales de aminoglucanos están habitualmente estrechamente relacionadas con otros componentes tisulares tales como el sulfato de condroitina (Arkins y Sheehan, Structure of Hyaluronic Acid, Nature New Biol 235, 253, 1972, y Bettelheim y Philpott, Electron Microscopic Studies of Hyaluronic Acid - Protein Gels, Biochim Biophys Acta 34, 124, 1959). El extracto en gel aislado según los procedimientos descritos anteriormente contiene menos del 2% de sulfato de condroitina, debido probablemente a la baja asociación posible con el tamaño extraordinariamente pequeño del compuesto aminoglucano de fórmula I aislado en este documento.

Ausencia de proteínas

[0030] Dado que las proteínas son potencialmente antigénicas, es esencial que las formulaciones cosméticas aislen cualquier gel de aminoglucano esencialmente exento de proteínas. El extracto de gel del Ejemplo 1 se sometió a la altamente sensible prueba colorimétrica para detectar la presencia de proteínas descrita por Lowry y col. (J. Biol. Chem., 193, 265-275, 1951). No se obtuvo un resultado positivo, lo que indica que la presencia de proteínas es menor de sólo el 0,1% en peso.

[0031] La ausencia de cualquier concentración proteica apreciable es una diferencia distintiva con respecto a otros compuestos glicolaminoglucanos aislados a partir de otras fuentes naturales tales como crestas de gallo y caldos de fermentación. Se ha informado (Kludas, patente de EE.UU. N° 5055298) de que estos aminoglucanos están habitualmente unidos covalentemente a proteínas para formar proteoglucanos. Se ha demostrado que la eliminación clínicamente relevante de todas estas proteínas, que no son componentes de la piel humana, es dificultosa y no se realiza con facilidad. La presencia de estas proteínas en otros diversos extractos de aminoglucanos se ha identificado como una causa de respuestas inflamatorias significativas en la superficie de la piel, haciendo que su uso en formulaciones cosméticas sea problemático.

Ausencia de nucleótidos

[0032] Se ha usado espectroscopía ultravioleta para mostrar la ausencia de nucleótidos de ADN y ARN potencialmente antigénicos en el compuesto aminoglucano de fórmula I extraído en este documento. Se preparó una disolución al 1% del extracto de aminoglucano del Ejemplo 1 en una disolución de cloruro sódico al 10%. Esta disolución se sometió a espectroscopía ultravioleta a 257 nm para medir el nivel de nucleótidos en la disolución. La ausencia de cualquier absorción a esta longitud de onda se tomó como una medida de la ausencia de nucleótidos en el extracto de aminoglucanos del Ejemplo 1.

Viscosidad

[0033] Se liofilizó una pequeña muestra del gel para proporcionar un sólido blanco con una estructura filiforme, que se disolvió lentamente en agua. Se elaboró una disolución de 1 mg del polvo en 1.000 ml de un tampón de fosfato a pH 7. La viscosidad se determinó con un viscosímetro Ostwald a una temperatura de 25°C. La viscosidad relativa de la disolución se midió como de 0,76 a 0,80. Cuando se compara con aminoglucanos de peso molecular mayor conocidos, esta medición de la viscosidad conduce a unos pesos moleculares para el compuesto aminoglucano de fórmula I de entre 15.000 Daltons y 28.000 Daltons.

Presencia de glucosamina

[0034] La presencia de glucosamina en el compuesto aminoglucano de fórmula I se determinó mediante el procedimiento de Elson y Morgan (Biochem J, Vol. 27, (1933), pág.1894,) sobre material que había sido hidrolizado durante 6 horas con ácido clorhídrico 5 N a 100°C y evaporado a sequedad. El contenido en glucosamina del compuesto aminoglucano de fórmula I era de entre el 38% y el 41%, lo que coincide con el valor calculado esperado.

Presencia de ácido urónico

[0035] La presencia de ácido urónico en el compuesto aminoglucano de fórmula I se determinó mediante digestión con hialuronidasa. El compuesto aminoglucano de fórmula I extraído se lavó con agua destilada y se hidrolizó con hialuronidasa de *Streptomyces* (1 mg de enzima/g de aminoglucano) en 10 ml de tampón de CaCl₂ 10 mM /Tris/HCl 50 mM, pH 7,6, durante 48 h a 37°C. Los inhibidores de proteínasa, a saber, fluoruro de fenilmetansulfonilo (2 mM) y N-etilmaleimida (10 mM) se añadieron a las muestras para inhibir la proteólisis no específica. La hidrólisis se detuvo añadiendo urea hasta una concentración final de 6 M. El hidrolizado se centrifugó a 4.000 g y el sobrenadante (digerido de hialuronidasa) se eliminó y se comparó con un estándar de ácido urónico mediante un análisis por HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*).

Capacidad filante

[0036] En la técnica anterior está bien documentado que cuanto mayor sea la capacidad filante, más hidratante es el efecto del aminoglucano. Se han usado muchas derivaciones de aminoglucanos de alto y medio peso molecular, tales como acetilación y copolimerización (documento US5679657), para aumentar el valor filante intrínseco de los aminoglucanos aislados a partir de fuentes animales y bacterianas. Inesperadamente se observó que el compuesto aminoglucano de peso molecular ultra bajo de fórmula I aislado en este documento muestra una notablemente alta capacidad filante y puede ser responsable de parte de los elevados efectos antiarrugas observados. En una cámara de humedad a una temperatura de 25°C y una humedad relativa del 50%, se sumergió 1 cm de una varilla de vidrio en una disolución acuosa del extracto de aminoglucano al 1% del Ejemplo 1, y se observó la longitud del hilo obtenido tras disminuir la velocidad del vaso de precipitados a 10cm/min. Se observó que la longitud del hilo del compuesto aminoglucano de fórmula I de esta invención estaba entre 2,8 cm y 3,5 cm, lo que es considerablemente más largo que los 0,8 cm a 1,3 cm observados para el hialuronato sódico disponible

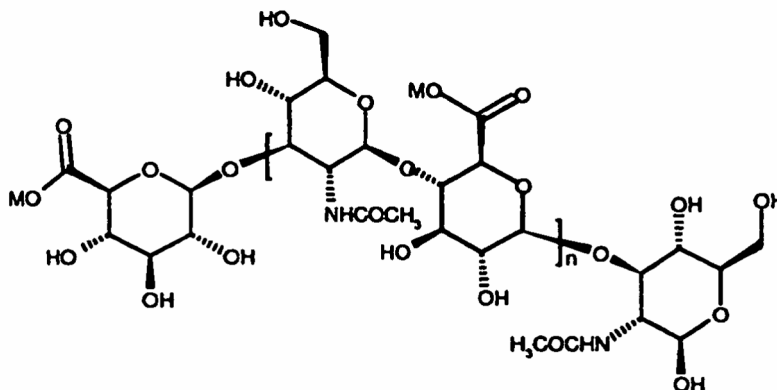
comercialmente, e incluso mejor que las longitudes observadas para los aminoglucanos derivatizados.

Propiedades antiarrugas

- 5 **[0037]** Las propiedades antiarrugas de la crema producida según el procedimiento descrito en el ejemplo 9 se probaron usando un sistema de imagen en 3D para medir la profundidad de las arrugas superficiales. Se usó el procedimiento descrito por S. Jaspers y col., ("Microtopometry Measurement of Human Skin *in vivo* by a new Digital Optical Projection System", Preprints 5th Congress of the International Society for Skin Imaging, Wien 1997) para mostrar una reducción del 25% al 38% en la profundidad de las arrugas después de 4 semanas de uso diario.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para el aislamiento de compuestos aminoglucanos de bajo peso molecular de fórmula I a partir de cáscaras de huevo de desecho,



I

5

en la que M puede ser en uno o más casos Na, Ca, K, Mg, y n es un número entero entre 20 y 40; comprendiendo dicho proceso las etapas de:

10

(a) pre-preparación de las cáscaras de huevo de desecho para la extracción del compuesto aminoglucano embrionario de bajo peso molecular de fórmula I usando un disolvente orgánico polar en agua, en la que las cáscaras de huevo pretratadas se mezclan meticulosamente con el disolvente orgánico polar en agua a unas temperaturas de entre 25°C y 40°C entre 1 hora y 4 horas, seguido de la decantación del sobrenadante, y las cáscaras de huevo siguen adelante para su extracción;

15

(b) extracción del compuesto aminoglucano de bajo peso molecular de fórmula I como su sal soluble en agua, en la que las cáscaras de huevo de la etapa (a) se agitan vigorosamente con una disolución salina acuosa polar a entre 25°C y 40°C durante entre 6 y 24 horas, seguido por una decantación, filtración o centrifugación para recoger la capa acuosa que contiene el compuesto aminoglucano de fórmula I disuelto;

20

(c) aislamiento del compuesto aminoglucano de bajo peso molecular purificado de fórmula I mediante la formación de un gel a partir de la mezcla salina acuosa usando un disolvente orgánico polar, en el que la disolución de la etapa (b) se somete a una adición secuencial por etapas del disolvente orgánico polar a una cantidad de entre el 75% y el 150% volumen/volumen del disolvente orgánico polar a entre 10°C y 20°C, en de 1 hora a 2 horas, y el gel formado se deja reposar entre 4 horas y 12 horas para completar la precipitación, seguido de decantación, filtración o centrifugación para aislar un compuesto aminoglucano de fórmula I semiseco que contiene entre el 4% y el 8% de humedad;

25

(d) estabilización del compuesto aminoglucano de fórmula I aislado de la etapa (c) mediante la introducción secuencial de aceites orgánicos en el gel semiseco para formar el compuesto aminoglucano de fórmula I.

30

2. El proceso según se reivindica en la Reivindicación 1 en el que el disolvente orgánico polar usado en la etapa (a) se elige del grupo formado por un alcohol, acetona, metiletilcetona o 1,4-dioxano.

35

3. El proceso según se reivindica en la Reivindicación 1, en el que dicha disolución salina acuosa polar usada en la etapa (b) se elige del grupo formado por la sal sódica, potásica, cálcica o magnésica de citrato, glutamato, acetato, pirrolidioncarbonato, tartrato, glicinato, sulfato, sulfito, nitrato, carbonato u oxalato.

40

4. El proceso según se reivindica en la Reivindicación 1, en el que el disolvente orgánico polar usado en la etapa (c) es un alcohol inferior elegido de entre metanol, etanol, propanol o butanol, o un éter orgánico elegido de entre dietil éter, tetrahidrofurano, metilal o etilal.

40

5. El proceso según se reivindica en la Reivindicación 1, en el que los aceites usados en la etapa (d) son los aceites obtenidos a partir de fuentes vegetales.

45

6. El proceso según se reivindica en la Reivindicación 5, en el que dicho aceite orgánico se elige de entre aceite de jojoba, de almendra, de salvia, de romero, de lavanda, de sándalo o de aloe.

7. El proceso según se reivindica en la Reivindicación 1 que comprende adicionalmente añadir al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable al compuesto aminoglucano de fórmula I estabilizado obtenido en la etapa (d) para formar una composición con propiedades antiarrugas.