



TÍTULO DE PATENTE No. 388244

Titular(es): UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO

Domicilio: Lascuráin de Retana No. 5, Col. Centro, 36000, Guanajuato, Guanajuato, MÉXICO

Denominación: MÉTODO DE PREPARACIÓN Y APLICACIÓN DE HIDROGELES DE COLÁGENO-OLIGOURRETANO-SÍLICE.

Clasificación: **CIP:** A61L31/14; A61L27/24; A61L27/26; A61L27/28; A61L27/52; A61L31/04; A61L31/16
CPC: A61L31/145; A61L27/24; A61L27/26; A61L27/28; A61L27/52; A61L31/16; A61L31/044

Inventor(es): BIRZABITH MENDOZA NOVELO; JESÚS ALEJANDRO CLAUDIO RIZO; JOSÉ LUIS MATA MATA

SOLICITUD

Número:	Fecha de Presentación:	Hora:
MX/a/2017/004090	29 de Marzo de 2017	13:30

Vigencia: Veinte años

Fecha de Vencimiento: 29 de marzo de 2037

Fecha de Expedición: 28 de octubre de 2021

La patente de referencia se otorga con fundamento en los artículos 1º, 2º fracción V, 6º fracción III, y 59 de la Ley de la Propiedad Industrial.

De conformidad con el artículo 23 de la Ley de la Propiedad Industrial, la presente patente tiene una vigencia de veinte años improrrogables, contada a partir de la fecha de presentación de la solicitud y estará sujeta al pago de la tarifa para mantener vigentes los derechos.

Quien suscribe el presente título lo hace con fundamento en lo dispuesto por los artículos 5º fracción I, 9, 10 y 119 de la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial; artículos 1º, 3º fracción V inciso a), sub inciso ii), 4º y 12º fracciones I y III del Reglamento del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial; artículos 1º, 3º, 4º, 5º fracción V inciso a), sub inciso ii), 16 fracciones I y III y 30 del Estatuto Orgánico del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial; 1º, 3º y 5º fracción I y antepenúltimo párrafo del Acuerdo Delegatorio de Facultades del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial.

El presente documento electrónico ha sido firmado mediante el uso de la firma electrónica avanzada por el servidor público competente, amparada por un certificado digital vigente a la fecha de su elaboración, y es válido de conformidad con lo dispuesto en los artículos 7 y 9 fracción I de la Ley de Firma Electrónica Avanzada y artículo 12 de su Reglamento. Su integridad y autoría, se podrá comprobar en www.gob.mx/impj. Asimismo, se emitió conforme lo previsto por los artículos 1º fracción III; 2º fracción VI; 37, 38 y 39 del Acuerdo por el que se establecen lineamientos en materia de Servicios Electrónicos del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial.

SUBDIRECTORA DIVISIONAL DE EXAMEN DE FONDO DE PATENTES ÁREAS BIOTECNOLÓGICA, FARMACÉUTICA Y QUÍMICA

EMELIA HERNÁNDEZ PRIEGO



Cadena Original:
EMELIA HERNANDEZ PRIEGO|00001000000506482277|SERVICIO DE ADMINISTRACION TRIBUTARIA|56||MX/2021/113374|MX/a/2017/004090|Título de patente normal|1223|GAGV|Pág(1)|QxQNm+9hHmy4Vkahb6vZ6ul1e4M=

Sello Digital:
iYJTYdRnfiMAwGsNLi2P3yilHtQw2isj4O3KmqFPlcEGM7WomPZg2yTQKvVIOEHBM3nNm50jNFCJ3RVP+ZCBK+4FIM0q3t4/xRmsac/WPlo1JbPg9pNweippR+6WialGK3kL8Pkm+BABw7u1KDSqDj6l79GbmDA2GAYY+bcO473x7MHM6PzWumsU7OtAg5VicT+Zrn+yXmk2xa5Pm/AK7sngxURcAIH1dMD9mg91Sflpi6NW/64H+nMb5bYW6KxapYNxiVDHJZAr45etV+enOWvchu7za+VuD93MCx4iS0ZAKUh2zgK50CVQatwRLgSJM11L044NUNjOhePrvYqfnw==



MX/2021/113374

MÉTODO DE PREPARACIÓN Y APLICACIÓN DE HIDROGELES DE COLÁGENO-OLIGOURRETANO-SÍLICE

OBJETO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere a la preparación de hidrogeles de colágeno-oligouretano-sílice que se aplican como recubrimiento de diversos biomateriales y tejidos mamarios. En los hidrogeles de colágeno-oligouretano-sílice, el componente mayoritario es el colágeno y su formación se lleva a cabo en condiciones fisiológicas (37°C y pH 7.4). Los hidrogeles de colágeno-oligouretano-sílice son biocompatibles, y también pueden aplicarse sobre
10 diversos dispositivos médicos y sobre la cama de heridas en piel, a la vez que se incorporan células o fármacos hidrosolubles. Los hidrogeles de colágeno-oligouretano-sílice se preparan por la combinación de colágeno extraído de diferentes tejidos animales -tales como tendones, submucosa intestinal, pericardio-, de oligouretanos solubles en agua derivados de diisocianatos alifáticos y poli(óxido de etileno), y de sílice coloidal derivada
15 de la hidrólisis y condensación de tetra alcoxilano. Esta formulación permite adaptar las características de los hidrogeles de colágeno-oligouretano-sílice mediante la elección y combinación de las materias primas -esto es, los precursores líquidos que dan lugar al hidrogel-, y las condiciones de reacción, tales como origen del colágeno, concentración y estructura química del oligouretano, y concentración de sílice.

20

ANTECEDENTES

Se sabe que el tipo de colágeno más abundante es el tipo I -nombrado así por ser el primero en descubrirse- y que es el componente mayoritario en diversos tejidos mamarios. Se sabe que el colágeno tipo I retiene su estructura molecular en los hidrolizados ácidos de tejidos
25 conectivos mamarios, y que es capaz de polimerizar después del incremento en el pH (usualmente de pH 3 a pH 7.4) y en la temperatura (usualmente de 4°C a 37°C) para dar lugar a la formación de una red tridimensional altamente hidratada, es decir, en estado hidrogel (Materials Science & Engineering C 2013, 33, 790; Biomaterials 2012, 33, 7028).

La estructura de la red tridimensional del hidrogel de colágeno tipo I no permite que sus propiedades mecánicas y de estabilidad sean las necesarias para aplicarlos de manera segura y reproducible, lo que dificulta el control de aspectos como la velocidad de degradación, la porosidad, la química superficial, y liberación de fármacos o células. Se sabe que, después de formados, los hidrogeles de colágeno son reticulados químicamente mediante el uso de reactivos como glutaraldehído, genipina, carbodiimida-succinilamida (EDC/NHS), con la finalidad de mejorar sus propiedades mecánicas y regular su tasa de degradación (ACS Applied Materials Interfaces 2011, 3, 2579; Journal of Biomedical Materials Research A 2007, 81, 59). Se sabe que el sistema EDC/NHS es un agente de acoplamiento efectivo para inducir la polimerización del colágeno y simultáneamente inducir su reticulación química, pero generando a la vez subproductos de reacción que resultan tóxicos en ambiente celulares (Biomacromolecules 2008, 9, 879). Las cadenas de polietilenglicol no reactivas también han demostrado inducir el autoensamble del colágeno; controlando el tamaño de fibra y las propiedades mecánicas (ACS Macro Letters 2013, 2, 1077). El método de preparación de la presente invención empleado para formar los hidrogeles de colágeno-oligouretano-sílice ofrece una ruta eficiente a condiciones fisiológicas (37°C y pH 7.4) para regular las propiedades de los hidrogeles, manteniendo la biocompatibilidad innata del colágeno.

La combinación de materiales de sílice con biomateriales de colágeno se ha reportado previamente. Se sabe que materiales híbridos constituidos de poliuretano, sílice y colágeno se pueden formar por la combinación a pH alcalinos (arriba de pH de 11) de estos tres componentes, siendo el componente mayoritario el poliuretano (Memorias de Congreso Nacional de la SPM 2013, 44). Además, el colágeno se puede tratar con silicatos para producir diferentes formas geométricas por la técnica sol-gel (HYBRID MATERIALS FROM A SILICATE-TREATED COLLAGEN MATRIX, METHODS FOR THE PRODUCTION THEREOF AND THE USE THEREOF, EP2057206 (A1)). En este caso, el componente principal también es el silicato. El proceso sol-gel de silicatos se puede emplear para rellenar los espacios intersticiales en tejidos descelularizados y producir, en consecuencia, mallas híbridas (RSC Advances 2014, 4, 63457, Materials Letters 2013, 106,

369). Cuando la combinación entre materiales de silicatos y colágeno se realiza para formar un material híbrido en estado hidrogel y en condiciones fisiológicas, el proceso involucra comúnmente dos etapas. Esto debido a la incompatibilidad de los distintos precursores líquidos. En la primera etapa, partículas de sílice dispersas en agua son producidas mediante un proceso sol-gel de silicatos y purificadas mediante operaciones de separación (ACS Applied Materials Interfaces 2014, 6, 15015; Biomedical Materials 2015, 10, 015020). Después, las partículas son dispersas en la solución de colágeno hidrolizado, en algunos casos, en combinación con especies de reticulación o usando colágeno funcionalizado con sitios reactivos (Journal of Materials Chemistry B, 2013, 1, 6283). El método de preparación de la presente invención empleado para formar hidrogeles de colágeno-oligouretano-sílice resuelve las limitaciones causadas por la interferencia de la sílice con la polimerización -que da lugar al hidrogel- del colágeno y a la baja solubilidad en agua de los precursores de las partículas de sílice.

Se sabe que los hidrogeles de colágeno tipo I y sus derivados se utilizan mundialmente en productos cosméticos y farmacéuticos. Por ejemplo, se han propuesto apósitos para curación de heridas basados en colágeno, en presentaciones de hidrogel, malla deshidratada o esponja liofilizada (Acta Biomaterialia 2013, 9, 7093). Se sabe también que se han explorado como recubrimientos para mejorar el desempeño de dispositivos médicos de implantación, dado que permiten el control de las interacciones célula-material para así mejorar el desempeño biológico de estos implantes (Biomaterials 2014, 35, 8585). Se sabe que los hidrogeles de colágeno se pueden formular otros biopolímeros y con factores de crecimiento para tratar desordenes en cartilago (FGF-18 FORMULATION IN ALGINATE/COLLAGEN HYDROGELS, US2016303291 (A1)) o para aumentar tejido suave (CROSS-LINKED HYDROGELS FOR SOFT TISSUE AUGMENTATION, EP3078388 (A1)). También se sabe que los hidrogeles de colágeno modificados se pueden usar como tintas en sistemas impresión tridimensional (3D HYDROGEL SCAFFOLD MANUFACTURING METHOD USING BIO-PRINTING TECHNOLOGY, KR20160096829 (A)).

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1 es una gráfica que muestra el aumento de la absorbancia (como una medida de la turbidez) de una mezcla acuosa de los precursores líquidos del hidrogel en función del tiempo. El aumento en la absorbancia se asocia al proceso de formación de hidrogeles base colágeno tipo I. Se observa que las formulaciones con oligouretano hasta una concentración de 60% permite la formación del hidrogel (izquierda) y que la presencia de sílice no impide la formación del gel (derecha).

Figura 2 es una gráfica que muestra el aumento del grado de entrecruzamiento en función del tiempo, y de la concentración del oligouretano y oligouretano-sílice. Se observa que el grado de entrecruzamiento de los hidrogeles de colágeno-oligouretano-sílice depende de la estructura química del oligouretano y de su concentración. Además, se observa que la sílice no impide el entrecruzamiento entre las moléculas de colágeno y oligouretano, y que el proceso simultaneo (con la mezcla de los precursores en estado líquido) es más eficiente para obtener altos grados de entrecruzamiento que el proceso en etapas.

Figura 3 es una gráfica que muestra el aumento de la captación de agua (como una medida del hinchamiento) en función del tiempo, y de la concentración del oligouretano y oligouretano-sílice. Se observa que la captación de agua de los hidrogeles de colágeno-oligouretano-sílice depende de la estructura química del oligouretano y de su concentración. Además, se observa que la sílice no impide el hinchamiento del hidrogel.

Figura 4 es una gráfica que muestra el cambio en la masa del hidrogel como resultado de la incubación con colagenasa (como una medida de la biodegradación) en función del tiempo, y de la concentración del oligouretano y oligouretano-sílice. Se muestran las curvas de pérdida de peso a dos diferentes unidades de actividad enzimática: 14 y 70 U. Se observa que la biodegradación de los hidrogeles de colágeno-oligouretano-sílice depende de la estructura química del oligouretano y de su concentración. Además, se observa que la sílice no impide la biodegradación del hidrogel.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Hidrogeles colágeno-oligouretano-sílice están constituidos de una red tridimensional de colágeno tipo I que se estabiliza por el entrecruzamiento con moléculas soluble en agua del



tipo de oligouretano derivado de disocianatos alifáticos y dioles o trioles base poli(óxido de etileno). Los Hidrogeles están constituidos de colágeno, oligouretano y sílice, que están en las proporciones entre 59-86%, 12-35%, 0.006-0.05% en peso, respectivamente.

El método de preparación de la invención da lugar a hidrogeles de colágeno-oligouretano-sílice, donde el componente mayoritario es el colágeno y su formación se lleva a cabo en condiciones fisiológicas (37°C y pH 7.4). El colágeno tipo I confiere una red tridimensional al hidrogel, las moléculas del tipo de oligouretano estabilizan esta red mediante enlaces de entrecruzamiento, y las partículas de sílice se incorporan y atrapan dentro de la red del hidrogel. El método de preparación de la presente invención comprende:

- 10 a) El colágeno tipo I es obtenido por la hidrólisis ácida en ácido acético (0.5 M) o ácido clorhídrico (0.01 M), asistida por pepsina (1 miligramo por mililitro), de diversos tejidos descelularizados de origen murino, porcino o bovino, entre ellos tendón de cola de rata, tendón de Aquiles bovino o porcino, submucosa de intestino delgado porcino y pericardio bovino. La hidrólisis ácida se lleva a cabo baja agitación
15 contante, en un lapso de tiempo entre 96 y 120 h, y temperatura de entre 2 y 4°C. La relación PESO en gramos de los tejidos / VOLUMEN en mililitros de la solución de hidrolisis es de 1:12. La concentración final de proteína total en los hidrolizados debe estar entre 0.4 y 0.6 % peso, respecto del volumen de la solución ácida.
- 20 b) Por otro lado, los oligouretanos son sintetizados por reacciones de adición entre dioles o trioles base poli(óxido de etileno), y diisocianatos alifáticos tales como diisocianato de hexametileno (HDI), diisocianato de trimetilhexametileno (TMDI), diisocianato de isoforona (IPDI), y diisocianato de lisina (LDI), y por reacciones de bloqueo de grupos isocianato con bisulfito de sodio. La proporción molar de los diisocianatos respecto de los dioles/trioles es de 3-4:1. La sílice se combina con los
25 oligouretanos en forma del precursor tetraetoxisilano con un contenido de entre 5% y 15% en peso, respecto de los oligouretanos.
- 30 c) La mezcla líquida de los componentes, esto es, colágeno y oligouretanos bloqueados que contiene partículas de sílice, se lleva a cabo bajo en medio acuoso, libre de solventes orgánicos, a pH de entre 2 y 3, bajo agitación, y a temperatura de

entre 2 y 4°C. El valor del pH de entre 2 y 3 es determinado por la forma de obtención de las materias primas, esto es, obtención de colágeno por hidrólisis ácida y síntesis de oligoureano combinado con tetraetoxisilano; y no requiere de un ajuste adicional. A la solución de colágeno se le agregan los oligoureanos bloqueados que
5 contiene partículas de sílice, en una concentración de entre 15 y 60 % en peso respecto del colágeno. La proporción de sílice respecto de los oligoureanos está entre 5 y 15% en peso. En estas proporciones se obtiene como resultado una mezcla miscible en fase acuosa.

d) Después de realizar el mezclado del colágeno y de oligoureanos-sílice, esta se
10 neutraliza a pH entre 7 y 7.4 con hidróxido de sodio y un amortiguador como fosfato salino o y tris(hidroximetil)aminometano (Tris-HCl). El hidróxido de sodio (solución de concentración de 0.1 M) se agrega en una proporción 0.1-0.15:1.0, respecto del volumen de la solución de colágeno. El amortiguador de fosfato salino (NaCl, 8.0 g/L; KCl, 0.2 g/L; Na₂HPO₄, 1.42 g/L; KH₂PO₄, 0.24g/L) se agrega
15 concentrado 10 veces (10x), en una proporción 0.1-0.15:1.0, respecto del volumen de la solución de colágeno. El amortiguador Tris-HCl (0.5 M) se agrega en una proporción 0.1-0.15:1.0, respecto del volumen de la solución de colágeno. Las proporciones dependen del pH de interés entre 7 y 7.4.

e) Después de neutralizar la mezcla de colágeno y oligoureanos-sílice, la misma se
20 calienta a temperatura de entre 30 y 37°C, entre 15 y 120 minutos. Bajo estas nuevas condiciones, los grupos isocianato en los oligoureanos se activan como sitios reactivos para conjugarse con las moléculas de colágeno tipo I, reforzando de esta manera la red tridimensional que el propio colágeno forma. Simultáneamente, las partículas de sílice quedan atrapadas en la red tridimensional. El calentamiento
25 se puede realizar en moldes, de tal forma que el producto final, el hidrogel de colágeno-oligoureano-sílice, puede tomar la forma de dicho molde. El procedimiento de obtención de la presente invención, descrito del inciso a) al inciso e), que da lugar al hidrogel de colágeno-oligoureano-sílice, puede ser descrito como un proceso de una sola etapa, ya que los tres componentes -colágeno,
30 oligoureano y sílice- que integran el hidrogel se combinan al mismo tiempo.

Como una alternativa, los precursores líquidos que dan lugar al hidrogel de colágeno-oligouretano-sílice se combinan con fármacos hidrosolubles o con células. El colágeno, el oligouretano/sílice, y los fármacos hidrosolubles o las células se mezclan en una fase líquida o en forma de suspensión, tal como se describe arriba en el inciso c).

5 Posteriormente, se repite el proceso descrito en los incisos d) y e) hasta alcanzar la solidificación de la mezcla, en estado hidrogel en el sitio o molde donde se aplicó.

Con este método de preparación se mejoran las propiedades del hidrogel de colágeno y a la vez se mantienen las ventajas que ofrece el hidrogel de colágeno, como la capacidad de
10 polimerización en condiciones fisiológicas y compatibilidad con el cultivo de células. La combinación del precursor líquido de colágeno, extraídos de diferentes tejidos, con oligouretano-sílice, así como su posterior inducción a la gelación por cambio de pH y temperatura, permite que las propiedades mecánicas y de estabilidad se mejoren. Con las mejoras obtenidas por el empleo de este método, el hidrogel de colágeno-oligouretano-
15 sílice se puede formar sobre diversas superficies de biomateriales o sobre tejido subcutáneo en mamíferos.

EJEMPLOS

-Los tejidos descelularizados de tendón de cola de rata, de tendón de Aquiles bovino, de
20 submucosa de intestino delgado porcino, de pericardio bovino son hidrolizados por separado mediante su colocación en una solución de ácido clorhídrico (0.01 M) que contiene pepsina (1 miligramo por mililitro) durante 96 h a 4°C bajo agitación continua. La relación PESO en gramos de los tejidos / VOLUMEN en mililitros de la solución es de 1:12. Transcurrido este tiempo, los hidrolizados son filtrados, con un filtro de gasa estéril,
25 para separar los grumos de tejido que no se solubilizaron. Los grumos se desechan y los hidrolizados se almacena a 4°C hasta su uso. Todas las soluciones empleadas son rutinariamente esterilizadas por calor y presión, previo a su uso. En esta etapa se realizan mediciones estándares para la determinación de la concentración de proteínas por método compatibles con colágeno, por ejemplo, el método del Ácido Bicinchonínico, y se realizan
30 análisis de electroforesis para identificar las bandas del colágeno en condiciones

- desnaturalizantes. El hidrolizado de colágeno (con una concentración de entre 0.4 y 0.6 % peso de colágeno respecto del volumen de la solución ácida) es mezclado en frío (4°C) con diferentes cantidades de oligouretanos (entre 15 y 60 % en peso, respecto del colágeno) de diferentes tipos (derivados de diferentes disocianatos alifáticos, por ejemplo, el diisocianato de hexametileno) y mezclado vigorosamente. La mezcla es naturalizada a pH 7.4 por la adición de bases, como hidróxido de sodio en solución (0.1 M), y amortiguadores de fosfato salino. La mezcla es agitada vigorosamente y el pH final es documentado. La mezcla es entonces colocada en el molde y este calentado a temperatura de entre 30 y 37°C, preferentemente 37°C, durante al menos 20 minutos.
- 5
- 10 El hidrolizado de colágeno (con una concentración de entre 0.4 y 0.6 % peso de colágeno respecto del volumen de la solución ácida) también es mezclado en frío (4°C) con 15 % en peso de oligouretanos derivados de diferentes disocianatos alifáticos, que contienen entre 5 y 15% de sílice, derivada de tetraetoxisilano. La mezcla se agita vigorosamente y se naturaliza como se describió en el párrafo anterior. La mezcla es entonces colocada en el
- 15 molde y este calentado a temperatura de entre 30 y 37°C, preferentemente 37°C, durante al menos 20 minutos.
- El hidrolizado de colágeno es mezclado en frío con los oligouretanos/sílice como se describió en los párrafos anteriores. La mezcla se agita vigorosamente y en la etapa de neutralización se incorporan fármacos en la solución amortiguadora de pH. Los fármacos
- 20 son presentación hidrosoluble de vancomicina, gentamicina, o dexametasona. La mezcla es entonces colocada en el molde y este calentado a temperatura de 37°C, durante al menos 60 minutos.
- El hidrolizado de colágeno es mezclado en frío con los oligouretanos o los oligouretanos-sílice como se describió en los dos párrafos anteriores. La mezcla se agita vigorosamente y
- 25 en la etapa de neutralización se usa medio de cultivo celular junto con la solución amortiguadora de pH. La mezcla es entonces colocada en el molde y este calentado a temperatura de 37°C, durante al menos 60 minutos.
- En cualquiera de las formulaciones anteriores, la mezcla neutralizada se puede aplicar en un molde que contenga una prótesis sintética para refuerzo de tejido suave o una bioprótesis
- 30 (de origen animal o humano), previo al calentamiento, o se puede aplicar sobre la cama de

una herida cutánea. En ambos casos, el hidrogel cumple la función de recubrimiento. En el caso de la herida cutánea, la temperatura corporal hará la función de sistema de calentamiento, por lo que inducirá la formación del hidrogel.

5

10

15

20

25

30

REIVINDICACIONES

- 5 1.- HIGROGELES COLÁGENO-OLIURETANO-SÍLICE que se caracterizan por los componentes de colágeno tipo I solubilizado en agua, oligouretano soluble en agua, y sílice dispersada en agua, que están en las proporciones entre 59-86%, 12-35%, 0.006-0.05% en peso, respectivamente.
- 10 2.- HIGROGELES DE COLÁGENO-OLIURETANO-SÍLICE de acuerdo a la reivindicación 1 en donde están constituidos de una red tridimensional altamente hidratada de colágeno tipo I que se estabiliza por el entrecruzamiento con moléculas solubles en agua del tipo de oligouretano derivado de disocianatos alifáticos y dioles o trioles base poli(óxido de etileno).
- 15 3.- HIGROGELES DE COLÁGENO-OLIURETANO-SÍLICE de acuerdo a la reivindicación 1 en donde partículas de sílice, derivadas de tetraetoxisilano soluble en agua, se dispersan en la red tridimensional altamente hidratada de moléculas de colágeno tipo I y moléculas del tipo de oligouretano.
- 20 4.- Método de preparación de los HIGROGELES DE COLÁGENO-OLIURETANO-SÍLICE de acuerdo a la reivindicación 1 que se caracteriza por las siguientes etapas:
- 25 a) El colágeno tipo I es obtenido por la hidrólisis ácida en ácido acético (0.5 M) o ácido clorhídrico (0.01 M), asistida por pepsina (1 miligramo por mililitro), de diversos tejidos descelularizados, de diversos tejidos descelularizados de origen murino, porcino o bovino, entre ellos tendón de cola de rata, tendón de Aquiles bovino o porcino, submucosa de intestino delgado porcino y pericardio bovino. La hidrólisis ácida se lleva a cabo baja agitación contante, en un lapso de tiempo entre 96 y 120 h, y temperatura de entre 2 y 4°C. La relación PESO en gramos de los tejidos / VOLUMEN en mililitros de la solución de hidrolisis es de 1:12. La concentración



final de proteína total en los hidrolizados debe estar entre 0.4 y 0.6 % peso, respecto del volumen de la solución ácida.

- 5 b) Los oligouretanos son sintetizados por reacciones de adición entre dioles o trioles base poli(óxido de etileno), y diisocianatos alifáticos tales como diisocianato de hexametileno, diisocianato de trimetilhexametileno, diisocianato de isoforona, y diisocianato de lisina, y por reacciones de bloqueo de grupos isocianato con bisulfito de sodio. La sílice se combina con los oligouretanos en forma del precursor tetraetoxisilano con un contenido de entre 5% y 15% en peso, respecto de los oligouretanos.
- 10 c) La mezcla de los componentes, esto es, colágeno y oligouretanos bloqueados que contiene partículas de sílice, se lleva a cabo bajo en medio acuoso, libre de solventes orgánicos, a pH de entre 2 y 3, bajo agitación, y a temperatura de entre 2 y 4°C. La proporción de sílice respecto de los oligouretanos está entre 5 y 15% en peso.
- 15 d) Después de realizar el mezclado del colágeno y de oligouretanos-sílice, esta se neutraliza a pH entre 7 y 7.4 con hidróxido de sodio y un amortiguador como fosfato salino o y tris(hidroximetil)aminometano (Tris-HCl). El hidróxido de sodio (solución de concentración de 0.1 M) se agrega en una proporción 0.1-0.15:1.0, respecto del volumen de la solución de colágeno. El amortiguador de fosfato salino (NaCl, 8.0 g/L; KCl, 0.2 g/L; Na₂HPO₄, 1.42 g/L; KH₂PO₄, 0.24g/L) se agrega concentrado 10
- 20 veces (10x), en una proporción 0.1-0.15:1.0, respecto del volumen de la solución de colágeno. El amortiguador Tris-HCl (0.5 M) se agrega en una proporción 0.1-0.15:1.0, respecto del volumen de la solución de colágeno. Las proporciones dependen del pH de interés entre 7 y 7.4.
- 25 e) Después de neutralizar la mezcla de colágeno y oligouretanos-sílice, la misma se calienta a temperatura de entre 30 y 37°C, entre 15 y 120 minutos dando lugar al hidrogel de colágeno-oligouretano-sílice.

5.- HIGROGELES DE COLÁGENO-OLIURETANO-SÍLICE de acuerdo a la reivindicación 1 en donde el grado de entrecruzamiento se modifica con la selección de tipo

30 de oligouretano y la concentración del oligouretano o oligouretano-sílice.

6.- HIGROGELES DE COLÁGENO-OLIURETANO-SÍLICE de acuerdo a la reivindicación 1 en donde el hinchamiento y la biodegradación de la red tridimensional altamente hidratada se modifica con el grado de entrecruzamiento, la selección de tipo de oligouretano y la concentración del oligouretano o oligouretano-sílice.

7.- HIGROGELES DE COLÁGENO-OLIURETANO-SÍLICE para usarse en la incorporación de fármacos o células y el recubrimiento de biomateriales para implantación.

RESUMEN

La presente invención se refiere a la preparación de hidrogeles de colágeno-oligouretano-sílice que se aplican como recubrimiento de diversos biomateriales y tejidos mamarios. Los hidrogeles de colágeno-oligouretano-sílice son biocompatibles, y también pueden aplicarse sobre diversos dispositivos médicos y sobre la cama de heridas en piel, a la vez que se incorporan células o fármacos hidrosolubles. El hidrogel se obtiene por la combinación de colágeno extraído de diferentes tejidos animales -tales como tendones, submucosa intestinal, pericardio-, de oligouretano soluble en agua y de sílice coloidal derivada de la hidrólisis y condensación de tetraetoxisilano. Esta mezcla líquida, libre de solventes orgánicos, se lleva a cabo a pH de entre 2 y 3, bajo agitación, y posteriormente se neutraliza a pH entre 7 y 7.4 con ayuda de una base y un amortiguador. Este método de preparación permite mejorar las propiedades de los hidrogeles de colágeno y a la vez mantener las ventajas que ofrece el hidrogel de colágeno, como capacidad de polimerización en condiciones fisiológicas (pH 7.4, 37°C) y compatibilidad con el cultivo de células. Esta formulación permite adaptar las características de los hidrogeles de colágeno-oligouretano-sílice mediante la elección y combinación de las materias primas -esto es, los precursores líquidos que dan lugar al hidrogel-, y las condiciones de reacción, tales como origen del colágeno, concentración y estructura química del oligouretano, y concentración de sílice.

FIGURAS

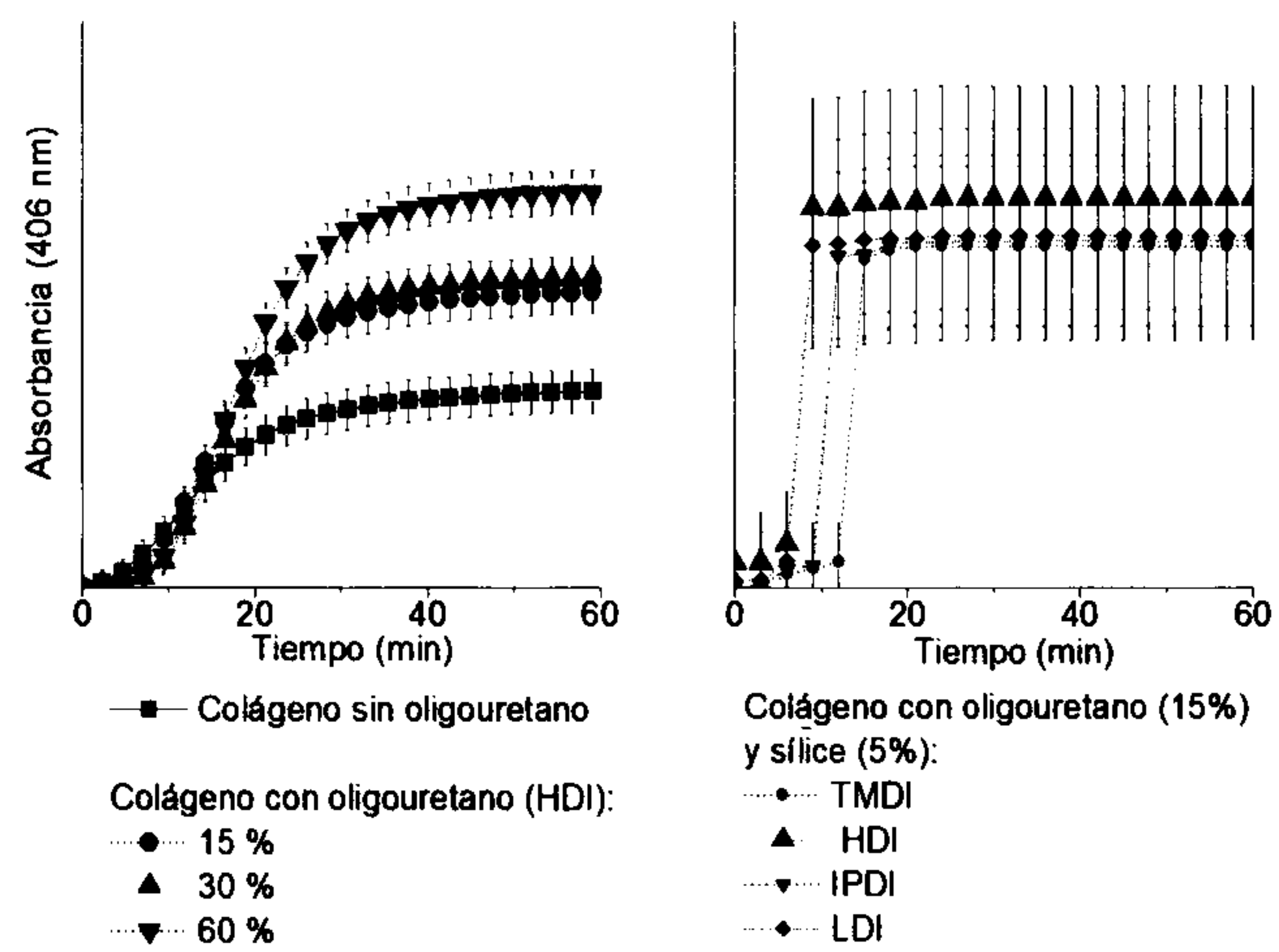


Figura 1

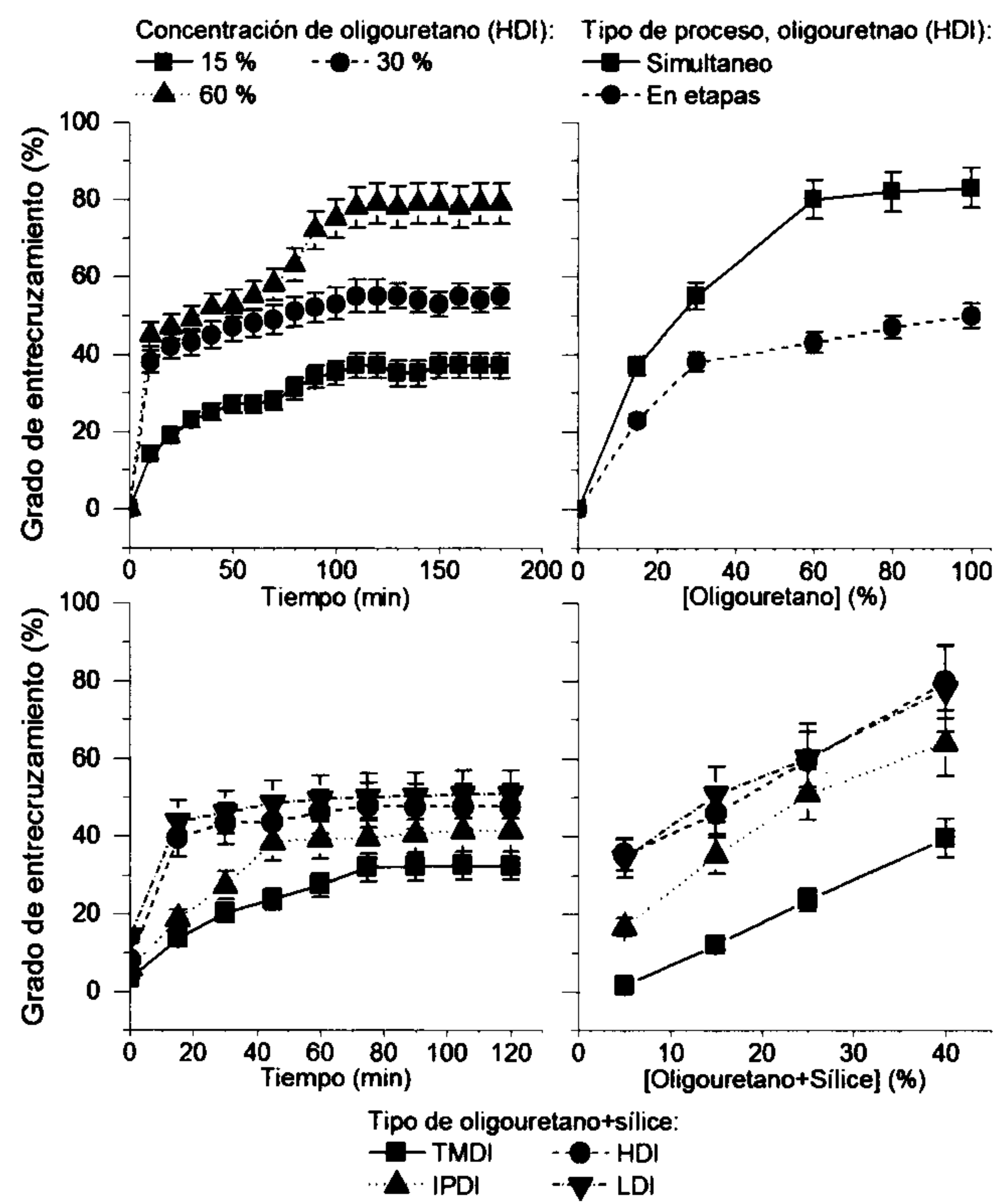


Figura 2

2/2

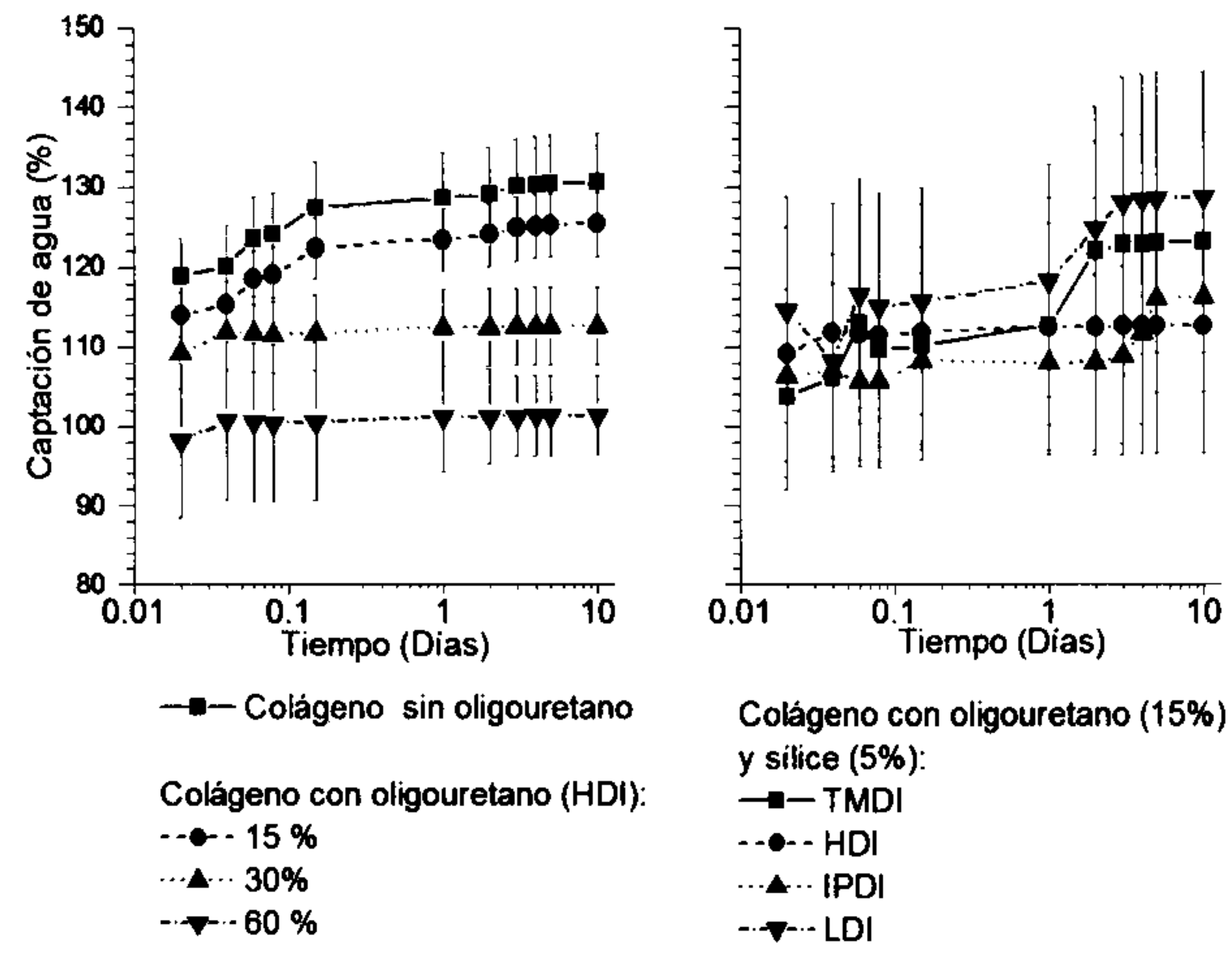


Figura 3

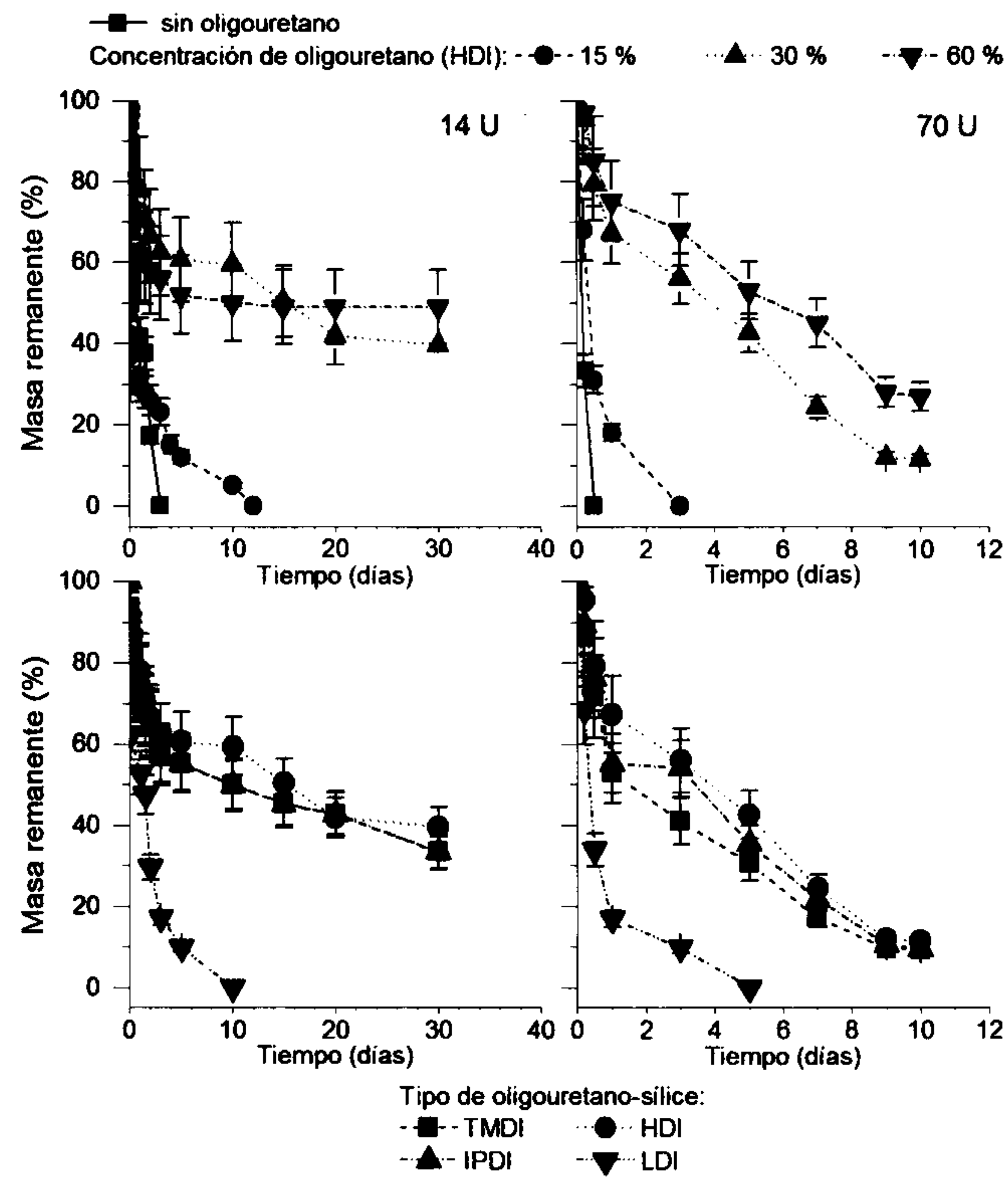


Figura 4