



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0923362-8 B1



(22) Data do Depósito: 09/12/2009

(45) Data de Concessão: 13/10/2020

(54) Título: MÉTODO DE PRODUÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FOSFATO DE ÁCIDO ASCÓRBICO, COMPOSIÇÃO DE LIBERAÇÃO CONTROLADA E DISPOSITIVO MÉDICO.

(51) Int.Cl.: A61K 31/375; A61K 47/34; A61K 9/70.

(52) CPC: A61K 31/375; A61K 47/34; A61K 9/7007.

(30) Prioridade Unionista: 11/12/2008 US 12/332,414.

(73) Titular(es): ADVANCED TECHNOLOGIES AND REGENERATIVE MEDICINE, LLC.

(72) Inventor(es): YUFU LI; STEPHEN WOHLERT; CHUNLIN YANG.

(86) Pedido PCT: PCT US2009067289 de 09/12/2009

(87) Publicação PCT: WO 2010/068654 de 17/06/2010

(85) Data do Início da Fase Nacional: 10/06/2011

(57) Resumo: SISTEMAS DE LIBERAÇÃO SUSTENTADA DE FOSFATO DE ÁCIDO ASCÓRBICO. A presente invenção refere-se a um método inovador para a preparação de uma composição de liberação controlada. Especificamente, a presente invenção refere-se a um método de preparação de composições de liberação controlada de fosfato de ácido ascórbico e polímeros absorvíveis. É apresentada, também, uma composição de liberação controlada de fosfato de ácido ascórbico inovadora produzida pelo método da presente invenção.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para
**"MÉTODO DE PRODUÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO DE
LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FOSFATO DE ÁCIDO
ASCÓRBICO, COMPOSIÇÃO DE LIBERAÇÃO CONTROLADA E
DISPOSITIVO MÉDICO".**

CAMPO DA INVENÇÃO

[0001] A presente invenção refere-se, em geral, ao campo de composições de liberação sustentada de fosfato de ácido ascórbico e suas aplicações para a regeneração e o reparo de tecido, em particular, composições de liberação sustentada de fosfato de ácido ascórbico e polímeros biodegradáveis.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[0002] O colágeno é o principal componente das proteínas da matriz extracelular de todo o tecido conjuntivo, incluindo pele, tendões, ossos, cartilagens, vasos sanguíneos e ligamentos. É fato conhecido que o colágeno desempenha um papel de importância crítica na criação e na manutenção da estrutura de tecidos humanos. Os estudos recentes revelam que o colágeno interage com as células em tecidos conjuntivos e transduz sinais essenciais para a regulação de ancoragem, migração, proliferação, diferenciação e sobrevivência celular.

[0003] Sabe-se que o ácido ascórbico é necessário para a hidroxilação do colágeno. O ácido ascórbico é um cofator de prolil-hidroxilase e lisil-hidroxilase. A hidroxilação de prolina é essencial para a estabilização de espiral tripla de colágeno, enquanto que a hidroxilação de lisina é necessária para a reticulação de colágeno. Acredita-se que a produção de colágeno comprometida associada à deficiência de ácido ascórbico resulta na cura prejudicada de ferimentos, e pode ter outros efeitos adversos.

[0004] Shukla, e Mason et al. (Shukla, S. P, Plasma and Urinary

Ascorbic Acid Levels in the Postoperative Period, *Experientia* 25:704, 1969) sugeriu que o estresse cirúrgico resultou em necessidades elevadas de ácido ascórbico. Entretanto, Levenson et al. (Levenson et al., Vitamins in Acute Illness, *Annals of Surgery* 24 (5) páginas 840 a 856 1946)) relatou níveis de ácido ascórbico abaixo de valores normais em pacientes gravemente feridos. Em alguns pacientes, os níveis de plasma de ácido ascórbico foram imensuráveis dentro de algumas horas após uma lesão grave. Levenson et al. também relatou que os vasos sanguíneos de ácido ascórbico permaneceram subnormais mesmo com injeções intramusculares de 1000 mg diárias até o oitavo dia. A incorporação de ácido ascórbico em dispositivos implantáveis e em arcabouços de engenharia tecidual para formulações de liberação sustentada e localizada de ácido ascórbico nos sítios onde a biossíntese de colágeno é necessária, poderia ser desejável para o acentuamento da regeneração e reparo de tecidos.

[0005] As formulações de liberação controlada de fosfato de ácido ascórbico são preparadas pela evaporação de solvente. Por exemplo, Hyongbum Kim et al. (Kim H. et al (2003): Sustained Release of Ascorbic-2-phosphate and Deamethasone from Porous PLGA Scaffolds for Bone Tissue Engineering Using Mesenchymal Stem Cells, *Biomaterials* 24:4671 a 4679)) descreveu um arcabouço PLGA poroso para a liberação controlada de fosfato de ácido ascórbico, uma forma estável de ácido ascórbico. As matrizes PLGA porosas contendo fosfato de ácido ascórbico e dexametasona foram preparadas por métodos de evaporação de solvente/lixiviação de particulados. Existem desvantagens no uso de métodos de evaporação de solvente conhecidos no preparo de formulações de liberação controlada de fosfato de ácido ascórbico. As desvantagens incluem a necessidade de remover solvente residual, a dificuldade em ou a impossibilidade de preparar partes de dispositivo médico tridimensional (3-D) por

evaporação de solvente, e existe uma explosão substancial de liberação de fosfato de ácido ascórbico a partir das estruturas fundidas com solvente tanto *in vivo* quanto *in vitro*. Portanto, existe uma necessidade nessa técnica de métodos aperfeiçoados e inovadores para produzir composições de liberação controlada de ácido ascórbico e componentes e dispositivos médicos feitos dessas composições.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[0006] A invenção refere-se a um método de preparação de uma composição de liberação controlada. Especificamente, a invenção refere-se a um método de preparação de uma composição de liberação controlada de fosfato de ácido ascórbico.

[0007] O método inovador da presente invenção para produzir uma composição de liberação controlada de fosfato de ácido ascórbico inovadora tem as seguintes etapas. O fosfato de ácido ascórbico é seco a uma temperatura não maior que cerca de 160°C por cerca de 30 minutos. O fosfato de ácido ascórbico seco é misturado em estado fundido com um polímero de poliéster alifático absorvível a uma temperatura não maior que cerca de 160°C para formar um fosfato de ácido ascórbico e uma composição de polímero. Opcionalmente, o processo tem a etapa adicional de processamento do ácido ascórbico e da composição de polímero em uma forma desejada a uma temperatura não maior que cerca de 160°C.

[0008] Outro aspecto da presente invenção é uma composição de fosfato de ácido ascórbico inovadora produzida pelo processo descrito acima. Essa composição inovadora pode ser adicionalmente processada em componentes ou dispositivos médicos pelo processamento por fusão a uma temperatura não maior que cerca de 160°C.

[0009] Ainda outro aspecto da presente invenção é um dispositivo médico fabricado a partir das composições de liberação controlada da

presente invenção.

Esses e outros aspectos e vantagens da presente invenção ficarão mais aparentes a partir da seguinte descrição e dos desenhos em anexo.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[00010] A figura 1 mostra um perfil de liberação de filme PCL/PLA 40/60 carregado com fosfato de ácido ascórbico preparado com o uso de um processo de evaporação de solvente de técnica anterior.

[00011] A figura 2 mostra uma imagem SEM de uma seção transversal de um filme PCL/PLA 40/60 carregado com fosfato de ácido ascórbico preparado conforme descrito no Exemplo 3.

[00012] A figura 3 mostra um perfil de liberação de filme PCL/PLA 40/60 carregado com fosfato de ácido ascórbico preparado conforme descrito no Exemplo 5.

[00013] A figura 4 mostra um perfil de liberação de filme PCL/PGA 35/65 carregado com fosfato de ácido ascórbico preparado conforme descrito no Exemplo 4.

DESCRIÇÃO DETALHADA

[00014] O fosfato de ácido ascórbico (AZP) é uma forma estável de ácido ascórbico que tem uma temperatura de fusão de cerca de 260°C. O fosfato de ácido ascórbico é um pó branco que é extremamente higroscópico. Conforme recebido, o AZP pode conter uma umidade até cerca de 7,5% em peso. Os polímeros de poliéster alifáticos absorvíveis biocompatíveis são sensíveis à umidade, o que pode causar a degradação do polímero, especificamente sob temperaturas elevadas. As tentativas de fundir a mistura de AZP em polímeros de poliéster alifáticos absorvíveis com o uso de condições de processamento por fusão convencionais, tipicamente, falharam e geraram um resultado mal sucedido. A presente invenção fornece um método inovador para produzir composições de liberação controlada

de fosfato de ácido ascórbico através do processamento por fusão. As composições de liberação controlada de fosfato de ácido ascórbico são úteis no reparo e regeneração de tecidos, e podem ser fundamentais ao processo de cura para determinadas condições médicas e determinados pacientes.

[00015] As novas composições de liberação controlada de fosfato de ácido ascórbico (AZP) inovadoras da presente invenção são preparadas pela secagem do pó de AZP e pela mistura em estado fundido do pó de AZP com o polímero de poliéster alifático absorvível biocompatível pré-seco. A composição de polímero/AZP misturado em estado fundido pode, então, ser adicionalmente processada por fusão na forma do componente ou dispositivo médico desejado incluindo, mas não se limitando a, fibras, hastes, roscas, grampos, âncoras de sutura, filmes e similares. Os processos por fusão que podem ser usados para formar esses dispositivos médicos a partir das composições inovadoras da presente invenção incluem processos convencionais como modelagem por injeção, modelagem por compactação, extrusão e similares de acordo com os requisitos do processos da presente invenção. É particularmente preferencial que os dispositivos médicos produzidos a partir das composições de liberação de controle da presente invenção sejam implantáveis nos tecidos corporais e/ou cavidades do corpo, embora possam ser úteis em aplicações externas como redes ou placas montadas sobre a pele.

[00016] O termo "liberação controlada" conforme usado na presente invenção é definido como uma liberação sustentada de agentes terapêuticos com o controle de tempo e espaço dos efeitos biológicos dos agentes terapêuticos na saúde de seres humanos e de animais.

[00017] O termo "explosão" conforme usado na presente invenção é definido como a liberação de fármaco de alta taxa inicial observada no início do processo de liberação controlada. A "explosão" pode ser

causada por inúmeros mecanismos, incluindo dessorção de superfície, difusão do poro ou a falta de uma barreira frontal de difusão para regular o processo difusivo. Esse período de estado não permanente inicial pode, também, ser denominado como "liberação imediata".

[00018] O termo "polímeros absorvíveis" conforme usado no presente documento é definido como polímeros biocompatíveis sintéticos (incluindo copolímeros) que podem degradar e ser absorvidos pelo corpo quando são implantados em seres humanos ou em animais. Os polímeros absorvíveis prontamente se decompõem em pequenos segmentos quando são expostos ao tecido corporal úmido. Os segmentos são absorvidos pelo corpo ou passam por ele. Mais particularmente, os segmentos biodegradados não eliciam uma reação corporal estranha crônica permanente, porque são absorvidos pelo corpo ou passados a partir do corpo, tal que nenhum traço permanente ou residual do segmento seja retido pelo corpo.

[00019] No processo da presente invenção, o AZP é seco para minimizar a água ligada. A água ligada é removida do AZP por aquecimento a uma temperatura não maior que cerca de 160°C por cerca de 30 minutos. O AZP é suficientemente seco em uma quantidade que evita efetivamente a degradação do polímero durante o processamento. Por exemplo, a umidade residual é reduzida para não mais que cerca de 1%. O AZP pode ser seco em um modo convencional usando aparelhos de secagem convencionais mediante vácuo ou sob atmosfera inerte, como nitrogênio ou gás argônio. Apesar de um folheto de dados de segurança de materiais de um fabricante de AZP determinar que a temperatura de degradação do AZP é de cerca de 260°C, foi revelado que a secagem do AZP sob temperaturas mais elevadas e por períodos mais longos resulta na degradação progressiva do AZP.

[00020] Os polímeros de poliéster alifáticos absorvíveis úteis nos

processos da presente invenção também precisam ser secos para minimizar o teor de umidade antes do processamento. O polímero de poliéster alifático absorvível pode ser seco em um modo convencional como através de armazenamento sob vácuo à temperatura ambiente até o momento do processamento. O polímero pode ser mantido seco de maneira convencional tal como por armazenamento sob condições de gás inerte.

[00021] Os polímeros de poliéster alifáticos absorvíveis adequados que podem ser usados para preparar as composições de liberação controlada de AZP conforme descritas no presente documento são aqueles que têm uma temperatura de fusão não maior que 160°C, e que são processáveis por fusão a uma temperatura não maior que 160°C. Os polímeros de poliéster alifáticos absorvíveis adequados são homopolímeros ou copolímeros preparados a partir de monômeros, incluindo, mas não se limitando a, lactídeo (incluindo ácido láctico), glicolídeo (incluindo ácido glicólico), épsilon-caprolactona, dioxanona e carbonato de trimetileno. Em uma modalidade, os polímeros de poliéster alifáticos absorvíveis são preparados a partir de monômeros incluindo, mas não se limitando a, épsilon-caprolactona, glicolídeo (incluindo ácido glicólico) e lactídeo (incluindo ácido láctico). Em outra modalidade, o polímero de poliéster alifático absorvível é um copolímero de épsilon-caprolactona e lactídeo que tem uma razão molar de cerca de 40/60. Em outra modalidade, o polímero de poliéster alifático absorvível é um copolímero de épsilon-caprolactona e glicolídeo que tem uma razão molar de cerca de 35/65.

[00022] O pó de AZP pré-seco e o polímero de poliéster alifático absorvível são pesados e misturados em estado fundido para formar uma composição sob gás inerte seco com o uso de uma máquina de mistura por fusão convencional, tal como aquelas vendidas sob o nome comercial BRABENDER (Hackensack, NJ, EUA). O AZP pode

ser adicionado ao polímero em uma quantidade suficientemente eficaz, por exemplo, na quantidade de cerca de 0,5%, em peso, a cerca de 20%, em peso, do peso total da composição. Em uma modalidade, o AZP pode ser adicionado ao polímero na quantidade de cerca de 2%, em peso, a cerca de 10%, em peso, do peso total da composição. O pó de AZP seco e o polímero de poliéster alifático absorvível são, então, fornecidos como alimento em um misturador preaquecido a uma temperatura não maior que 160°C e são misturados em estado fundido durante cerca de 5 minutos a cerca 30 minutos sob gás inerte seco para formar uma composição de polímero/AZP. Em uma modalidade, a mistura é misturada em estado fundido durante cerca de 5 minutos a cerca de 15 minutos. Em ainda outra modalidade, a mistura é misturada em estado fundido durante cerca de 10 minutos.

[00023] A composição de polímero/AZP pode, então, ser adicionalmente processada na composição de liberação controlada em uma forma adequada ou pode ser granulada ou peletizada e armazenada sob condições secas até que esteja pronta para o processamento adicional na composição de liberação controlada em uma forma adequada. As formas adequadas da composição de liberação controlada são dispositivos médicos incluindo, mas não se limitando a, fibras, hastes, roscas, grampos, âncoras de sutura, filmes e similares. Embora não sejam limitadas a isso, é particularmente preferencial processar as composições da presente invenção em componentes e dispositivos médicos implantáveis, apesar de as composições poderem, também, ser usadas para componentes e dispositivos não implantáveis. Essas formas ou modalidades podem ser preparadas através de métodos de processamento por fusão convencionais, incluindo extrusão, modelagem por injeção ou através de modelagem por compactação desde que a temperatura de

processamento não seja maior que cerca de 160°C.

[00024] Em uma modalidade, um ou mais agentes bioativos podem, opcionalmente, ser usados em combinação com as composições de liberação controlada de AZP. Os agentes bioativos podem estar em ou revestidos nas composições de liberação controlada de AZP preparadas conforme descritas no presente documento.

[00025] Os agentes bioativos adequados incluem, mas não se limitam a, agentes que evitam infecções (por exemplo, agentes microbicidas e antibióticos), agentes que reduzem inflamações (por exemplo, agentes anti-inflamatórios), agentes que evitam ou minimizam a formação de adesão, como celulose regenerada oxidada (por exemplo, aqueles vendidos sob os nomes comerciais de INTERCEED e SURGICEL, disponíveis junto a Ethicon, Inc.), e ácido hialurônico, e agentes que suprimem o sistema imunológico (por exemplo, imunossupressores), fatores de crescimento heterólogo ou autólogo, proteínas (incluindo proteínas de matriz), peptídeos, anticorpos, enzimas, plaquetas, plasma rico em plaquetas, glicoproteínas, hormônios, citocinas, glicosaminoglicanos, ácidos nucleicos, analgésicos, vírus, partículas virais e tipos de célula, agentes quimiotáticos, antibióticos e analgésicos esteroidais e não esteroidais.

[00026] Um tecido viável pode, também, ser combinado com as composições de liberação controlada de AZP da presente invenção para promover a regeneração tecidual. A fonte pode variar e o tecido pode ter uma variedade de configurações, entretanto, em uma modalidade, o tecido está, opcionalmente, sob a forma de fragmentos de tecido finamente moídos, o que pode acentuar a eficácia do recrescimento do tecido e estimular uma resposta de cura. Em outra modalidade, o tecido viável pode, opcionalmente, estar sob a forma de uma fatia ou tira de tecido colhida de um tecido saudável que contém

células viáveis capazes de regenerar e/ou remodelar o tecido.

[00027] As composições de liberação controlada de AZP podem, também, ser usadas em combinação com células para acentuar a deposição de colágeno. Os tipos de células adequados incluem, mas não se limitam a, osteócitos, osteoblastos, osteoclastos, fibroblastos, células-tronco, células pluripotentes, progenitoras condrócitas, condrócitas, células endoteliais, células do cordão umbilical, células estromais, células-tronco mesenquimais, células epiteliais, mioblastos, tenócitos, fibroblastos de ligamento, neurônios, células da medula óssea, sinoviócitos, células-tronco embrionárias; células precursoras derivadas de tecido adiposo; células progenitoras de sangue periférico; células-tronco isoladas de tecido adulto; células geneticamente transformadas; uma combinação de condrócitos e outras células; uma combinação de osteócitos e outras células; uma combinação de sinoviócitos e outras células; uma combinação de células da medula óssea e outras células; uma combinação de células mesenquimais e outras células; uma combinação de células estromais e outras células; uma combinação de células-tronco e outras células; uma combinação de células-tronco embrionárias e outras células; uma combinação de células precursoras isoladas de tecido adulto e outras células; uma combinação de células progenitoras de sangue periférico e outras células; uma combinação de células isoladas de tecido adulto e outras células; e uma combinação de células geneticamente transformadas e outras células.

[00028] Um versado na técnica apreciará que a identidade do agente bioativo pode ser determinada por um cirurgião, profissional de cuidados com a saúde ou outro profissional de ciências biológicas, com base nos princípios da ciência médica e nos objetivos de tratamento aplicáveis.

[00029] As composições de liberação controlada de AZP da

presente invenção podem ser usadas nos procedimentos cirúrgicos convencionais a seguir onde a síntese de colágeno acentuada é desejada, incluindo, mas não se limitando a, cirurgia abdominal, tal como reparo da hérnia e reparo do chão pélvico; cura de ferimentos dermais, reparo da cartilagem, reparo de ossos, reparo de ligamentos e similares e equivalentes, e quaisquer dentre os novos procedimentos que possam ser desenvolvidos sendo que a síntese de colágeno acentuada é desejada para um resultado médico aprimorado.

[00030] Os exemplos a seguir são ilustrativos dos princípios e práticas desta invenção, embora não sejam limitantes. Numerosas modalidades adicionais no escopo e no espírito da invenção ficarão evidentes aos versados na técnica, uma vez que tenham o benefício desta descrição.

Exemplo 1: Avaliação da Condição de Secagem de AZP

[00031] A seguintes condições de secagem para um sal trissódico do ácido 2-fosfa-L-ascórbico (AZP), (>98% (HPLC), Fluka, lote n°: 1322473 52607420) foram testadas: 90°C/24 horas sob vácuo, 160°C/30 minutos sob um cobertor de nitrogênio seco, e 200°C/30 minutos sob cobertor de nitrogênio seco. Os períodos testados incluem a estimativa do período de composição e do período para a coleta de amostras e resfriamento.

[00032] 6 frascos de vidro foram pré-secos em um forno a vácuo a 160°C durante 30 minutos e transferidos para uma caixa de luvas purgada com gás nitrogênio seco. O pó de AZP foi pesado em cada frasco (ver Tabela 1) na caixa de luvas. Os frascos de pó de AZP foram, então, submetidos a condições de aquecimento conforme mostrado na Tabela.

Tabela

Frasco n°	Peso Inicial (mg)	Primeiro aquecimento durante 24 horas (°C) / (N ₂ ou vac)	Peso após primeiro aquecimento (mg)	Perda de peso após primeiro aquecimento (% , em peso)	Segundo aquecimento durante 30 min (°C) / (N ₂ ou vac)	Peso após segundo aquecimento (mg)	Perda de peso total após segundo aquecimento (% , em peso)
1 (controle)	399	RT/N ₂	395	1,00	RT/N ₂	398	0,25
2	169	RT/N ₂	167	1,18	160/N ₂ /ar	152	10,06
3	284	RT/N ₂	279	1,76	200/N ₂ /ar	261	8,10
4	272	90/Vac	250	8,09	RT/N ₂	260	4,41
5	224	90/Vac	207	7,59	160/N ₂ /ar	210	6,25
6	311	90/Vac	291	6,43	200/N ₂ /ar	290	6,75

[00033] Os frascos de pó de AZP seco foram vedados com Parafilme e armazenados sob um cobertor de nitrogênio seco até a avaliação. A porcentagem (%) de perda de peso foi cumulativa ao longo de ambas condições de aquecimento. As amostras sob RT/N₂ foram armazenadas em caixa de nitrogênio. As amostras foram avaliadas para a alteração de cor durante o curso das condições de aquecimento. A alteração de cor é um indicador de degradação de AZP. As amostras aquecidas por não mais que 30 minutos mantiveram a cor branca original do pó de AZP. As amostras aquecidas a um tratamento de 90°C/24 horas mostraram uma cor amarela muito suave, portanto, foi observado que o aquecimento durante longos períodos mesmo em uma temperatura inferior causou certa degradação do AZP. As amostras que foram submetidas a 2 tratamentos de calor mudaram para uma cor levemente amarela. A amostra de número 6 aquecida a 200°C teve a cor amarela mais escura. Isso mostrou que a secagem é completa sob 90°C/vácuo/24 horas, visto que a secagem adicional em temperaturas mais elevadas não causou uma redução no peso. A temperatura mais elevada e o período mais curto poderiam ter os mesmos efeitos de secagem sobre a perda de peso. A mudança de peso mínima da amostra de controle mostrou que o processo de manuseio foi razoável. Portanto, 160°C e 30 minutos foram selecionados como os limites superiores da condição de secagem e de processamento.

[00034] O processo de secagem finalizado é conforme se segue: o forno é preaquecido a 160°C sob cobertor de nitrogênio seco; um frasco de 0,237 L (8-OZ.) e sua tampa foram secos por aquecimento a 160°C durante 30 minutos, foram transferidos para uma caixa de luva purgada com nitrogênio seco e foram pesados; na caixa de luva, o AZP foi pesado no frasco; o frasco com AZP foi colocado no forno durante 30 minutos; o frasco foi agitado uma vez a cerca do ponto de

15 minutos; o frasco com AZP foi tampado e vedado no forno com sua tampa preaquecida; o frasco tampado com AZP foi removido do forno e pesado. O peso de AZP e a porcentagem de perda de peso foram calculados. O frasco com AZP foi armazenado sob atmosfera de nitrogênio seco até estar pronto para o processamento.

Exemplo 2: Comparação da Formulação do Filme Fundido com Solvente e Avaliação

[00035] Em uma caixa de luva sob cobertor de nitrogênio seco, uma quantidade de 32 miligramas de AZP que foi pré-seco a 160°C/30 min conforme descrito no Exemplo 1, foi pesada em uma garrafa de 20 ml. 9,0 ml de CH₂Cl₂ foram imediatamente adicionados à garrafa com o uso de uma seringa e a garrafa foi tampada. A solução de AZP foi removida da caixa de luva e foi sonicada por 10 minutos. A solução foi devolvida à caixa de luva onde 0,6 grama de polímero PCL/PLA 40/60 (lote n° D99069, Birmingham Polymer, Inc.) foram, então, adicionados à solução de AZP e essa foi tampada novamente. A mistura foi removida da caixa de luva e agitada à temperatura ambiente até que o polímero fosse completamente dissolvido. Um filme fundido com solvente foi preparado através do pré-resfriamento das prateleiras de um liofilizador VirTic (Modelo: AdVantage, MFR: VirTic) a 6°C. A solução de AZP/polímero foi vertida em um molde de metal 5 cm x 5 cm revestido com Teflon, então, imediatamente transferida para a prateleira pré-resfriada. A evaporação lenta procedeu com cobertor de nitrogênio a fim de evitar a condensação de água. Após o solvente ter sido removido, o filme tendo uma espessura de cerca de 150 micra a 200 micra foi coletado e armazenado sob vácuo para o processo de acompanhamento e/ou caracterização.

[00036] Discos de 8 mm foram perfurados a partir do filme fundido com solvente usando perfuradores de biópsia dermais. Um disco foi, então, transferido em um frasco de HPLC. 2 ml de solução salina

tamponada com fosfato (PBS) (pH = 7,4) foram adicionados em cada frasco. Os frascos foram incubados em um banho-maria sob agitação aquecido a 37°C e 100 rpm. Em cada ponto de tempo, o meio de liberação foi removido e recolocado com 2 ml de PBS fresca. O AZP no meio de liberação foi medido com o uso de HPLC. A HPLC foi realizada com o uso de uma coluna Gemini (Phenomenex, Torrance, CA, EUA) com um sistema de HPLC modelo 2695 (Waters, Milford, MA, EUA) com um detector PDA. A absorção de UV a 238 nm foi medida. Uma fase móvel isocrática contendo 5 mM de KH₂PO₄, 6 mM de H₃PO₄, 12 mM de sulfato de hidrogênio de tetrabutyl amônio, 10% de metanol, pH 2,5 foi usada. A taxa de fluxo foi 1 ml/min. Um AZP de estoque padrão foi preparado através da dissolução de 5 mg de AZP em água em um frasco volumétrico de 10 ml e completamente misturado. A solução de estoque foi diluída em 1:10 e 1:100 antes do uso. O perfil de liberação é mostrado na figura 1.

[00037] As formulações da técnica anterior de sistemas de liberação controlada de fosfato de ácido ascórbico com o uso de evaporação de solvente são conhecidas como tendo sucesso limitado. Como mostrado na figura 1, o fosfato de ácido ascórbico da técnica anterior em filmes PCL/PLA 40/60 (mol/mol) preparados através da evaporação de solvente mostrou uma alta explosão de até 40%, em peso da quantidade total de AZP na composição. A alta explosão indesejável é devido à natureza hidrofílica do AZP e à porosidade criada no filme através da evaporação de solvente.

Exemplo 3: Preparação e Avaliação de Filme (PCL/PGA 25/75)/AZP em uma Temperatura de Processamento de 200°C

[00038] As composições de polímero/AZP foram preparadas conforme a seguir: Em uma caixa de luva purgada com nitrogênio seco, uma composição de polímero/AZP de 2%, em peso foi preparada pela pesagem de 30,4 gramas de polímero PCL/PGA 25/75

(lote nº UAZC020, Ethicon) e de 0,63 grama de AZP que foi pré-seco a 160°C/30 min como descrito no Exemplo 1, em um recipiente e juntos foram misturados a seco. Enquanto isso, um misturador Brabender de 30 ml (modelo: R.E.E.6/2, C.W. Brabender Instruments, Hackensack, NJ, EUA) foi preaquecido a 200°C. Um cobertor de nitrogênio seco foi mantido. O misturador foi configurado em uma velocidade de 30 rpm. A mistura de AZP/polímero foi rapidamente transferida da caixa de luva para o misturador e o mesmo foi fechado. Permitiu-se que os materiais fossem misturados durante cerca de 10 minutos. A mistura foi interrompida e a composição de polímero de AZP foi coletada. A composição foi armazenada sob vácuo até que estivesse pronta para o processamento adicional na composição de liberação controlada.

[00039] Os filmes foram preparados conforme a seguir: Os rolos de impressão de um instrumento de modelagem por compactação (Carver Laboratory Press, modelo: 2696) foram preaquecidos a 205°C. Cerca de 3,5 gramas da composição foram colocados sobre os rolos de impressão e pré-aquecidos durante 5 minutos. A pressão foi aplicada (cerca de 88,96 kN (20.000 lbs)) durante cerca de 2 minutos. O aquecimento foi interrompido e permitiu-se que os rolos de impressão e o filme fossem resfriados a TA sob refrigeração a água e pressão continuada. O filme estava intacto com uma espessura de cerca de 150 micra a 200 micra, mas estava com a cor marrom indicando degradação.

[00040] A recuperação de AZP foi determinada com o uso de um ensaio de HPLC. Um filme de 121 mg foi transferido em um frasco volumétrico de 50 ml. 10 ml de HFIP foram adicionados ao frasco, e esse foi agitado. Após a amostra ter sido completamente dissolvida, a água DI foi adicionada por gotejamento para encher o frasco até a marca. A solução foi filtrada através de um filtro de seringa de 0,2 micron antes da análise por HPLC. A HPLC foi realizada com o uso de

uma coluna Gemini (Phenomenex, Torrance, CA, EUA) com um sistema de HPLC modelo 2695 (Waters, Milford, MA, EUA) com um detector PDA. A absorção de UV a 238 nm foi medida. Uma fase móvel isocrática contendo 5 mM de KH_2PO_4 , 6 mM de H_3PO_4 , 12 mM de sulfato de hidrogênio de tetrabutyl amônio, 10% de metanol, pH 2,5 foi usada. A taxa de fluxo foi 1 ml/min. Um AZP de estoque padrão foi preparado através da dissolução de 5 mg de AZP em água em um frasco volumétrico de 10 ml e completamente misturado. A solução de estoque foi diluída em 1:10 e 1:100 antes do uso. A taxa de recuperação de AZP foi inferior a 1%.

[00041] A temperatura de fusão do fosfato de ácido ascórbico foi 260°C. Um indivíduo pode supor que quaisquer polímeros que possam ser processados termicamente em temperaturas inferiores a 260°C poderiam ser usados para a composição de composições de liberação controlada com o uso de um processo de mistura em estado fundido. Surpreendentemente, revelou-se que o processamento térmico de uma combinação de AZP seco e polímero absorvível a 200°C causou quase a degradação completa do AZP. Ao contrário, como mostrado nos Exemplos 4 e 5, os filmes preparados em uma temperatura de processamento não maior que cerca de 160°C mostraram um aumento surpreendente na recuperação de AZP dos filmes.

Exemplo 4: Preparação e Avaliação de Filme (PCL/PLA 40/60)/AZP Preparado em uma Temperatura de Processamento de 160°C

[00042] As composições de polímero/AZP foram preparadas conforme a seguir: em uma caixa de luva purgada com nitrogênio seco, uma composição de polímero/AZP de 2%, me peso foi preparada pela pesagem de 30,4 gramas de polímero PCL/PLA 40/60 (lote n° UAZC020, Ethicon, Inc, Somerville, NJ, EUA) e de 0,63 grama de AZP que foi pré-seco a 160°C/30 min como descrito no Exemplo 1, em um recipiente e juntamente misturados a seco. O AZP/polímero foi

misturado sob um cobertor de nitrogênio seco. Um misturador Brabender de 30 ml (modelo: R.E.E.6/2, C.W. Brabender Instruments Hackensack, NJ, EUA) foi preaquecido a 160°C. Um cobertor de nitrogênio seco foi mantido. O misturador foi configurado em uma velocidade de 30 rpm. A mistura de AZP/polímero foi rapidamente adicionada no misturador e o mesmo foi fechado. Permitiu-se que os materiais fossem misturados durante cerca de 10 minutos. A mistura foi interrompida e a composição de polímero de AZP foi coletada. A composição foi armazenada sob vácuo até que estivesse pronta para o processamento adicional na composição de liberação controlada desejada. Esse processo foi repetido para preparar composições de polímero/AZP de 5%, em peso, e 10%, em peso.

[00043] Os filmes foram preparados com o uso de composições de polímero/AZP de 2%, em peso, 5%, em peso e 10%, em peso conforme a seguir: Os rolos de impressão de um instrumento de modelagem por compactação (Carver Laboratory Press, modelo: 2696, Wabash, IN, EUA) foram pré-aquecidos a 160°C. Cerca de 3,5 gramas da composição foram colocados sobre os rolos de impressão e pré-aquecidos durante 5 minutos. A pressão foi aplicada (cerca de 88,96 kN (20.000 lbs)) durante cerca de 2 minutos. O aquecimento foi interrompido e permitiu-se que os rolos de impressão e o filme fossem resfriados com o uso de refrigeração a água em TA sob a pressão. O filme foi coletado com uma espessura de 150 micra a 200 micra e armazenado sob nitrogênio seco até que estivesse pronto para a realização de testes.

[00044] Um pedaço do filme foi cortado em seção transversal, montado sobre um pino microscópio e revestido com uma camada fina de ouro com o uso de um dispositivo de aplicação de revestimento por pulverização EMS 550 (Electron Microscopy Sciences, Hatfield, PA, EUA). A análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi

realizada com o uso da microscopia eletrônica de varredura (MEV) JSM-5900LV da JEOL (JEOL, Tóquio, Japão). As superfícies e áreas em seção transversal foram examinadas para cada amostra. As imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostraram que as partículas de AZP estão integradas e uniformemente distribuídas no filme. Ver uma micrografia (MEV) exemplificadora na figura 2.

[00045] A recuperação de AZP foi determinada com o uso de um ensaio de HPLC. A recuperação de AZP foi determinada com o uso de um ensaio de HPLC. Uma amostra de 27 mg foi transferida para um frasco volumétrico de 50 ml. 10 ml de dioxano foram adicionados ao frasco e agitados com aquecimento suave de 30 a 50°C. Após a amostra ter sido completamente dissolvida, a água DI foi adicionada por gotejamento em 50 ml para encher o frasco até a marca. As soluções foram filtradas através de um filtro de seringa de 0,2 micron antes da análise por HPLC. A HPLC foi realizada com o uso de uma coluna Gemini (Phenomenex, Torrance, CA, EUA) com um sistema de HPLC modelo 2695 (Waters, Milford, MA, EUA) com um detector PDA. A absorção de UV a 238 nm foi medida. Uma fase móvel isocrática contendo 5 mM de KH_2PO_4 , 6 mM de H_3PO_4 , 12 mM de sulfato de hidrogênio de tetrabutyl amônio, 10% de metanol, pH 2,5 foi usada. A taxa de fluxo foi 1 ml/min. Um AZP de estoque padrão foi preparado através da dissolução de 5 mg de AZP em água em um frasco volumétrico de 10 ml e completamente misturado. A solução de estoque foi diluída em 1:10 e 1:100 antes do uso. O AZP seco tratado da mesma maneira que o filme foi usado como um controle. A recuperação de AZP de um filme carregado com AZP a 10%, em peso, foi de cerca de 84%, em peso. A recuperação de AZP de um filme carregado com AZP a 5%, em peso, foi medida com o uso do mesmo método. A recuperação foi de 78%.

[00046] A liberação de AZP a partir dos filmes de AZP/polímero foi determinada por meio do seguinte método: discos de 10 mm foram perfurados a partir dos filmes com o uso de perfuradores de biópsia dermais. Um disco foi, então, transferido em um frasco de HPLC. 1,5 ml de solução salina tamponada com fosfato (PBS) (pH = 7,4) foram adicionados em cada frasco. Os frascos foram incubados em um banho-maria sob agitação aquecido a 37°C e 100 rpm. Em cada ponto de tempo, o meio de liberação foi removido e recolocado com 2 ml de PBS fresca. O AZP no meio de liberação foi medido com o uso de HPLC. A HPLC foi realizada com o uso de uma coluna Gemini (Phenomenex, Torrance, CA, EUA) com um sistema de HPLC modelo 2695 (Waters, Milford, MA, EUA) com um detector PDA. A absorção de UV a 238 nm foi medida. Uma fase móvel isocrática contendo 5 mM de KH₂PO₄, 6 mM de H₃PO₄, 12 mM de sulfato de hidrogênio de tetrabutyl amônio, 10% de metanol, pH 2,5 foi usada. A taxa de fluxo foi 1 ml/min. Um AZP de estoque padrão foi preparado através da dissolução de 5 mg de AZP em água em um frasco volumétrico de 10 ml e completamente misturado. A solução de estoque foi diluída em 1:10 e 1:100 antes do uso. O perfil de liberação é mostrado na figura 3.

Exemplo 5: Preparação de Filmes (PCL/PGA 35/65)/AZP em uma Temperatura de Processamento de 130°C

[00047] As composições de polímero/AZP foram preparadas conforme a seguir: em uma caixa de luva purgada com nitrogênio seco, uma composição de polímero/AZP de 2%, em peso foi preparada pela pesagem de 30,4 gramas de polímero PCL/PGA 35/65 (lote n°UAZC020, Ethicon) e de 0,63 grama de AZP que foi pré-seco a 160°C/30 min como descrito no Exemplo 1, em um recipiente e juntos são misturados a seco. Enquanto isso, um misturador Brabender de 30 ml (modelo: R.E.E.6/2, C.W. Brabender Instruments) foi preaquecido a

130°C. Um cobertor de nitrogênio seco foi mantido. O misturador foi configurado em uma velocidade de 30 rpm. A mistura de AZP/polímero foi rapidamente transferida da caixa de luva para o misturador e o mesmo foi fechado. Permitiu-se que os materiais fossem misturados durante cerca de 10 minutos. A mistura foi interrompida e a composição de polímero de AZP foi coletada. A composição foi armazenada sob vácuo até que estivesse pronta para o processamento adicional na composição de liberação controlada. Esse processo foi repetido para preparar composições de polímero/AZP de 5%, em peso, e 10%, em peso.

[00048] Os filmes foram preparados com o uso de composições de polímero/AZP de 2%, em peso, 5%, em peso e 10%, em peso conforme a seguir: Os rolos de impressão de um instrumento de modelagem por compactação (Carver Laboratory Press, Modelo: 2696 Wabash, IN, EUA) foram preaquecidos a 130°C. Cerca de 3,5 gramas da composição foram colocados sobre os rolos de impressão e preaquecidos durante 5 minutos. A pressão foi aplicada (cerca de 88,96 kN (20.000 lbs)) durante cerca de 2 minutos. O aquecimento foi interrompido e permitiu-se que os rolos de impressão e o filme fossem resfriados com o uso de refrigeração a água em RT sob a pressão. O filme foi coletado com uma espessura de 150 a 200 micra e armazenado sob condições de nitrogênio seco até que estivesse pronto para a realização de testes.

[00049] A recuperação de AZP foi determinada com o uso de um ensaio de HPLC. Um filme de 50 mg foi transferido em frasco volumétrico de 50 ml. 10 ml de dioxano foram adicionados ao frasco e esse foi agitado com aquecimento suave de 30 a 50°C. Após a amostra ter sido completamente dissolvida, a água DI foi adicionada por gotejamento para encher o frasco até a marca. As soluções foram filtradas através de um filtro de seringa de 0,2 micron antes da análise

por HPLC. A HPLC foi realizada com o uso de uma coluna Gemini (Phenomenex, Torrance, CA, EUA) com um sistema de HPLC Modelo 2695 (Waters, Milford, MA, EUA) com um detector PDA. A absorção de UV a 238 nm foi medida. Uma fase móvel isocrática contendo 5 mM de KH_2PO_4 , 6 mM de H_3PO_4 , 12 mM de hidrogenossulfato de tetrabutyl amônio, 10% de metanol, pH 2,5 foi usada. A taxa de fluxo foi 1 ml/min. Um AZP estoque padrão foi preparado através da dissolução de 5 mg de AZP em água em um frasco volumétrico de 10 ml e completamente misturado. A solução estoque foi diluída em 1:10 e 1:100 antes do uso. O AZP seco tratado da mesma maneira que o filme foi usado como um controle. A recuperação de AZP a partir de filmes carregados com AZP a 5%, em peso foi de cerca de 92%. A liberação de AZP dos filmes de AZP/polímero foi determinada por meio do seguinte método: discos de 10 mm foram perfurados a partir dos filmes com o uso de perfuradores de biópsia dermais. Um disco foi, então, transferido em um frasco de HPLC. 1,5 ml de solução salina tamponada com fosfato (PBS) (pH = 7,4) foram adicionados em cada frasco. Os frascos foram incubados em um banho-maria sob agitação aquecido a 37°C e 100 rpm. Em cada ponto de tempo, o meio de liberação foi removido e recolocado com 2 ml de PBS fresca. O AZP no meio de liberação foi medido com o uso de HPLC. A HPLC foi realizada com o uso de uma coluna Gemini (Phenomenex, Torrance, CA, EUA) com um sistema de HPLC modelo 2695 (Waters, Milford, MA, EUA) com um detector PDA. A absorção de UV a 238 nm foi medida. Uma fase móvel isocrática contendo 5 mM de KH_2PO_4 , 6 mM de H_3PO_4 , 12 mM de sulfato de hidrogênio de tetrabutyl amônio, 10% de metanol, pH 2,5 foi usada. A taxa de fluxo foi 1 ml/min. Um AZP de estoque padrão foi preparado através da dissolução de 5 mg de AZP em água em um frasco volumétrico de 10 ml e completamente misturado. A solução de estoque foi diluída em 1:10 e 1:100 antes do

uso. O perfil de liberação é mostrado na figura 4.

[00050] O método de fabricação de composições de AZP da presente invenção e as composições inovadoras fabricadas por esse método têm inúmeras vantagens. As vantagens incluem um perfil de liberação mais desejável de AZP com baixa liberação imediata inferior a 20%, em peso seguida de uma liberação sustentada. A liberação sustentada ocorre em um período de 1 semana ou mais. Em uma modalidade, a liberação sustentada é de cerca de 3 semanas ou mais. Outra vantagem é a adequação para a produção de vários formatos geométricos de dispositivos e propriedades mecânicas melhores do que os métodos de evaporação de solvente e a disponibilidade de uma ampla seleção de material incluindo materiais solúveis e insolúveis em solventes que podem ser usados com segurança para o processamento.

[00051] Embora esta invenção tenha sido mostrada e descrita em relação às modalidades detalhadas da mesma, os versados na técnica compreenderão que várias alterações na forma e detalhe da mesma podem ser feitas sem que se desvie do espírito e escopo da invenção reivindicada.

REIVINDICAÇÕES

1. Método de produção de uma composição de liberação controlada de fosfato de ácido ascórbico, caracterizado pelo fato de que compreende as etapas de:

secar o fosfato de ácido ascórbico a uma temperatura até 160°C durante 30 min; e,

em seguida, misturar o fosfato de ácido ascórbico com um polímero de poliéster alifático absorvível a uma temperatura até 160°C para formar uma mistura de fosfato de ácido ascórbico e polímero fundidos,

em que o polímero de poliéster alifático absorvível é um homopolímero ou copolímero preparado a partir de monômeros selecionados do grupo consistindo em lactídeo, glicolídeo e épsilon-caprolactona,

em que o polímero absorvível e o fosfato de ácido ascórbico fundidos são misturados durante 5 minutos a 30 minutos.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende a etapa adicional de processamento do ácido ascórbico e composição de polímero em uma forma desejada a uma temperatura até 160°C.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a composição compreende ácido ascórbico na quantidade de 0,5%, em peso a 20%, em peso da composição.

4. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a composição compreende ácido ascórbico na quantidade de 2%, em peso a 10%, em peso da composição.

5. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o polímero de poliéster alifático absorvível é um copolímero preparado a partir de épsilon-caprolactona e glicolídeo.

6. Método, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado

pelo fato de que a composição é transformada em um dispositivo médico selecionado do grupo consistindo em fibras, hastes, roscas, grampos, âncoras de suturas, filmes e combinações dos mesmos.

7. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende adicionalmente a etapa de combinar a composição com um agente bioativo.

8. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende adicionalmente a etapa de combinar a composição com tecido viável.

9. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende adicionalmente a etapa de combinar a composição com células.

10. Composição de liberação controlada, caracterizada pelo fato de que compreende:

uma composição de liberação controlada de fosfato de ácido ascórbico fabricada pelo método como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 9.

11. Composição, de acordo com a reivindicação 10, caracterizada pelo fato de que compreende fosfato de ácido ascórbico na quantidade de 0,5%, em peso a 20%, em peso.

12. Composição, de acordo com a reivindicação 10, caracterizada pelo fato de que compreende fosfato de ácido ascórbico na quantidade de 2%, em peso a 10%, em peso.

13. Composição, de acordo com a reivindicação 10, caracterizada pelo fato de que compreende polímero de poliéster alifático absorvível que é um homopolímero ou copolímero preparado a partir de monômeros selecionados do grupo consistindo em lactídeo, glicolídeo e épsilon-caprolactona.

14. Composição, de acordo com a reivindicação 10, caracterizada pelo fato de que compreende o polímero de poliéster

alifático absorvível que é um copolímero preparado a partir de épsilon-caprolactona e glicolídeo.

15. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 10 a 14, caracterizada pelo fato de que a composição é transformada em um dispositivo médico selecionado do grupo consistindo em fibras, hastes, roscas, grampos, âncoras de suturas, filmes e combinações dos mesmos.

16. Composição, de acordo com a reivindicação 10, caracterizada pelo fato de que a composição compreende adicionalmente um agente bioativo.

17. Composição, de acordo com a reivindicação 10, caracterizada pelo fato de que a composição compreende adicionalmente um tecido viável.

18. Dispositivo médico, caracterizado pelo fato de que compreende:

uma composição de liberação controlada de fosfato de ácido ascórbico fabricada pelo método como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 9.

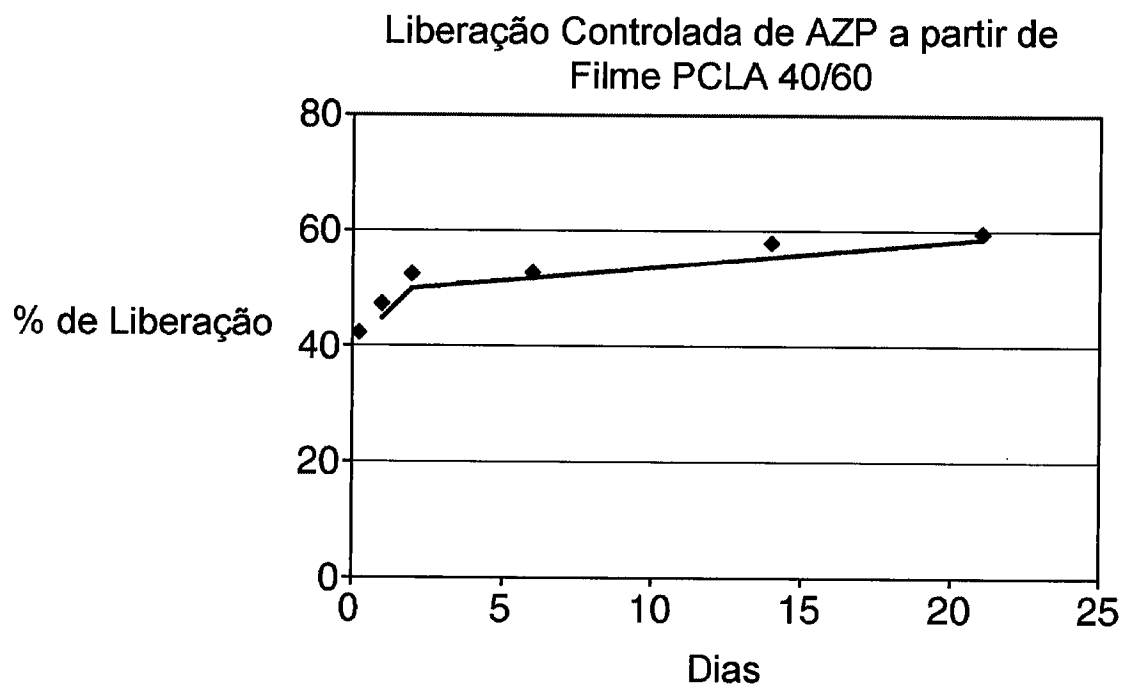
FIG. 1

FIG. 2

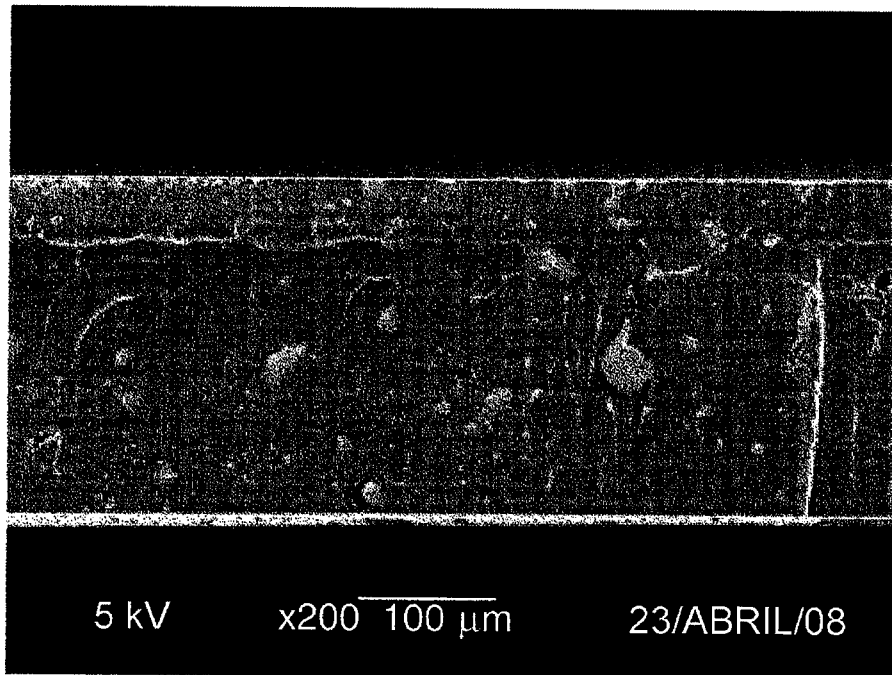


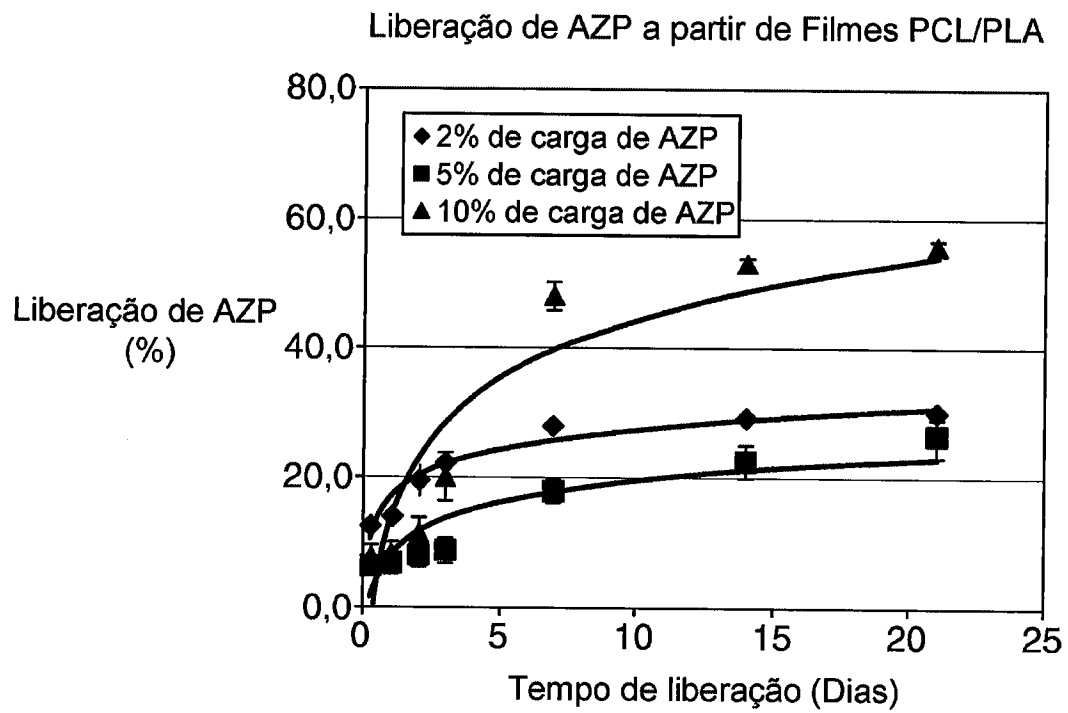
FIG. 3

FIG. 4